

• 药材与资源 •

灰毡毛忍冬花冠不展开表型与花冠细胞形态及 XTH/EXP-PME 表达特征的关联研究

敖志杰¹, 付学森¹, 周思敏¹, 瞿美玲¹, 朱佳源¹, 袁林祥^{1,2}, 周日宝^{1,2,3,4,5*}, 刘湘丹^{1,2,3,4,5*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 道地药材种质创制湖南省工程研究中心, 湖南 长沙 410208

3. 湘产大宗道地药材种质资源及规范化种植重点实验室, 湖南 长沙 410208

4. 湖南省普通高等学校中药现代化研究重点实验室, 湖南 长沙 410208

5. 湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心, 湖南 长沙 410208

摘要:目的 灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* 干燥的花蕾或带初开的花作为山银花入药, 由其自然突变株培育的湘蕾品种具有花冠不展、花蕾期长的特殊表型, 拟从细胞和分子水平探究湘蕾品种花冠不展开特殊表型的可能原因。方法 以常规和湘蕾型灰毡毛忍冬花为研究对象, 采用光学显微镜观察花冠近轴面表皮细胞以及花冠纵切面组织形态; qRT-PCR 检测木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶 *LmXTH6*、*LmXTH7*、*LmXTH33*, 扩展蛋白 *LmEXP7* 以及果胶甲酯酶 *LmPME28*、*LmPME45* 的表达模式; STRING 数据库预测蛋白互作网络; 钼红染色结合 Image J 定量评估花冠纵切面细胞壁果胶去甲酯化程度。结果 常规型灰毡毛忍冬花冠近轴面表皮细胞呈现顺序扩张趋势, 表现为基部优先扩张, 随后中部扩张的趋势; 且近轴面细胞的扩张速率大于远轴面; 相比之下, 湘蕾近轴面细胞扩张速率显著降低, 细胞扩张程度不明显。分子层面, *LmXTH6*、*LmXTH7*、*LmXTH33* 在常规品种开花前期及开花期高表达, 在湘蕾品种中表达受到显著抑制; *LmEXP7* 在常规花冠展开前表达量达到峰值, 同一时期在湘蕾中表达较低。钼红染色结果表明湘蕾的整体去甲酯化程度高于常规, 与 *LmPME28*、*LmPME45* 表达趋势一致。结论 灰毡毛忍冬湘蕾品种花冠不展开与花冠细胞扩张受到抑制密切相关, *XTHs* 及 *EXP* 的低表达共同导致了湘蕾花冠细胞的扩张能力下降, *PMEs* 的上调增加了细胞壁果胶去甲酯化, 可能增强了细胞壁刚性。XTH/EXP-PME 协同可能是导致湘蕾花冠不展开的重要原因, 其为湘蕾灰毡毛忍冬优良表型调控机制研究提供了实验依据, 也为理解植物花器官形态建成的细胞壁调控机制提供了新见解。

关键词: 灰毡毛忍冬; 花冠运动; 细胞壁; 木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶; 扩展蛋白; 果胶甲酯酶**中图分类号:** R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)16-6498-12**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.022Correlation research of corolla non-opening phenotype with cell morphology and XTH/EXP-PME expression characteristics in *Lonicera macranthoides*AO Zhijie¹, FU Xuesen¹, ZHOU Simin¹, QU Meiling¹, ZHU Jiayuan¹, YUAN Linxiang^{1,2}, ZHOU Ribao^{1,2,3,4,5}, LIU Xiangdan^{1,2,3,4,5}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Provincial Engineering Research Center for Germplasm Innovation of Dao-di Herbs, Changsha 410208, China

3. Key Laboratory of Germplasm Resources and Standardized Planting of Hunan Large-scale Genuine Medicinal Materials, Changsha 410208, China

4. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Modernization Research in General Colleges and Universities of Hunan Province, Changsha 410208, China

5. Hunan Traditional Chinese Medicine Decoction Piece Standardization and Function Engineering Technology Research Center, Changsha, 410208, China

收稿日期: 2026-01-02**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (82373992); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-21); 湖南省中药材产业技术体系专项 (HARS-11); 2020 年湖南省一流专业建设点: 中药资源与开发; 湖南中医药大学重点学科中药学科 (校行发规字 [2023] 2 号); 2025 湖南中医药大学研究生科研创新项目 (2025CX077)**作者简介:** 敖志杰 (2002—), 男, 硕士研究生, 从事中药资源与质量研究。Tel: 13873572934 E-mail: PolygalaeAozj@163.com***通信作者:** 刘湘丹, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药资源与质量研究。Tel: (0731)88458233 E-mail: paeonia@hnu.edu.cn

周日宝, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药资源与质量研究。Tel: (0731)88458233 E-mail: 1057323510@126.com

Abstract: Objective Dried flower buds or newly opened flowers of *Lonicera macranthoides* are used as Shanyinhua (*Lonicerae Flos*) for medicinal purposes. The Xianglei cultivar, developed from a natural mutant, exhibits a distinctive phenotype characterized by non-opening corolla and prolonged bud stage. Aiming to elucidate the cellular and molecular mechanisms underlying this unique corolla phenotype. **Methods** The flower of conventional cultivar (WT) and the Xianglei cultivar (XL) of *L. macranthoides* were used as materials. Corolla adaxial epidermal cells and longitudinal sections were observed using light microscopy. The expression patterns of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase genes (*LmXTH6*, *LmXTH7*, *LmXTH33*), expansin gene (*LmEXP7*), and pectin methylesterase genes (*LmPME28*, *LmPME45*) were analyzed by qRT-PCR. Protein-protein interaction networks were predicted using the STRING database. Ruthenium red staining coupled with Image J quantitative analysis was performed to assess the degree of pectin de-methylesterification in corolla cell walls. **Results** In the WT, the adaxial cells of corolla displayed a spatially sequential expansion, with the basal cells expanding first, followed by the middle cells. Moreover, the expansion rate of the adaxial cells is higher than that of the abaxial cells. In contrast, the expansion rate of the adaxial cells is significantly decreased in Xianglei, and the extend of cell expansion is not evident. Molecular analyses revealed that *LmXTH6*, *LmXTH7*, and *LmXTH33* were highly expressed during the pre-anthesis and anthesis stages in WT, but were significantly suppressed in Xianglei. Expression of *LmEXP7* peaked just before corolla opening in WT but remained low in Xianglei at the same stage. Furthermore, ruthenium staining showed a higher overall degree of pectin de-methylesterification in Xianglei compared with WT, which is consistent with the expressin patterns of *LmPME28* and *LmPME45*. **Conclusion** The non-opening of the corolla in the *L. macranthoides* cultivar Xianglei is closely associated with inhibited expansion of corolla cells. The low expression of *XTHs* and *EXP* collectively contributes to the reduced expansion capacity of corolla cells in Xianglei, while the up-regulation of *PMEs* increases pectin de-methylesterification in the cell wall, potentially enhancing cell wall stiffness. The synergistic effect of *XTH/EXP* and *PME* may be an important factor leading to corolla non-opening in Xianglei. These findings provide experimental evidence for understanding the regulatory mechanisms underlying the superior phenotype of the Xianglei cultivar and offer new insights into the cell wall regulatory mechanisms governing floral organ morphogenesis in plants.

