

兰科植物花发育的基因调控研究进展

田 敏, 龚茂江, 徐小雁, 王彩霞

(中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要: 兰科 Orchidaceae 植物具有唇瓣、蕊柱等独特花形结构。近年来, 关于兰科植物开花调控的研究取得了一定的进展, 已分离鉴定出一些花发育调控基因, 包括花器官特异基因及一些花分生组织特异基因。研究表明: MADS-box 等基因在兰花的成花转换及花器官形成过程中起重要作用, 特别是 B 类基因的表达及功能可能与兰花结构的特异性及多样性有关。表 1 参 33

关键词: 植物学; 兰科植物; 花发育; MADS-box 基因; 基因调控

中图分类号: S718.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)03-0494-06

Research progress on gene regulation in the flower development of orchid

TIAN Min, GONG Mao-jiang, XU Xiao-yan, WANG Cai-xia

(Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

Abstract: Orchidaceae have unique floral morphology and structure including gynostemium and Labellum. Recently, some homologous floral organ identity genes and meristem identity genes have been identified and separated from different orchids. These researches indicated that the homologous MADS-box genes played important roles in the flowering transition and the floral morphogenesis of orchids. Especially, the B-function genes might regulate the development of the floral perianth. This review summarized the recent progresses on the flowering control in orchids. [Ch, 1 tab. 33 ref.]

Key words: botany; Orchidaceae; flower development; MADS-box genes; gene regulation

兰科 Orchidaceae 植物俗称兰花, 是植物界最大的家族之一, 约有 700 属 2 万多种^[1], 是自然环境和生物多样性的的重要组成部分, 具有极高的观赏、药用和生态价值^[2]。中国有着悠久的栽培与观赏兰花的历史。在现代生活中, 兰花作为重要的花卉种类与人们的生活息息相关, 蝴蝶兰 *Phalaenopsis aphrodite*, 大花蕙兰 *Cymbidium faberi*, 文心兰 *Oncidium ampliatum* 等商品花卉在世界花卉市场上占有重要份额。兰科植物是被子植物中最为进化的类群之一, 是十分独特和高度进化的大科^[3-4]。除了较原始的类型(如拟兰亚科 Apostasioideae 中的种类), 大多数兰科植物花的结构表现出独特的进化特征, 如唇瓣的特化与合蕊柱的形成。兰科植物高度特化的繁殖器官为人们发现新的变异基因以及研究花形态建成中不同水平、不同层次的遗传调控提供了极好的材料。为揭开兰花的进化之谜, 2009 年中国科学家启动了“兰花基因组计划”。近年来, 随着模式植物拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 等发育遗传学研究的深入开展, 以及分子生物学技术手段的不断发展, 人们逐渐了解到兰科植物花发育过程中的一些基因调控程序^[5], 这些研究成果对于揭示兰科植物的系统发育地位及其自身的进化过程极具价值。文章介绍了近年来兰科植物花发育基因调控的最新研究进展。

1 ABC 模型与兰科植物花器官的特异性

目前, MADS-box 基因在植物花发育中的调控作用已被人们广为接受。在经典的 ABC 模型中, A 类

收稿日期: 2010-07-22; 修回日期: 2010-10-07

基金项目: 国家林业局引进国际先进农业科学技术计划(“948”计划)资助项目(2008-4-25)

作者简介: 田敏, 副研究员, 博士, 从事园林花卉育种及生物技术研究。E-mail: tmin115@163.com

基因决定萼片属性，A 类和 B 类基因共同决定花瓣属性，B 类和 C 类基因共同决定雄蕊属性，C 类基因单独决定心皮属性。在认识到 *SEPELLATA* (*SEP*) 后，ABC 模型被修正为 ABCE 模型^[6]。此外，D 类基因控制着胚珠的发育^[7]。所有的这些基因，除了 *APETALA2* (*AP2*) 外，都属于 MADS-box 基因家族。

在多数被子植物中，这些花器官特征属性基因表现出限制性表达的特性，从而导致了不连续的花轮特化。在核心真双子叶植物 (core eudicots) 中，这些基因的组织特异性表达导致了萼片、花瓣、雄蕊与心皮的明显分化^[8]。兰科植物在系统进化上属于基部被子植物 (basal angiosperms)，因为没有明显的萼片与花瓣，它们的花被被认为是“不分化”^[6]。一般兰花的 6 个花被片排成 2 轮，花瓣位于内轮，萼片为外轮，中央的 1 片花瓣特化为唇瓣，形态明显不同于 2 片侧生花瓣；而且其雄蕊与雌蕊融合成 1 个蕊柱，花药位于蕊柱顶端的药帽下面，而柱头腔位于蕊柱腹面。面对如此独特的花器官结构，人们不禁疑问经典的 ABC 模型是否适用于兰花的花发育过程，MADS-box 基因是如何参与高度特化花器官的形态决定的？

2 兰科植物花器官发育过程中的调控基因

2.1 兰科植物中的 B 类基因

拟南芥中 B 类基因包括 *APETALA3* (*AP3*) 和 *PISTILLATA* (*PI*)，而金鱼草 *Antirrhinum majus* 中相对应的同源基因是 *DEFICIENS* (*DEF*) 和 *GLOBOSA* (*GLO*)。迄今已在多数被子植物中分离到它们的同源基因。系统发育分析表明 *AP3* 和 *PI* 是由共同的祖先通过基因复制而产生的，而后它们又独自地发生了基因复制事件，产生了多个平行进化同源基因 (paralogous genes)^[9]。依据基因序列的不同，*AP3*-like 基因分为 3 个类型，分别是 *paleoAP3*，*euAP3* 和 *TM6*。其中 *paleoAP3* 主要包括从低等真双子叶植物、木兰类双子叶植物和单子叶植物中鉴定的 *AP3* 同源基因；*euAP3* 包括从大多数真双子叶植物中分离到的 *AP3* 基因；*TM6* 包括从高等真双子叶植物中分离到的其它 *AP3* 基因^[10]。

近年来，不同实验室已从多种兰花中分离到多个 B 类基因的平行进化同源基因。Hsu 等^[11]在文心兰花芽中分离到的一个 B 功能基因 *OMADS3*，序列比较发现该基因与 *paleoAP3* 和 *TM6* 具有较高的同源性。*OMADS3* 在整个花器官中表达，并且在叶组织中表达。这表明 *OMADS3* 的表达没有花器官特异性，这与拟南芥中 B 基因的表达模式不同，拟南芥中 *AP3* 主要参与花瓣和雄蕊的发育。因此，推测 *OMADS3* 虽然在基因序列上与 B 类基因相似，但在功能上可能更接近于 A 类基因，参与了成花转换过程及花器官的发育。

Tsai 等^[12]从小兰屿蝴蝶兰 *Phalaenopsis equestris* 花芽中分离到 4 个 *DEF*-like 基因，它们具有不同的表达模式，其中 *PeMADS2* 主要在萼片、花瓣和蕊柱中表达，*PeMADS3* 主要在花瓣、唇瓣和蕊柱中表达，*PeMADS4* 的表达仅限于唇瓣和蕊柱，*PeMADS5* 在花瓣中表达显著，在萼片、唇瓣和蕊柱中有少量表达。比较它们在野生型与突变体植株中的差异表达，认为 *PeMADS2*，*PeMADS4* 和 *PeMADS5* 可能分别与萼片、唇瓣和花瓣的特化有关，而且没有功能冗余。另一个 B 功能基因 *PI*-like (*PeMADS6*) 在蝴蝶兰中则是单拷贝基因，在花粉块以外的所有花器官中表达。过量表达 *PeMADS6* 的转基因拟南芥的花寿命是野生型的 3 ~ 4 倍，且果实成熟延期，因此，认为 *PeMADS6* 与花期延长以及子房的发育有关^[13]。

另外，Xu 等^[14]从木石斛 *Dendrobium crumenatum* 中分离到 2 个 B 类基因 *DcOPI* 和 *DcOAP3A/B*，分别是 *PI* 和 *AP3* 的同源基因。*DcOPI* 在整个花器官中表达，包括萼片、花瓣、唇瓣、雄性器官 (药帽、花粉块) 以及子房等，*DcOAP3A* 在所有的花器官和一些营养组织中表达，*DcOAP3B* 仅在花瓣、唇瓣、花粉粒和蕊柱中表达。在鹭兰 *Habenaria radiata* 中发现了 3 个 B 类基因 *HrGLO1*，*HrGLO2* 和 *HrDEF*，其中 *HrGLO1*，*HrGLO2* 在萼片、花瓣和蕊柱中表达，*HrDEF* 在花瓣、唇瓣和蕊柱中表达^[15]。这些研究表明，B 类基因对于兰花花器官的发育程序具有复杂的调控机制。