Key words: *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.; corolla movement; cell wall; xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase; expansin; pectin methylesterase

灰毡毛忍冬 *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz. 是忍冬科忍冬属植物, 其干燥花蕾或带初开的花作为山银花入药, 是山银花的主要来源之一^[1]。山银花具有清热解毒、疏散风热的功效, 应用广泛。常规型灰毡毛忍冬(常规品种)的花在整个生长发育过程中会经历花蕾期、盛开期以及凋谢期, 并且圆锥花序上的花依次开放, 需要分批多次采摘, 受天气影响较大, 不利于集中采收, 采收成本较高。科研人员在基地发现了一种灰毡毛忍冬的自然突变体, 并开始人工大规模繁育, 命名为湘蕾型灰毡毛忍冬(湘蕾品种), 后期还陆续培育出龙花^[2]、金翠蕾、银翠蕾^[3]等品种。湘蕾品种具有花冠长期不展开及花长势整齐的突出特点, 目前已在山银花主产区大量种植。研究湘蕾花冠不展开的机制可为观赏性花卉以及食用花类的花蕾形态保持以及花期干预提供参考依据。

前期研究工作者针对湘蕾优良表型主要围绕 2 个角度展开了相关研究: 一是 *MADS-box* 转录因子家族, 研究人员克隆了 *API*^[4-5] (*APETALA1*)、*AGL19*^[6] (*AGAMOUS-LIKE19*)、*AGL15*^[7-8]、*CMB1*^[9] 等基因, 发现其在常规与湘蕾品种之间存在不同程

度的碱基与表达模式的差异; 其中, 龙丽君^[10]在灰毡毛忍冬“龙花”品种克隆了 4 个 *MADS-box* 基因并进行了功能验证, 部分过表达的拟南芥植株出现了延迟开花和花蕾期长的现象, 提示这些基因可能参与花发育调控, 但具体的机制尚不明确。二是乙烯生物合成及信号传导通路, 研究表明, 湘蕾花的乙烯释放量在各个花期中均低于常规品种^[11], 其乙烯合成的关键酶 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(*ACC synthase*, *ACS*)、1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶(*ACC oxidase*, *ACO*) 基因的表达整体低于常规品种, 且变化较为缓和^[12], 转录组分析进一步发现 2 个品种在乙烯合成途径中富集了较多的差异表达基因(*DEGs*), 并推测乙烯受体 *ETR2*、*ERS1* 可能在湘蕾品种花发育的早期阶段产生影响^[13], 然而内源性乙烯含量是否影响湘蕾型花冠的形态差异以及其内在的分子机制还有待确证。

花冠展开是花瓣运动的主要表现形式之一, 目前有较多关于百合、康乃馨、牵牛花等植物花瓣运动的研究报道。花瓣的运动离不开花瓣的生长, 过程中伴随着细胞增殖以及扩张, 而细胞壁的水解与重塑对于植物细胞的扩张至关重要。细胞壁作为一

种主要由纤维素、半纤维素、果胶组成的复合物^[14], 细胞壁局部的松弛以及刚性的改变是细胞定向扩张的基础。

在细胞壁重塑过程中, 2 类作用机制不同的基因家族发挥着重要作用^[15], 一方面是促进细胞壁松弛的因子。扩展蛋白 (expansin, EXP) 通过破坏纤维素微纤丝与半纤维素之间的氢键, 使细胞壁发生滑移, 从而启动细胞扩张^[16]; 木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶 (xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase, XTH) 通过水解和重新连接木葡聚糖链, 对扩张后的细胞壁进行重构和固定, 以维持细胞壁的完整性并确保其能继续延伸^[17]。XTH 与 EXP 的协同是细胞壁可塑性松弛的关键, XTH 及 EXP 被证实参与多种植物花冠展开的过程, 如东方百合 *Lilium oriental* Hybrids^[18]、玫瑰 *Rosa bourboniana* Desp.^[19]、康乃馨 *Dianthus caryophyllus* L.^[20]、桂花 *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour.^[21]等。

另一方面, 是细胞壁刚性调节因子, 果胶是细胞壁中层的核心成分, 其甲酯化程度的状态影响了果胶的黏度以及机械强度。果胶甲酯酶 (pectin methylesterase, PME) 通过去除果胶上的甲酯基团, 暴露出带负电荷的羧基, 这些羧基可与细胞中的钙离子结合, 形成“蛋盒”结构^[22], 从而增加细胞壁的刚性, PME 活性过高或者过低都会影响细胞壁的刚性程度, 进而影响细胞的生长扩张^[23-25]。

已有研究表明, XTH 与 PME 在植物发育中往往起协调作用, 浙江大学品质生物学团队的综述研究指出, 果实软化涉及细胞壁松弛与解聚分解 2 个维度, 主要包括引起细胞壁松弛的 EXP、XTH 等, 以及细胞壁解聚的 PME、PG 等, 研究者特别强调 PME 和 XTH 等具有双向功能的基因需要精准调控^[26]。在丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 不同生态型响应镉胁迫的研究中^[27], 低镉积累生态型通过激活 PME 介导的果胶去甲酯化将镉离子固定在细胞壁中, 而高镉积累生态型则依赖 XTH 驱动的半纤维素木糖富集实现镉的超积累, 研究者据此提出了同步调控 XTH 与 PME 的双基因编辑策略。这些研究共同提示, XTH/EXP 介导的松弛机制与 PME 介导的刚性调控机制之间的动态平衡, 可能是决定细胞扩张效率和器官形态建成的关键因素。然而, 在花冠展开这一特定发育过程中, XTH、EXP 和 PME 三者如何协同作用以维持细胞壁力学平衡, 以及这种平衡的紊乱是否直接导致花冠发育

异常, 目前尚缺乏系统研究。

目前湘蕾型灰毡毛忍冬特殊表型机理未得以阐明, 也尚未有基于其花冠细胞形态、花冠运动以及相关基因表达模式的研究报道, 因此本研究以灰毡毛忍冬 2 品种花为研究对象, 从细胞形态学、基因表达和细胞壁化学修饰等层面, 系统分析花冠发育过程中 XTH、EXP 和 PME 的表达动态及其与细胞壁状态的关联。旨在揭示 XTH/EXP 介导的松弛与 PME 介导的刚性之间的平衡机制, 阐明细胞壁重塑失衡导致花冠发育异常的可能分子基础, 以期阐明湘蕾花冠不展的原因提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 样品

灰毡毛忍冬 *L. macranthoides* Hand.-Mazz. 花样品采自湖南省邵阳市隆回县, 根据项目组前期研究, 分为常规型 (WT) 和湘蕾型 (XL)。选取前 6 个花期的花为实验材料, 编号 S1~S6 (WT: S1 为花蕾初期, S2 为青绿色花蕾期, S3 为绿白色花蕾期, S4 为白色花蕾期, S5 为白色开花期, S6 金黄色开花期; XL: S1 为花蕾初期, S2 为青绿色花蕾期, S3 为浅绿色花蕾期, S4 为绿白色花蕾期, S5 为白色花蕾期, S6 为黄白色花蕾期), 具体外形见图 1, 未及时处理的花样品放置于 4 °C 及 -80 °C 冰箱保存。



A-常规型; B-湘蕾型; 1~6-S1~S6。

A-WT type; B-XL type; 1—6-S1~S6。

图 1 灰毡毛忍冬常规品种及湘蕾品种的不同花期花样品

Fig. 1 Different flowering samples of 'WT' and 'XL' varieties of *L. macranthoides*

1.2 主要试剂与仪器

Biospin 多糖多酚试剂盒 (批号 BSC65S1), F488 SYBR qPCR Mix (百时美有限公司, 批号 EG23111L), All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase) (百时美有限公司, 批号 EG15133S), 番红固绿 (植物) 染液 (百仟度有限公司, B1031)、钨红 (麦克林有限公司, 批号

R817195)、病理切片机(上海徕卡仪器有限公司, RM2016)、Nanodrop 紫外分光光度计(Thermo Fisher 公司)、ABI 荧光定量仪(Thermo Fisher 公司)、光学显微镜(Motic Panthera 公司)。

2 方法

2.1 花冠表皮细胞计数

将 S3~S6 时期的花样品放置在 10%氢氧化钠溶液中浸泡至软化脱色,后放入蒸馏水中 4 ℃冰箱保存,取较大一枚的花冠裂片平铺于载玻片上,盖上盖玻片并压实,置于显微镜下对花冠的近轴面表皮细胞进行拍照观察并计数。