2.2 A 类和 E 类基因

研究表明：A 类和 E 类基因既是花分生组织特异基因，同时又是花器官特异基因。拟南芥中的 A 类基因包括 *AP1* 和 *AP2*，其中 *AP1/FRUITFULL* (*FUL*) 除了参与花分生组织属性决定即花芽发端的调控，还参与了花器官的形成，但 *AP1* 和 *FUL* 在花器官分化中的功能不同。*AP1* 主要参与萼片与花瓣的属性决定，*FUL* 则主要参与心皮和果实的发育^[16]。拟南芥中 *AP1* 的突变能引起花器官向花序组织的部分转

变,以及花萼与花瓣的变化。*API*的异位表达能缩短开花时间,并引起花序组织向花结构的转变^[17]。另外,在花分生组织中表达的一些 *AG* 家族基因,如 *AGL2*, *AGL4* 和 *AGL9*(后来分别被重新命名为 *SEP1*, *SEP2*, *SEP3*)等,它们属于 E 类基因。系统分析表明,这些参与成花转换的 MADS-box 基因基本上都属于 MIKC 亚家族中的 *API/AGL9* 组^[18]。

Yu 等^[19]从石斛兰 *Dendrobium grex Madame Thong-In* 成花转换期茎尖分生组织中分离到 3 个 MADS-box 基因 *DOMADS1*, *DOMADS2* 和 *DOMADS3*, 系统进化分析表明, *DOMADS1* 和 *DOMADS2* 分别属于 *AGL2* 和 *API* 分支,其中 *DOMADS1* 在花序分生组织和花器官原基中转录表达; *DOMADS2* 在整个成花转换期表达,且在后来的蕊柱中表达; *DOMADS3* 在成花转换的早期及后来的花梗组织中表达。文心兰中的一个 *AGL6-like* 基因 *OMADS1* 在顶端分生组织、唇瓣和心皮中特异表达。异位表达 *OMADS1* 的转基因拟南芥和烟草出现植株变小、开花提前、无限花序丧失等性状^[20]。

木石斛中的 *DcOAP2* 属 *AP2-like* 基因(A 类基因), *DcOSEP1* 属 *SEP-like* 基因(E 类基因),它们与拟南芥中同源基因的表达模式一致,均在所有的花器官中表达^[10]。在球花石斛 *Dendrobium thyrsiflorum* 正在发育的花序和子房组织中分离到 3 个 *FUL-like* 基因;实时定量反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)分析表明,它们在花序组织中有着较高的表达水平,而在子房中的表达水平较低,其中 *DthyrFL1* 和 *DthyrFL2* 在花芽由小到大的发育过程中表现出极高的表达量,而 *DthyrFL3* 的表达量在花芽的发育过程中基本上没有变化^[21]。

最近,从文心兰中又鉴定出 4 个 *API/AGL9* 家族成员 *OMADS6*, *OMADS7*, *OMADS10* 和 *OMADS11*, 其中 *OMADS6* 和 *OMADS11* 分别是 *SEP3* 和 *SEP1/2* 的直向同源基因,主要在花瓣、花萼、唇瓣和心皮中表达; *OMADS7* 属 *AGL6-like* 基因,表达模式与 *OMADS6* 相似; *OMADS10* 属 *API* 的同源基因,在叶片、唇瓣及心皮中表达。同 *OMADS1* 一样,这 4 个 *OMADS* 基因在转基因拟南芥中的异位表达均能引起不同程度的提早开花^[22]。这表明它们在文心兰的成花转换和花器官发育的启动中起重要作用。

2.3 C 类和 D 类基因

MADS-box 中 C 和 D 类基因具有较高的同源性,而且与植物的生殖发育密切相关。拟南芥中 C 类基因主要是 *AGAMOUS(AG)*, 参与了雄蕊与雌蕊的发育调控, D 类基因主要有 *SEEDSTICK(STK)*(也称为 *AGL11*), *SHATTERPROOF1(SHP1)* 和 *SHP2*, 它们主要调控胚珠的发育^[23]。兰花蕊柱的发育融合了雄蕊与雌蕊,而兰花子房是在授粉之后才启动发育程序的,因此,兰花为 C 和 D 类基因功能及进化的研究提供了较好的植物材料^[24]。