2.2 番红固绿染色

花样品放入多聚甲醛中固定,并在石蜡中包埋,使用切片机进行石蜡切片。依次将切片放入二甲苯I 20 min、二甲苯II 20 min、无水乙醇I 5 min、无水乙醇II 5 min、75%乙醇 5 min,脱去石蜡。番红染色:切片置入番红染液中染色 1 h,蒸馏水洗去多余染料。随后切片依次置入 50%、70%、80%乙醇中各 5 s 脱色。切片置入固绿染液中染色 1 min,洗去多余染液后,无水乙醇三缸脱水,进行固绿染色。完成染色的切片置于二甲苯中透明 5 min,使用中性价树胶封片。显微镜镜检,图像采集分析。

2.3 钉红染色

取钉红固体粉末适量,以去离子水为溶剂配制 0.05%的钉红水溶液,切片置入钉红染液中避光孵育 30 min,用蒸馏水漂洗 3 次,每次 5 min,至洗液无色,脱水及封片步骤与“2.2”项中番红固绿染色一致。随后置于显微镜下观察。

2.4 系统进化树构建

目的基因通过 Blast 比对,以序列相似度高的基因编号命名,参照前人的研究方法^[28],通过 Tair 网站(<https://www.arabidopsis.org/>)下载拟南芥 XTH 家族的基因 ID 以及对应氨基酸序列,使用 MEGA11 软件将目的基因编码氨基酸序列与拟南芥参考蛋白序列通过 Muscle 比对,再利用 NJ 法进行构树,

比对次数为 1 000 次。

2.5 蛋白互作网络预测

以系统进化树为参考,在 STRING 网站(<https://cn.string-db.org/>)输入与目的基因距离最近的拟南芥同源基因,选择物种来源为拟南芥,进行互作网络预测。

2.6 RNA 提取与 cDNA 合成

不同时期的花样品在液氮预冷的研钵中研磨,按照 Biospin 多糖多酚试剂盒(批号 BSC65S1)的说明书进行 RNA 提取^[29],所接触的材料均经过无菌无酶处理。得到的 RNA 经凝胶电泳以确定完整性,使用 Nanodrop 紫外分光光度计测定 RNA 浓度,并稀释成一致的浓度,全程保持低温,以防 RNA 降解。按照试剂盒的说明,将 RNA 逆转录为 cDNA,置于-20 ℃冰箱中保存。

2.7 荧光定量测定

根据基因的序列,使用 PrimerQuest Tool 在线网站(<https://sg.idtdna.com/pages/tools/primerquest>)设计 qRT-PCR 特异性引物。荧光定量引物信息见表 1,使用 ABI 荧光定量 PCR 仪进行分析,每个基因 3 个生物学重复,PCR 扩增程序参考课题组前期研究^[30]进行优化,体系为 20 μL: F488 SYBR qPCR Mix (Universal) 10 μL, ddH₂O 8.2 μL,正向引物 0.4 μL,反向引物 0.4 μL, cDNA 1 μL。94 ℃预变性 10 min,94 ℃变性 10 s,55 ℃退火 20 s,72 ℃延伸 10 s,40 个循环,18 S 作为内参基因^[31],使用 2^{-ΔΔCt}法计算相对表达量。

2.8 数据分析

使用 2^{-ΔΔCt}法计算基因相对表达量,Image J 软件结合人工测量对表型进行观察统计,采用 Graphpad Prism10 软件进行绘图及数据分析。

3 结果与分析

3.1 灰毡毛忍冬花冠近轴面表皮细胞计数

S6 时期的花冠近轴面表皮细胞的显微形态见图 2-A,可以明显地发现湘蕾品种近轴面表皮细胞的细

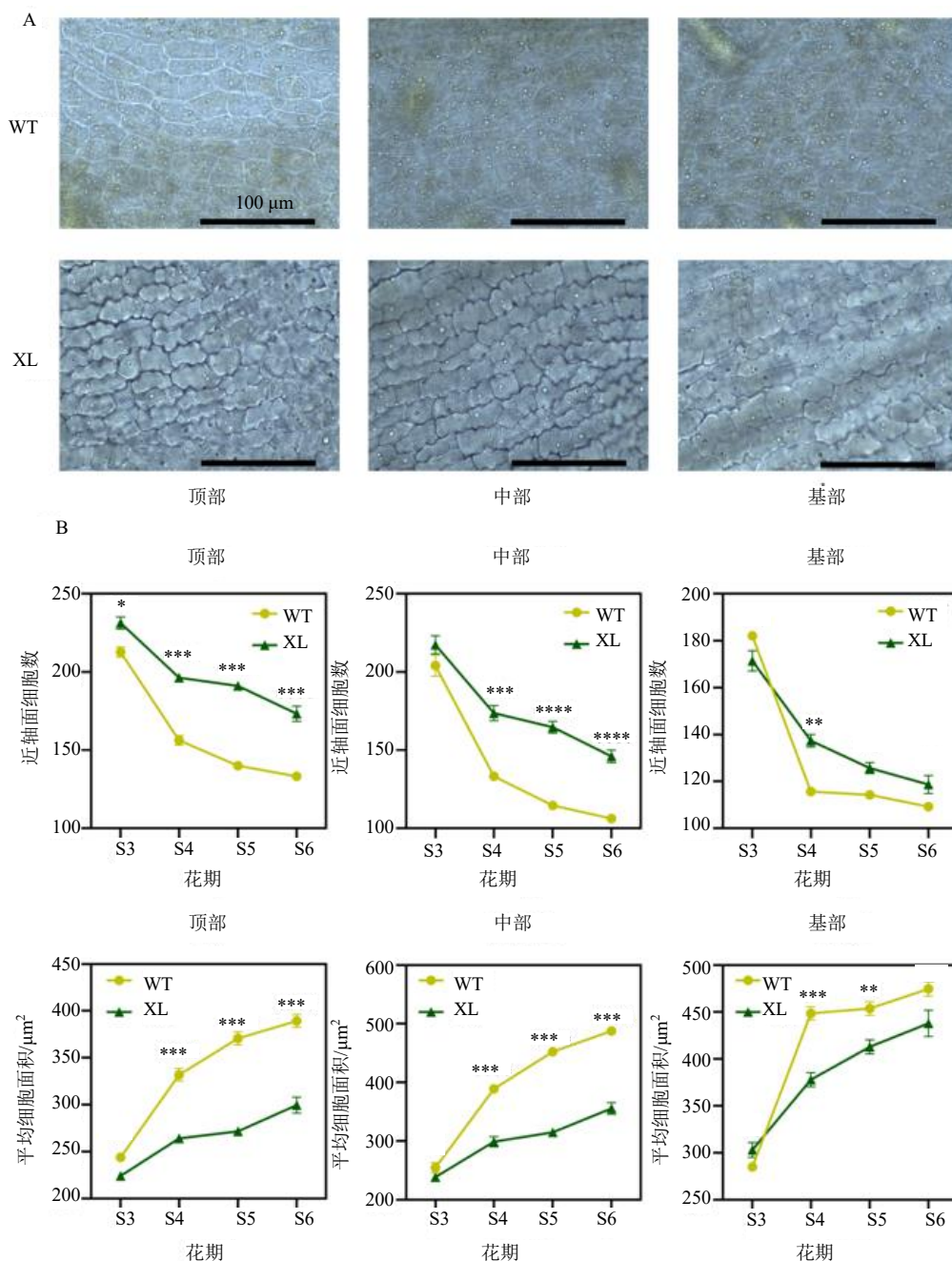
表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 Primers in qRT-PCR

引物名称	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
<i>LmXTH6</i>	TGGATGGAGGAAAGGCAATAC	CATGCTAACTCGTCCGAACA
<i>LmXTH7</i>	ACGTGGTCCGATTACATATC	CTTCATGCTAACACGACCAAC
<i>LmXTH33</i>	ACTCGGCAGCTTTGTGTT	TGCCCCACTCCAGTCTTATTA
<i>LmEXP7</i>	TATTGCCAGCCTTCTTTCC	GAATCGAATCCCTCCCTTCTTC
<i>LmPME28</i>	GCAGGCGAGAAGATGAAGAA	GGGATCTGTAAATCGCCAAGA
<i>LmPME45</i>	CCCAAGTCTCTTCTGTGCTATC	ACATCCTTCGATCCTCATCATTC
<i>18S</i>	CTTCGGGATCGGAGTAATGA	GCGGAGTCCTAGAAGCAACA

胞壁呈现出明显的波浪状, 而常规品种表皮细胞的褶皱相对少, 整体圆润。对同一视野下 2 品种 S3~S6 时期花冠近轴面表皮细胞的细胞个数以及平均面积进行比较, 见图 2-B。从图 2-B 可以发现在同一视野下花冠近轴面表皮细胞个数会随着花蕾生长而减少、面积不断增大。对于常规而言, S3~S4 时期是

花蕾快速生长期, 此时细胞面积扩张的速度最为显著, 而 S5、S6 期的数据显示, 常规的花冠近轴面表皮细胞的扩张速率放缓。有趣的现象是, S3~S4 时期花冠基部的细胞扩张最为明显, 同一视野下观察的细胞数减少最多, 尽管此时花冠顶端以及中部近轴面表皮细胞也在不断扩张。而该现象在 S4~S5 期



A-花冠近轴面表皮细胞显微形态; B-花冠近轴面表皮细胞计数及面积。* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs S3, 下同。

A-micro-morphology of adaxial epidermal cells in corollas; B-enumeration and area measurement of adaxial epidermal cells in corollas. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs S3, same as below.

图 2 灰毡毛忍冬花冠近轴面表皮细胞显微形态及细胞计数

Fig. 2 Micro-morphology and cell enumeration of adaxial epidermal cell in corollas of *L. macranthoides*

的过程中得到转变,此时基部细胞的扩张速率明显放缓,而中部细胞还保持着较大速率的扩张。与常规相比,湘蕾花冠的近轴面表皮细胞的扩张变化在花冠顶端、中部及基部有着类似的特征,随着花发育而不断扩张;区别在于,湘蕾花冠近轴面表皮扩张的速率显著低于常规,尤其是在 S3~S4 时期。

3.2 灰毡毛忍冬花冠纵切面番红固绿染色

在花冠中段的位置观察花冠的纵切面组织形

态,常规品种 S4 期的花冠近轴面可以观察到近轴细胞发生扩张并且形态变得不规则,而远轴面的细胞仍然表现为规则的形态,随着花进一步生长,花冠展开的 S5 期及 S6 期的花冠表皮细胞伸长,并且中间的薄壁细胞发生显著的扩张甚至破裂。反观湘蕾品种的花冠,在发育过程中,整体上细胞扩张程度不大,近轴面的细胞没有明显地伸长,并且每个阶段的排列都十分紧密,见图 3。

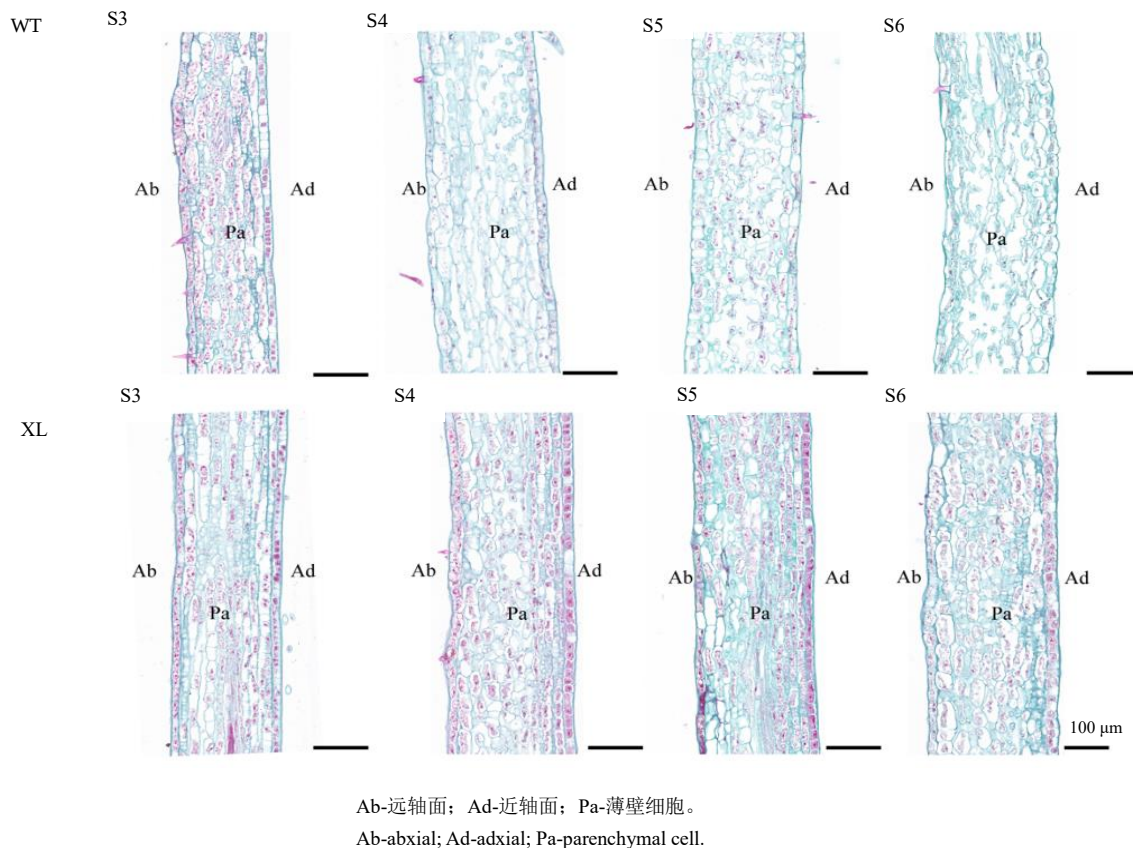


图 3 灰毡毛忍冬花冠纵切面番红固绿染色

Fig. 3 Safranin O-Fast Green staining of longitudinal sections of *L. macranthoides* corollas

3.3 XTHs 系统进化分析

拟南芥及灰毡毛忍冬 XTHs 系统进化树见图 4, 拟南芥 XTHs 及目的基因聚为 3 个大类, 其中 *LmXTH6* 属于 I 类 XTH, *LmXTH7* 属于 II 类 XTH, *LmXTH33* 属于 IIIB 类 XTH, 从进化树上看 *LmXTH6* 与 *AtXTH10* 聚为一小类, *LmXTH7* 与 *AtXTH20*、*AtXTH18*、*AtXTH25*、*AtXTH14* 聚为一小类, *LmXTH33* 与 *AtXTH33*、*AtXTH32* 聚为一小类。

3.4 灰毡毛忍冬中 XTHs 及 EXP 基因的表达情况

LmXTH6、*LmXTH7*、*LmXTH33* 的相对表达量结果见图 5, 可知 *LmXTH6*、*LmXTH7*、*LmXTH33* 在常规品种的 S4 时期的花中开始显著上升, 并且

随着花冠展开 XTHs 的表达量持续升高, 而反观湘蕾品种, XTHs 的表达水平相对于 WT 而言几乎可以忽略不计, 虽然 *LmXTH6*、*LmXTH7* 在 S6 有轻微地上升趋势, 但表达量依然很低。*LmEXP7* 在常规中表达量随着花发育而持续升高, 在 S4 时期达到峰值, 花冠展开后表达量降低, 湘蕾中则表现为 S6 时期升高, 前期表达量波动平缓并且小于常规品种。

3.5 XTHs 蛋白互作网络分析

STRING 数据库预测的 XTHs 蛋白互作网络预测见图 6, 从中可以发现 *LmXTH33* 同源的 *AtXTH33* 与果胶甲酯酶、纤维素合酶、果胶降解