在球花石斛中分离到 2 个花发育相关基因 *DthyrAG1* 和 *DthyrAG2*, 分别是 *AG* 和 *STK* 的同源基因。原位杂交分析表明,它们在成熟花中具有相同的表达模式,都在蕊喙、柱头和柱头穴中表达,但在子房的发育过程中它们的表达模式不同, *DthyrAG1* 只在胎座和子房发育的起始阶段表达,而 *DthyrAG2* 在整个子房的发育过程中表达^[21]。

Song 等^[25]在蝴蝶兰花芽及子房中分离到 *PhalAG1* 和 *PhalAG2* 等 2 个 *AG-like* 基因,它们分别属于 C 类基因和 D 类基因,其表达模式基本上没有差异,均在花芽中表达,不在营养器官中表达;原位杂交表明,它们的杂交信号在唇瓣、蕊柱及子房中都能检测到。同样,在木石斛的花芽及花器官中分离到 2 个 *AG* 的同源基因 *DcOAG1* 和 *DcOAG2*。系统分析表明 *DcOAG1* 属于 C 类基因,而 *DcOAG2* 是 D 类基因。原位杂交分析其表达模式发现, *DcOAG1* 在所有的花器官中表达, *DcOAG2* 主要在子房的发育过程中表达^[14]。这些研究表明 *AG* 家族基因在调控植物生殖器官的发育过程中起重要作用。另外,如上所述, B 类基因也在木石斛蕊柱及子房中表达,因此,石斛兰蕊柱中 B, C, D 基因的发现,反过来为蕊柱的嵌合特质提供了分子证据。

3 兰科植物成花转换过程中的关键基因

植物的成花转换是花发育的起始阶段,它包括花序分生组织与花分生组织的形成。事实上,如前所述,参与花器官决定的一些 MADS-box 基因如 *API* 和 *FUL* 等也是花分生组织特异基因,调控了植物的成花转换过程。此外,在拟南芥中参与成花转变过程的基因还有 *LEAFY(LFY)*, *EMBRYONIC FLOWER(EMF)*, *FLOWERING LUCUS T(FT)*, *TERMINAL FLOWER(TFL)*等。迄今在兰科植物中也鉴定到了 *LFY*,

FT 和 *TFL1* 的同源基因。Montieri 等^[26]在红门兰 *Orchis italica* 等花序组织中分离到 *LFY* 的同源基因 *Or-cLFY*，并将作为分子标记用于多个欧洲兰科植物的系统发育分析。

在文心兰 *Oncidium Gower Ramse* 中克隆到 *FT* 和 *TFL1* 的同源基因 *OnFT* 和 *OnTFL1*，在腋芽、叶片、假球茎和花中可检测到 *OnFT* 的 mRNA，幼嫩花芽中 *OnFT* 的表达量较成熟花中的高。另外还发现，*OnFT* 的表达受光周期的调控，而 *OnTFL1* 只在腋芽和假球茎中表达，且不受光周期影响。在拟南芥中异位表达 *OnFT*(35S:: *OnFT*)可使转基因植株提早开花，同时 *APETALA1*(*API*)的表达量显著提高^[25]。35S:: *OnTFL1* 转基因拟南芥表现为开花延迟，*API* 的表达量下降^[27]。

4 B 类基因复制与兰花的多样性

从以上论述可知，兰花中的 B 类基因及其表达有以下 3 个特点：存在多个平行进化同源基因；不同的复制基因具有不同的时空表达模式；表达模式不同于模式植物拟南芥，除了在花瓣和雄蕊中表达外，还在外轮萼片中表达。其他基部被子植物如百合、郁金香 *Tulipa gesneriana* 同兰花一样，具有形态一致的萼片与花瓣。研究发现，B 类基因也在它们的萼片中表达^[28-29]。因此，推测兰花中萼片的花瓣状表型的形成与 B 类基因在外轮的表达有关，B 基因的表达区域扩展到外轮的萼片，从而导致萼片的花瓣状分化^[12]。这种 B 类基因的表达及功能延伸到外轮花器官的分子模型被称为边界滑动模型(shifting border model)，这一模型是对经典 ABC 模型的补充，它阐述了 B 功能基因表达区域的可塑性^[30]。