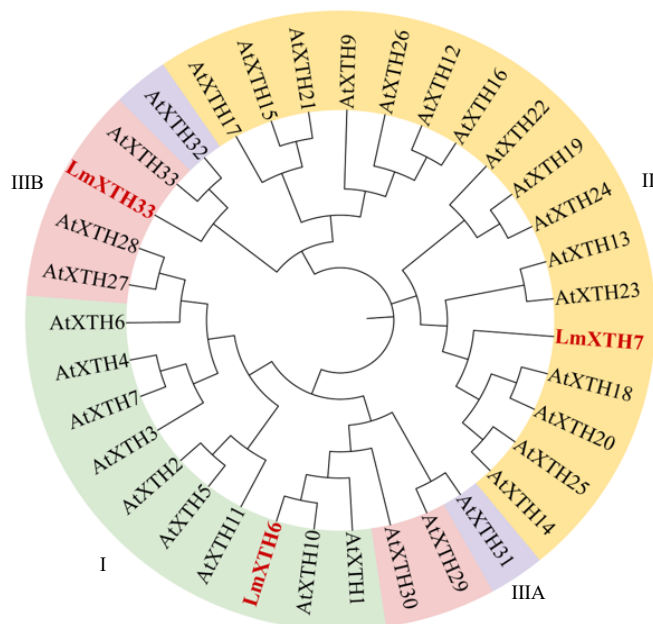


图 4 拟南芥及灰毡毛忍冬 XTHs 系统进化树

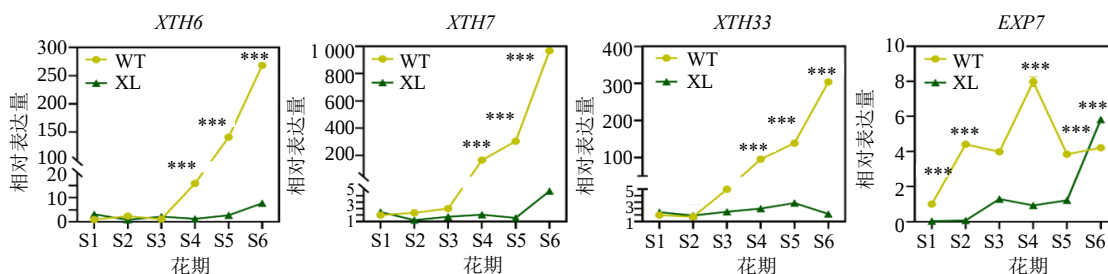
Fig. 4 Phylogenetic tree of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. and *L. macranthoides* XTHs

图 5 灰毡毛忍冬花中 XTHs 及 EXP 的 mRNA 表达情况 (n=3)

Fig. 5 mRNA expression levels of XTHs and EXP in flowers of *L. macranthoides* (n = 3)

酶存在潜在的互作关系, *LmXTH6* 同源的 *AtXTH10* 与果胶甲酯酶、纤维素合酶存在潜在的互作关系, *LmXTH7* 同源的 *AtXTH14*、*AtXTH28*、*AtXTH20*、*AtXTH25* 本身存在一定的互作关系, 整体上与扩展蛋白、伸展蛋白、木聚糖乙酰基转移酶存在互作关系。

3.6 灰毡毛忍冬花冠纵切面的钉红染色及 *PME* 的表达情况

果胶甲酯酶通过脱去细胞壁果胶的甲酯基团, 暴露出负电荷, 而钉红染料会特异性与带负电荷基团结合, 其染色程度的深浅可以反映果胶去甲酯化程度的高低。2 个品种不同时期的花冠纵切片的钉红染色后的果胶分布见图 7-A, 其颜色的深浅与果胶的含量以及去甲酯化程度呈正比。在形态学除了能观察到与番红固绿染色一致的结果之外, 对比不

同区域的细胞, 可以发现在表皮细胞中果胶富集的程度最高, 中间薄壁细胞的果胶含量相对较少, 2 品种之间的染色差异见图 7-B, 以 S3 时期的常规品种中的染色程度为 1, 数据进行归一化处理, 可以发现湘蕾品种花冠中的果胶染色程度在整体上比常规深, 随着花的生长, 二者细胞壁中的果胶染色程度下降, 而湘蕾 S6 时期的花冠中的果胶染色程度却显著上升; 二者花冠果胶染色程度的变化趋势与 *LmPME28*、*LmPME45* 的表达趋势保持一致, 见图 7-B。

4 讨论

一般而言, 在植物花的生长过程中, 花冠的展开离不开花瓣细胞的协调扩张^[32], 本研究通过观察灰毡毛忍冬常规以及湘蕾品种的花冠近轴面表皮细胞显微形态, 首次揭示了灰毡毛忍冬花冠展开的细

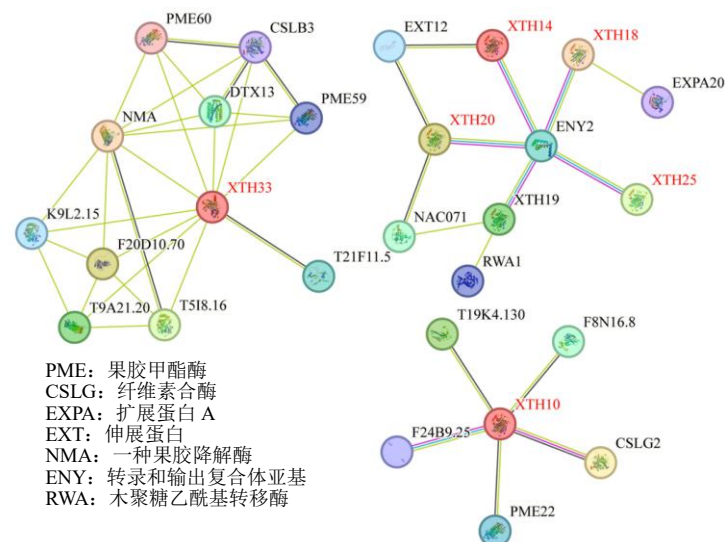


图 6 拟南芥同源 XTHs 蛋白互作网络预测

Fig. 6 Prediction of protein interaction network of *A. thaliana* homologous XTHs

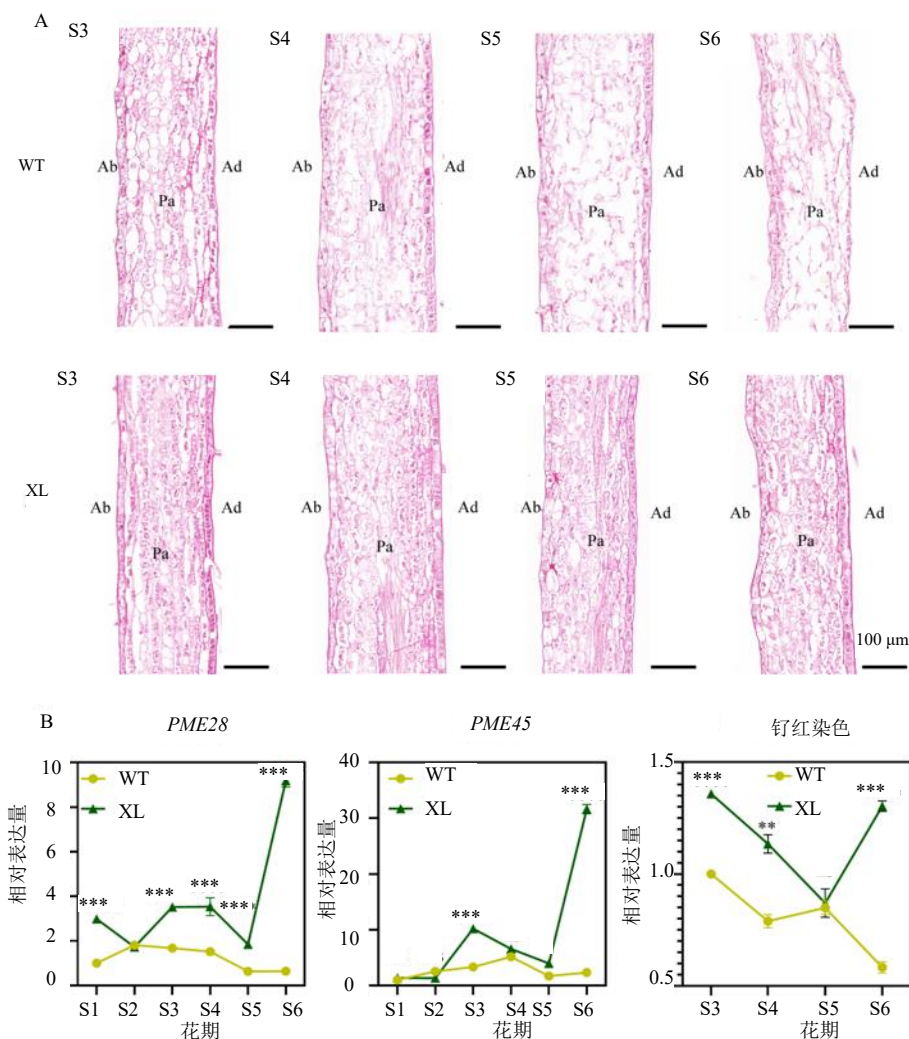


图 7 灰毡毛忍冬花冠纵切面钌红染色 (A) 及 PMEs (B) 的表达情况 ($n=3$)

Fig. 7 Ruthenium red staining of longitudinal sections of *L. macranthoides* corollas (A) and expression of PMEs (B) ($n=3$)

胞动力学特征,即基部优先扩张,随后中部接力的时空模式。在常规品种中 S3~S4 是花蕾快速生长期,此时花冠基部细胞的扩张尤为明显,而到了 S5、S6 时期,基部细胞的扩张速率放缓,中部细胞却仍然保持着较高的扩张速率,这种特异的扩张模式使得灰毡毛忍冬常规品种能够实现花冠展开,随后向外卷曲的目的。研究发现乙烯介导的月季 *Rosa hybrida* E. H. L. Krause 花瓣基部细胞的不对称扩张是促进花瓣展开的原因^[33]。而在湘蕾中,这种扩张模式被打破,湘蕾花冠基部细胞的扩张速率显著低于常规,特别是在 S3~S4 的关键时期,值得注意的是湘蕾花冠基部细胞的平均面积在 S3 时期大于常规,可能说明湘蕾存在早期性地代偿扩张以弥补后期的扩张不足的现象,但从另一个角度猜测,这样的早期扩张也可能是导致湘蕾花冠基部细胞在关键时期扩张的程度减小,未能达到花冠展开所需扩张阈值的原因。花冠纵切面的结果也显示湘蕾花冠近轴面表皮细胞在整个生长过程中伸长不明显,且排列十分紧密,与常规中 S5~S6 时期,表皮细胞伸长,中间薄壁细胞剧烈扩张甚至破裂的现象形成鲜明对比,这表明了湘蕾花冠展开动力的缺失源于细胞扩张能力的缺陷。

木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶通过切割和重新连接木葡聚糖链,参与松弛细胞壁的进程,XTH 属于 GH16 糖苷水解酶家族,具有木葡聚糖内转糖苷酶活性(xyloglucan endotransglucosylase, XET)或木葡聚糖内水解酶活性(xyloglucan endohydrolase, XEH),XTH 基因家族主要分为I、II、III类,而III类又分为IIIA 及IIIB 类,I类及II类具备 2 种酶活力,IIIA 类主要发挥水解作用,IIIB 类则主要具有转移糖苷的作用,可以将木葡聚糖的自由末端与其他木葡聚糖链相连,使细胞壁重构在植物细胞扩张过程中发挥重要作用。本研究通过与拟南芥 XTHs 蛋白序列构建系统进化树,发现 LmXTH6、LmXTH7、LmXTH33 所属类群同时具有木葡聚糖转移及水解能力,荧光定量结果显示,LmXTH6、LmXTH7、LmXTH33 在常规中开始显著上调;LmEXP7 于 S4 时期表达达到峰值,与细胞的快速扩张时期对应,这与桂花中 OfXTH28 表达情况类似,研究发现 OfXTH28 在桂花开放前期表达量上升,并且显著富集在花瓣组织,过表达 OfXTH28 促进了拟南芥花瓣细胞的扩张^[34],此外,在番茄花朵脱落过程中 XTHs 与 EXP 也起到协同作用^[35]。在湘蕾的花中

XTHs 以及 EXP 表达量受到显著抑制,这种近乎沉默的表达状态,解释了湘蕾花冠表皮近轴面细胞由于细胞壁纵向的松弛与重塑受阻,从而导致极性扩张的能力削弱,并且当细胞内部膨压增加时,由于纵向伸展受阻,从而细胞壁往横向方向上突出,形成波浪状褶皱。

拟南芥 XTHs 蛋白互作网络预测结果也表明,细胞壁的重塑与代谢涉及到复杂的转录调控以及酶反应^[36]。研究指出,拟南芥 ANAC071 能激活 AtXTH19、AtXTH20 的启动子区域,参与花序茎切口的细胞增殖^[37]。果胶甲酯酶通过脱去果胶分子上的甲酯基团,暴露带负电荷的羧基,从而改变细胞壁的理化性质。钉红染料能够特异性与这些带负电荷的羧基结合,其染色深度可反映果胶去酯化程度的高低,本研究中湘蕾花冠的钉红染色程度整体上比常规深,并且这一趋势与 LmPME28 与 LmPME45 的表达趋势一致。

目前认为果胶甲酯酶调控果胶甲酯化对细胞壁的力学影响有双向性^[38],需要结合具体的时空而定^[39],也取决于 PME 催化模式、其他果胶修饰反应以及细胞中金属离子浓度等因素。一方面,随机催化模式会为果胶酶提供结合位点^[40],在下游存在果胶酶的情况下,果胶的去甲酯化会促进果胶的水解,导致细胞壁软化,特别是在果实成熟软化方面,PMEs 在番茄 *Solanum lycopersicum* L.^[41-42]、草莓 *Fragaria × ananassa* (Weston) Duch. ex Rozier^[43-44]、番荔枝 *Annona squamosa* L.^[45]等植物果实成熟软化中均有报道。另一方面,连续链状催化模式则会产生低甲酯化果胶区块,暴露出来的羧基负电荷会与游离的钙离子交联,形成稳定的“蛋盒”结构,这点在许多果实上有所体现,如枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.^[46]、桃 *Prunus persica* (L.) Batsch^[47] 采摘后硬化以及影响苹果 *Malus domestica* (Suckow) Borkh.果实脆度^[48]等。此外,这种特性对水稻 *Oryza sativa* L.的开花也有所影响,水稻的花结构较为复杂,花蕊的外围由内稃、外稃、浆片、颖片组成,在开花时,浆片会吸水膨胀把颖片推开,从而暴露出雄蕊,雌蕊^[49]。Wang 等^[50]发现水稻中的 PME40 敲除会导致提前开花,而过表达 PME42 延迟了开花,认为浆片中果胶低甲酯化会导致细胞壁硬化,从而抑制水稻开花。植物体内果胶甲酯酶会受到一种特定蛋白果胶甲酯酶抑制子 PME1 的抑制,这种精密的调控影响着植物细胞壁的生物力学