兰花中复制基因不同的表达模式可能与花器官形态的多样性有关。研究发现：在基部被子植物毛茛 *Aquilegia vulgaris* 中，B 类基因 *AqvAP3* 的复制产生 3 个平行进化同源基因，这些基因具有不同的时空表达模式^[31]。睡莲 *Nuphar advena* 中 *AP3* 的一个同源基因在内层瓣状被片中清晰表达，而另一个则完全没有表达^[8]。德国学者 Mondragón-Palomino 和 Theissen^[32]对已发表的包括兰花在内的所有单子叶植物的 *DEF-like* 基因进行了系统进化及发育方面的分析，发现上述兰花中的 *DEF-like* 基因明显地聚为 4 个分支类群(表 1)，而且同一分支中的基因在相同的花被器官中表达，其中分支 I 和分支 II 在外轮萼片和内轮花瓣、唇瓣中都表达，分支 III 主要在内轮花瓣和唇瓣中表达，而分支 IV 只在唇瓣中表达。根据植物花器官发育的 ABC 模式进行类推，他们认为兰花花被的特化是由这 4 类不同的 *DEF-like* 基因决定的。在长期的进化过程中，这些同源基因的功能发生了一系列复杂的亚功能化(subfunctionalization)和新功能化(neofunctionalization)，从而对花被的发育进行了精细的调控，并最终决定兰花花器官的形态多样性^[33]，由此他们提出了兰科植物花器官属性决定的分子模型，并将之称为“兰花密码”(orchid code)。根据这一理论：分支 I 和分支 II 中的基因决定外轮萼片属性，分支 I，分支 II 和分支 III 基因的表达决定内轮花瓣的发育，分支 I，分支 II，分支 III，分支 IV 基因共同决定唇瓣的发育。由于分支 I 和分支 II 中的基因在所有的花被片中表达，因此它们可能负责“花瓣状”属性。而外轮与内轮花被片的不同取决于分支 III 中基因的差异表达；同样，内轮花瓣与唇瓣的不同取决于分支 IV 中基因的差异表达。

表 1 兰科植物中 *DEF-like* 基因在花被中的表达模式^[32]

Table 1 Representation of all the characterized expression patterns of orchid *DEF-like* genes in the perianth organs (revised)

序列名称	分支	物种	族	萼片	花瓣	唇瓣
<i>PeMADS2</i>	I	小兰屿蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis equestris</i>	万代兰族 Vandeae	√	√	√
<i>DcOAP3A</i>		木石斛 <i>Dendrobium crumenatum</i>	树兰族 Epidendroideae			
<i>PeMADS5</i>	II	小兰屿蝴蝶兰 <i>P. equestris</i>	万代兰族 Vandeae	√	√	√
<i>OMADS3</i>		文心兰 <i>Oncidium</i> 'Gower Ramsey'	树兰族 Epidendroideae			
<i>PeMADS3</i>	III	小兰屿蝴蝶兰 <i>P. equestris</i>	万代兰族 Vandeae		√	√
<i>DcOAP3B</i>		木石斛 <i>D. crumenatum</i>	树兰族 Epidendroideae			
<i>HrDEF</i>		鹭兰 <i>Habenaria radiata</i>	兰族 Orchideae			
<i>PeMADS4</i>	IV	小兰屿蝴蝶兰 <i>P. equestris</i>	万代兰族 Vandeae			√

5 问题及展望

现有的研究揭示了 MADS-box 等基因在兰花成花转换及花器官发育过程中的重要作用。鉴于兰花在人类生活中的重要性及其自身具有的科研价值,越来越多的实验室开始了关于兰花开花调控及机制的研究。笔者所在的实验室以商品兰及中国亚热带地区本土兰花为材料,开展了花发育关键功能基因分离以及开花过程中转录组表达分析等研究工作。总体来说,兰科植物开花的遗传控制研究还处于起步阶段,存在以下问题:①分离的关键基因较少,基因表达与花形态相关的实验证据还不够充足,基因表达模式的保守性与特异性需要深入研究;②B类基因对兰科植物花器官发育的调控模式,即“兰花密码”的提出是一个创新,但兰科植物种类繁多,这一模型是否适用于其他物种,也就是说是否具有一般性还需进一步验证;③花的发育还应包括花型的对称性调控以及开花时间的调控,特别是开花时间对于兰花产业化生产极具意义,迄今这方面的研究基本上是空白;④兰花的花器官数量、大小及排列方式也受基因的控制,而这仍待研究,而将整个花发育的基因调控过程论证清楚,并将其与花形态的独特性联系起来,更是需要一个长远的过程。