特性, Pei 等^[51]将棉花 GhPMEI53 及 AtPMEI19 过表达拟南芥, 结果抑制了拟南芥中 PME 的活性, 导致细胞壁中的果胶甲酯化程度增加, 种皮细胞壁软化, 促进种子的发芽, 实验结果表明细胞壁果胶在果胶甲酯酶去甲酯化后, 与钙离子结合的这种结构有助于果胶凝胶的形成, 提高细胞壁的刚性。而 Wang 等^[52]利用 PME 处理洋葱鳞叶表皮, 发现果胶去甲酯化后细胞壁发生了软化, 但是并没有增加细胞壁的弹性, 相反减少了内源性 EXP 诱导的细胞壁蠕动, 降低了细胞壁的延展性, 这或许解释了细胞壁力学特性的变化不单单取决于 PME 的作用。Zhang 等^[53]发现过表达 AtPME5 植株出现了早花现象, 其原因在于, AtPME5 的过表达导致拟南芥维管组织中的细胞壁变薄, 从而加速了成花因子 FT 转运的速度, 这也说明不同组织中 PME 的表达可能会引起不同生理效果。常规花冠后期细胞的破裂可能与花冠进入衰老程序相关, 研究表明在植物完成授粉之后, 花会迅速地衰老并且脱落^[54], 这与本实验观察到的现象一致, 并且开放的花瓣中的细胞通常处于高水势状态, 细胞的膨压较大^[55], 当花瓣细胞启动系统程序性死亡的时候, 内部的薄壁细胞更容易破裂^[56]。除此之外可能还与 PME 的低表达相关, 研究表明, PME 的活性降低会导致番茄果实衰老过程中几乎丧失了组织的完整性^[57]。

研究发现, MYC^[58]、MYB^[59-60]、bHLH^[61-62]、NAC^[63-64]等转录因子会影响花瓣细胞及花瓣的扩展, 因此推测灰毡毛忍冬 XTHs 及 EXP 的表达可能受到上游转录因子的调控激活, 而湘蕾上游信号的缺失或者抑制导致了 XTHs 及 EXP 的表达抑制, 从而抑制了花冠细胞的扩张, 导致花冠两侧生长速度差异未能达到花冠展开所需的阈值。此外, 结合纵切面显微结构来看, 湘蕾中相对高表达的 PME 对细胞壁起硬化作用的可能性更大。

综上所述, 灰毡毛忍冬湘蕾品种花冠不展开与花冠细胞扩张抑制密切相关, XTHs 及 EXP 的表达抑制协同抑制了湘蕾花冠细胞的扩张; PME 的上调增加了细胞壁果胶去甲酯化, 可能导致了细胞壁硬化。该结果为后续进一步研究灰毡毛忍冬花冠展开机制提供理论依据, 后续将通过异源表达等手段研究灰毡毛忍冬 XTHs、EXPs 及 PME 的功能, 进一步挖掘上游转录因子及作用激素, 以深入进行机制解析。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 56.
- [2] 刘思思, 乔中全, 刘新民, 等. 花蕾型和普通型灰毡毛忍冬花冠开裂过程的转录组比较分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(6): 1822-1829.
- [3] 王小明. 灰毡毛忍冬新品种 ISSR 分子标记及组织培养的研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2012.
- [4] 彭美晨, 刘湘丹, 徐玉琴, 等. 灰毡毛忍冬 Lm-XL-AP1 基因克隆、生物信息学和时空表达分析 [J]. 中草药, 2018(7): 1652-1660.
- [5] 俞亚欣, 龙丽君, 李昌珠, 等. 灰毡毛忍冬 AP1 同源基因的克隆及互作蛋白鉴定 [J]. 药学报, 2024, 59(10): 2880-2888.
- [6] 王珊. 灰毡毛忍冬转录组测序及 AP1 和 AGL19 基因的克隆与表达分析 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2019.
- [7] 蔡嘉洛, 朱贻霖, 谢舒平, 等. 灰毡毛忍冬内参基因筛选和 Mads-box 家族基因 AGL15 的时空表达分析 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2727-2733.
- [8] 易刚强, 蔡嘉洛, 朱贻霖, 等. 灰毡毛忍冬 MADS-box 基因家族 AGL15 基因的克隆、生物信息学和表达分析 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 640-647.
- [9] 付学森, 刘紫璇, 王玲, 等. 灰毡毛忍冬 MADS-box 基因家族鉴定与 CMB1 基因克隆 [J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(3): 383-394.
- [10] 龙丽君. 灰毡毛忍冬花器官发育相关 MADS: box 基因的克隆及功能分析 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2024.
- [11] 孙梦姝, 周日宝, 彭晓丹, 等. 灰毡毛忍冬不同品种开花时期内源乙烯动态变化的研究 [J]. 中成药, 2013, 35(9): 1969-1972.
- [12] 刘畅宇. 灰毡毛忍冬乙烯生物合成途径关键酶 ACS、ACO 基因的全长克隆及表达分析 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2019.
- [13] Long Y Q, Zeng J, Yang M, et al. Comparative transcriptome analysis to reveal key ethylene genes involved in a *Lonicera macranthoides* mutant [J]. *Genes Genom*, 2023, 45(4): 437-450.
- [14] 张曼, 张叶卓, 何其邹洪, 等. 植物细胞壁结构及成像技术研究进展 [J]. 生物技术通报, 2023, 39(7): 113-122.
- [15] Zhang B C, Gao Y H, Zhang L J, et al. The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions [J]. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63(1): 251-272.
- [16] Samalova M, Melnikava A, Elsayad K, et al. Hormone-regulated expansins: Expression, localization, and cell wall biomechanics in *Arabidopsis* root growth [J]. *Plant Physiol*, 2023, 194(1): 209-228.
- [17] Miedes E, Zarra I, Hoson T, et al. Xyloglucan