兰科植物开花调控的研究已经有了一个良好的开端。随着兰花基因组信息的开发以及新的实验技术的应用,兰花之花发育分子机制的研究将会更加深入,新的功能基因及复杂的遗传调控网络将会被逐步发现,这将为兰科植物花器官高度进化的形态学发育提供分子基础,并有助于拓展人们对于植物开花分子调控的理解。

参考文献:

- [1] 郎楷永. 中国植物志: 第 17 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 罗毅波. 中国兰科植物的保护策略[J]. 中国林业, 2003, **11** (B): 24 - 25.
LUO Yibo. The conservation strategy of Chinese orchids [J]. *Chin For*, 2003, **11** (B): 24 - 25.
- [3] 陈心启, 罗毅波. 中国几个植物类群的研究进展 (I) 中国兰科植物研究的回顾与前瞻[J]. 植物学报, 2003, **45** (增刊): 2 - 20.
CHEN Xinqi, LUO Yibo. Advances in some plant groups in China (I) a retrospect and prospect of orchidology in China [J]. *Acta Bot Sin*, 2003, **45** (supp): 2 - 20.
- [4] 陈心启. 关于兰科起源与早期分化的探讨[J]. 植物分类学报, 1982, **20** (1): 1 - 22.
CHEN Xinqi. The origin and early differentiation of the Orchidaceae [J]. *Acta Phytotaxon Sin*, 1982, **20** (1): 1 - 22.
- [5] SCHLUTER P M, SCHIESTL F P. Molecular mechanisms of floral mimicry in orchids [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, **13**: 228 - 235.
- [6] SOLTIS P S, BROCKINGTON S F, YOO M J, *et al.* Floral variation and floral genetics in basal angiosperms [J]. *Am J Bot*, 2009, **96** (1): 110 - 128.
- [7] PNYOPICH A, DITTA G S, SAVIDGE B, *et al.* Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development [J]. *Nature*, 2003, **424**: 85 - 88.
- [8] KIM S, KOH J, YOO M J, *et al.* Expression of floral MADS-box genes in basal angiosperms: Implications for the evolution of floral regulators [J]. *Plant J*, 2005, **43**: 724 - 744.
- [9] THEISSEN G, KIM J T, SAEDLER H. Classification and phylogeny of the MADS-box multigene family suggest defined roles of MADS-box gene subfamilies in the morphological evolution of eukaryotes [J]. *J Mol Evol*, 1996, **43** (5): 484 - 516.
- [10] KRAMER E M, DORIT R L, IRISH V F. Molecular evolution of genes controlling petal and stamen development: duplication and divergence within the *APETALA3* and *PISTILLATA* MADS-box gene lineages [J]. *Genetics*, 1998, **149**: 765 - 783.
- [11] HSU H F, YANG C H. An orchid (*Oncidium* Gower Ramsey) AP3-like MADS gene regulates floral formation and initiation [J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, **43**: 1198 - 1209.
- [12] TSAI W C, KUOH C S, CHUANG M H, *et al.* Four DEF-like MADS-box genes displayed distinct floral morphogenetic roles in *Phalaenopsis* orchid [J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, **45** (7): 831 - 844.
- [13] TSAI W C, LEE P F, CHEN H I, *et al.* PeMADS6, a GLOBOSA/PISTILLATA-like gene in *Phalaenopsis equestris*