- endotransglucosylase and cell wall extensibility [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168(3): 196-203.
- [18] Watanabe Y, Niki T, Norikoshi R, *et al.* Soluble carbohydrate concentration and expression of expansin and xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase genes in epidermal and parenchyma cells during lily flower opening [J]. *J Plant Physiol*, 2022, 270: 153615.
- [19] Singh A P, Dubey S, Lakhwani D, *et al.* Differential expression of several xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase genes regulates flower opening and petal abscission in roses [J]. *Aob PLANTS*, 2013, 5: plt030.
- [20] Harada T, Torii Y, Morita S, *et al.* Cloning, characterization, and expression of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and expansin genes associated with petal growth and development during carnation flower opening [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(2): 815-823.
- [21] Yang Y, Miao Y F, Zhong S W, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of *XTH* gene family during flower-opening stages in *Osmanthus fragrans* [J]. *Plants*, 2022, 11(8): 1015.
- [22] Del Corpo D, Fullone M R, Miele R, *et al.* AtPME17 is a functional *Arabidopsis thaliana* pectin methylesterase regulated by its PRO region that triggers PME activity in the resistance to *Botrytis cinerea* [J]. *Mol Plant Pathol*, 2020, 21(12): 1620-1633.
- [23] Wang S J, Li R M, Zhou Y J, *et al.* Integrated characterization of cassava (*Manihot esculenta*) pectin methylesterase (*MePME*) genes to filter candidate gene responses to multiple abiotic stresses [J]. *Plants*, 2023, 12(13): 2529.
- [24] Sun J H, Tian Z, Li X X, *et al.* Systematic analysis of the pectin methylesterase gene family in *Nicotiana tabacum* and reveal their multiple roles in plant development and abiotic stresses [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 998841.
- [25] Wang Y, Peng Y Z, Shangguan X C, *et al.* The pectin methylesterase OsPME14 modifies the cell wall to confer copper tolerance in *Oryza sativa* L. [J]. *Plant J*, 2025, 122(4): e70173.
- [26] Shi Y N, Li B J, Grierson D, *et al.* Insights into cell wall changes during fruit softening from transgenic and naturally occurring mutants [J]. *Plant Physiol*, 2023, 192(3): 1671-1683.
- [27] Liao J Q, Shang Y K, Han Z G, *et al.* Dynamic remodeling of pectin and hemicellulose for contrastive cadmium accumulations with root cell walls in distinct *Salvia miltiorrhiza* ecotypes [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 329: 147782.
- [28] 周思敏, 瞿美玲, 曾娟, 等. 灰毡毛忍冬 AP2/ERF 家族成员鉴定及表达分析 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(15): 4248-4262.
- [29] 刘湘丹, 徐玉琴, 王珊, 等. 适用于基因全长克隆的灰毡毛忍冬不同器官总 RNA 提取方法筛选 [J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(12): 60-63.
- [30] 敖志杰, 张惊宇, 曾娟, 等. 灰毡毛忍冬 CHS1 基因克隆及功能分析 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6334-6345.
- [31] 瞿美玲, 周思敏, 张惊宇, 等. 灰毡毛忍冬 bHLH 转录因子家族的鉴定与表达分析 [J]. 生物技术通报, 2025, 41(6): 256-268.
- [32] Chen C X, Hussain N, Ma Y X, *et al.* The ARF2-MYB6 module mediates auxin-regulated petal expansion in rose [J]. *J Exp Bot*, 2023, 74(15): 4489-4502.
- [33] Cheng C X, Yu Q, Wang Y R, *et al.* Ethylene-regulated asymmetric growth of the petal base promotes flower opening in rose (*Rosa hybrida*) [J]. *Plant Cell*, 2021, 33(4): 1229-1251.
- [34] Miao Y F, Yang Y, Zhu H J, *et al.* The basic/helix-loop-helix 79 (bHLH79)-xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 28 (XTH28) regulatory module mediates flower opening in *Osmanthus fragrans* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 322: 146633.
- [35] Tsuchiya M, Satoh S, Iwai H. Distribution of XTH, expansin, and secondary-wall-related *CesA* in floral and fruit abscission zones during fruit development in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 323.
- [36] 张瑞, 赵忠. 细胞壁动态调控及其对植物发育的影响 [J]. 植物学报, 2026, 61(1): 15-25.
- [37] Pitaksaringkarn W, Matsuoka K, Asahina M, *et al.* XTH20 and XTH19 regulated by ANAC071 under auxin flow are involved in cell proliferation in incised *Arabidopsis* inflorescence stems [J]. *Plant J*, 2014, 80(4): 604-614.
- [38] Gallemí M, Montesinos J C, Zarevski N, *et al.* Dual role of pectin methyl esterase activity in the regulation of plant cell wall biophysical properties [J]. *Front Plant Sci*, 2025, 16: 1612366.
- [39] Chen YX. Research progress on plant cell wall structure and regulatory mechanism of pectin metabolism [J]. *Int J Ecol*, 2025, 14(3): 285-297.
- [40] Sénéchal F, Wattier C, Rustérucci C, *et al.* Homogalacturonan-modifying enzymes: Structure, expression, and roles in plants [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(18): 5125-5160.
- [41] Yao Y D, Yang Y, Ding Z Q, *et al.* Nitric oxide delays tomato fruit softening by inhibiting SINAP2 (*NAC*-like, activated by *apetala3/pistillata2*) transcription factor-activated transcription of soften-related genes [J]. *Int J*

- Biol Macromol*, 2025, 309: 143148.
- [42] Wen B, Zhang F, Wu X Z, *et al.* Characterization of the tomato (*Solanum lycopersicum*) pectin methylesterases: Evolution, activity of isoforms and expression during fruit ripening [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 238.
- [43] Cai J F, Mo X L, Wen C J, *et al.* FvMYB79 positively regulates strawberry fruit softening via transcriptional activation of FvPME38 [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(1): 101.
- [44] Xue C, Guan S C, Chen J Q, *et al.* Genome wide identification and functional characterization of strawberry pectin methylesterases related to fruit softening [J]. *BMC Plant Biol*, 2020, 20(1): 13.
- [45] Wang S Q, Liu C Y, Su X R, *et al.* Transcriptome analysis reveals key metabolic pathways and gene expression involving in cell wall polysaccharides-disassembling and postharvest fruit softening in custard apple (*Annona squamosa* L.) [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 240: 124356.
- [46] Huang W N, Shi Y N, Yan H, *et al.* The calcium-mediated homogalacturonan pectin complexation in cell walls contributes the firmness increase in loquat fruit during postharvest storage [J]. *J Adv Res*, 2023, 49: 47-62.
- [47] Ochei C, Basiouny F M, Woods F M. Calcium-mediated postharvest changes in storageability and fruit quality of peaches [A] // Proceedings of the Florida State Horticultural Society [C]. New York: Florida State Horticultural Society, 1994,106: 266-269.
- [48] Yang L, He J L, Qin S J, *et al.* MYB transcription factor MdMYB44 positively regulates fruit crispness by directly activating the expression of pectin methylesterase MdMPE3 in apple [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2025, 224: 109936.
- [49] Ding W Y, Gou Y J, Li Y J, *et al.* A jasmonate-mediated regulatory network modulates diurnal floret opening time in rice [J]. *New Phytol*, 2024, 244(1): 176-191.
- [50] Wang M M, Zhu X P, Peng G Q, *et al.* Methylesterification of cell-wall pectin controls the diurnal flower-opening times in rice [J]. *Mol Plant*, 2022, 15(6): 956-972.
- [51] Pei Y Y, Wang Y K, Wei Z Z, *et al.* Pectin methylesterase inhibitors GhPMEI53 and AtPMEI19 improve seed germination by modulating cell wall plasticity in cotton and *Arabidopsis* [J]. *J Integr Agric*, 2024, 23(10): 3487-3505.
- [52] Wang X, Wilson L, Cosgrove D J. Pectin methylesterase selectively softens the onion epidermal wall yet reduces acid-induced creep [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71(9): 2629-2640.
- [53] Zhang Q, Du J, Hao S, *et al.* Pectin metabolism influences phloem architecture and flowering time in *Arabidopsis Thaliana* [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(39): e02980.
- [54] Thanomchit K, Imsabai W, Burns P, *et al.* Differential expression of ethylene biosynthetic and receptor genes in pollination-induced senescence of *Dendrobium* flowers [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2022, 188: 38-46.
- [55] Beauzamy L, Nakayama N, Boudaoud A. Flowers under pressure: Ins and outs of turgor regulation in development [J]. *Ann Bot*, 2014, 114(7): 1517-1533.
- [56] Iakimova E T, Woltering E J. Revealing programmed cell death events during flower (petal) senescence [J]. *Ann Bot*, 2025: mcaf105.
- [57] Tieman D M, Handa A K. Reduction in pectin methylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(2): 429-436.
- [58] Gong F F, Jing W K, Jin W C, *et al.* RhMYC2 controls petal size through synergistic regulation of jasmonic acid and cytokinin signaling in rose [J]. *Plant J*, 2024, 120(2): 459-472.
- [59] Gong F F, Wang X Y, Zhao Q C, *et al.* The GAs–RhMYB70 feedback loop fine-tunes cell expansion and petal size by modulating cellulose content in rose [J]. *Hortic Res*, 2025, 12(8): uhaf134.
- [60] Jing W K, Gong F F, Liu G Q, *et al.* Petal size is controlled by the MYB73/TPL/HDA19-miR159-CKX6 module regulating cytokinin catabolism in *Rosa hybrida* [J]. *Nat Commun*, 2023, 14: 7106.
- [61] Guan Y X, Ding L, Jiang J F, *et al.* The TIFY family protein CmJAZ1-like negatively regulates petal size via interaction with the bHLH transcription factor CmBPE2 in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Plant J*, 2022, 112(6): 1489-1506.
- [62] Varaud E, Brioudes F, Szécsi J, *et al.* AUXIN RESPONSE FACTOR8 regulates *Arabidopsis* petal growth by interacting with the bHLH transcription factor BIGPETALp [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(3): 973-983.
- [63] Pei H X, Ma N, Tian J, *et al.* An NAC transcription factor controls ethylene-regulated cell expansion in flower petals [J]. *Plant Physiol*, 2013, 163(2): 775-791.
- [64] Dai F W, Zhang C Q, Jiang X Q, *et al.* RhNAC2 and RhEXPA4 are involved in the regulation of dehydration tolerance during the expansion of rose petals [J]. *Plant Physiol*, 2012, 160(4): 2064-2082.

[责任编辑 时圣明]