- involved in petaloid formation, and correlated with flower longevity and ovary development [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, **46** (7): 1125 – 1139.
- [14] XU Yifeng, TEO L L, ZHOU Jing, *et al.* Floral organ identity genes in the orchid *Dendrobium crumenatum* [J]. *Plant J*, 2006, **46**: 54 – 68.
- [15] KIM S Y, YUN P Y, FUKUDA T, *et al.* Expression of a *DEFICIENS*-like gene correlates with the differentiation between sepal and petal in the orchid, *Habenaria radiata* (Orchidaceae)[J]. *Plant Sci*, 2007, **172**: 319 – 326.
- [16] KRAMER E M, HALL J C. Evolutionary dynamics of genes controlling floral development [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, **8**: 13 – 18.
- [17] BOWMAN J L, WEIGEL D, MEYEROWITZ E M. Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by *APETALA1* and interacting genes [J]. *Development*, 1993, **119**: 721 – 743.
- [18] KAUFMANN K, MELZER R, THEISSEN G. MIKC-type MADS domain proteins: structural modularity, protein interactions and network evolution in land plants [J]. *Gene*, 2005, **347**: 183 – 198.
- [19] YU Hao, GOH C J. Identification and characterization of three orchid MADS-box genes of the *API/AGL9* subfamily during floral transition [J]. *Plant Physiol*, 2000, **123**: 1325 – 1336.
- [20] HSU HF, HUANG C H, CHOU L T, *et al.* Ectopic expression of an orchid (*Oncidium Gower Ramsey*) *AGL6*-like gene promotes flowering by activating flowering time genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, **44** (8): 783 – 794.
- [21] SKIPPER M, PEDERSEN K B, JOHANSEN L B, *et al.* Identification and quantification of expression levels of three *FRUITFULL*-like MADS-box genes from the orchid *Dendrobium thyrsiflorum* (Reichb. f.) [J]. *Plant Sci*, 2005, **169**: 579 – 586.
- [22] CHANG Yuyun, CHIU Xifeng, WU Jiawei, *et al.* Four orchid (*Oncidium Gower Ramsey*) *API/AGL9*-like MADS box genes show novel expression patterns and cause different effects on floral transition and formation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, **50** (8): 1425 – 1438.
- [23] KRAMER E M, JARAMILLO M A, DI STILIO V S. Patterns of gene duplication and functional evolution during the diversification of the *AGAMOUS* subfamily of MADS-box genes in angiosperms [J]. *Genetics*, 2004, **166**: 1011 – 1023.
- [24] YU Hao, GOH C J. Molecular genetics of reproductive biology in orchids [J]. *Plant Physiol*, 2001, **127**: 1390 – 1393.
- [25] SONG I J, NAKAMURA T, FUKUDA T, *et al.* Spatiotemporal expression of duplicate *AGAMOUS* orthologues during floral development in *Phalaenopsis* [J]. *Dev Genes Evol*, 2006, **216**: 301 – 313.
- [26] MONTIERI S, GAUDIO L, ACETO S. Isolation of the *LFY/FLO* homologue in *Orchis italica* and evolutionary analysis in some European orchids [J]. *Gene*, 2004, **333**: 101 – 109.
- [27] HOU C J, YANG C H. Functional analysis of *FT* and *TFL1* orthologues from orchid (*Oncidium Gower Ramsey*) that regulate the vegetative to reproductive transition [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, **50** (8): 1544 – 1557.
- [28] TZENG T Y, YANG C H. A MADS box gene from lily (*Lilium longiflorum*) is sufficient to generate dominant negative mutation by interacting with *PISTILLATA (PI)* in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, **42** (10): 1156 – 1168.
- [29] KANNO A, SAEKI H, KAMEYA T, *et al.* Heterotopic expression of class B floral homeotic genes supports a modified ABC model for tulip (*Tulipa gesneriana*) [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, **52**: 831 – 841.
- [30] THEIßEN G, MELZER R. Molecular mechanisms underlying origin and diversification of the angiosperm flower [J]. *Ann Bot*, 2007, **100**: 603 – 619.
- [31] KRAMER E M, HOLAPPA L, GOULD B, *et al.* Elaboration of B gene function to include the identity of novel floral organs in the lower eudicot *Aquilegia* [J]. *Plant Cell*, 2007, **19**: 750 – 766.
- [32] MONDRAGÓN-PALOMINO M, THEISSEN G. MADS about the evolution of orchid flowers [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, **13**: 51 – 59.
- [33] MONDRAGÓN-PALOMINO M, THEISSEN G. Why are orchid flowers so diverse? reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes [J]. *Ann Bot*, 2009, **104**: 583 – 594.