

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201906041

夏胜应, 刘志雄. *CygoSTK* 基因在普通春兰与奇花品种‘天彭牡丹’中的表达比较 [J]. 广西植物, 2020, 40(4): 518–525.
XIA SY, LIU ZX. Expression comparison of *CygoSTK* gene in *Cymbidium goeringii* and abnormal flower variety ‘Tian Peng Mu Dan’ [J].
Guihaia, 2020, 40(4): 518–525.

CygoSTK 基因在普通春兰与奇花品种 ‘天彭牡丹’中的表达比较

夏胜应, 刘志雄*

(长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 为深入研究春兰 (*Cymbidium goeringii*) 与春兰奇花品种花器官发育调控的分子机制, 该研究采用同源克隆的方法, 分别从普通的春兰与春兰奇花品种‘天彭牡丹’的花芽中克隆得到 1 个 cDNA 长 849 bp D 类 MADS-box 基因 *CygoSTK* (Genbank 登录号为 MH917912.1)。结果表明: 该基因序列在两种春兰中高度一致, 包含 1 个长 705 bp 的完整 ORF, 编码 1 个由 234 个氨基酸残基组成的 STK 进化系 MADS-box 转录因子; 结构分析表明, *CygoSTK* 转录因子包含 1 个高度保守的 MADS 结构域 (MADS domain) (1~57) 和 1 个次级保守的 K 结构域 (91~172), 其 C 末端的转录激活区含有两个高度保守的基序, 即 AGI 基序和 AG II 基序; 进一步用 qPCR 检测 *CygoSTK* 基因在普通的春兰与春兰奇花品种‘天彭牡丹’不同花器官中的相对表达量发现, *CygoSTK* 基因在普通的春兰和春兰‘天彭牡丹’子房中的表达量最高, 显著高于该基因在相应品种其他花器官中的表达量 ($LSD, P < 0.05$)。以上结果说明 *CygoSTK* 基因在功能上有很强的保守性, 主要参与春兰子房的发育。

关键词: 春兰, *CygoSTK* 基因, MADS-box, 花发育, 实时荧光定量

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2020)04-0518-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Expression comparison of *CygoSTK* gene in *Cymbidium goeringii* and abnormal flower variety ‘Tian Peng Mu Dan’

XIA Shengying, LIU Zhixiong*

(College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China)

Abstract: In order to uncover the molecular mechanism of flower organ development regulation of *Cymbidium goeringii* and varieties with abnormal flower, a cDNA was cloned from the flower buds of the common *C. goeringii* and *C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’ by homologous cloning method. The 849 bp D-class MADS-box gene *CygoSTK* (Genbank

收稿日期: 2019-08-09

基金项目: 国家自然科学基金 (31101202) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31101202)].

作者简介: 夏胜应 (1994-), 男, 陕西安康人, 硕士, 主要从事园林植物种质资源与利用研究, (E-mail) 925431216@qq.com。

*通信作者: 刘志雄, 博士, 副教授, 主要从事植物发育遗传与种质创新研究, (E-mail) zxliu77@yahoo.com。

accession number is MH917912.1), which was high identity in *C. goeringii* and *C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’, contained a 705 bp complete ORF, encoding 234 amino acid residues; Protein alignment and a phylogenetic tree grouped *CygoSTK* into the STK lineage. Structural analysis showed that *CygoSTK* transcription factor contained a highly conserved MADS domain (1–57) and a secondary conserved K domain (91–172); In addition, the C-terminal transcriptional activation region of *CygoSTK* contained two highly conserved motifs: AGI motif and AGII motif. Furthermore, the relative expression of *CygoSTK* gene in different floral organs of *C. goeringii* and *C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’ was detected by qPCR. Our data suggested that *CygoSTK* expression was the highest in the ovary of common *C. goeringii* and *C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’, which was significantly higher than that of the other floral organs (*LSD*, $P < 0.05$). Our results indicate that the function of *CygoSTK* gene is highly conserved and *CygoSTK* is mainly involved in regulating the ovary development of *C. goeringii*.

Key words: *Cymbidium goeringii*, *CygoSTK* gene, MADS-box, ploral development, real-time quantitative PCR

春兰(*Cymbidium goeringii*)是兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)地生兰类植物,又名朵兰、扑地兰、幽兰、朵朵香、草兰,在我国有两千多年的栽培历史,因其资源稀有和花型独特而成为人们最为喜欢的国兰种类之一,是春兰育种的重要方向(Xiang et al., 2018)。普通(野生)春兰主要分布在我国的长江流域及西南地区,日本和朝鲜半岛也均有分布(陈君梅等,2016)。春兰叶片飘逸、花姿高雅、花色素淡、香气清幽,具有较高的观赏价值和经济价值,深受东南亚人们的喜爱(Zuo et al., 2017; Han et al., 2018)。我国春兰栽培历史悠久,自然变异类型丰富,积累了许多以花色、瓣型、花型、叶艺等形色各异的名贵种质资源,形成了深厚的养兰、赏兰文化。开发和选育观赏价值高的春兰新品种,对于丰富我国春兰种质资源,弘扬和传播国兰文化等具有重要的科学意义和经济价值。

在春兰传统铭品中,春兰‘天彭牡丹’作为牡丹型奇花的代表,其唇瓣增多,合蕊柱无药帽,由于其开花后酷似牡丹而备受国人青睐。前人对兰科(Orchidaceae)植物意大利红门兰(*Orchis italica*)的研究发现,其 *SEEDSTICK* (*STK*) 同源基因 *OitaSTK* 对维持合蕊柱、胚珠和唇瓣形态的正常发育有重要作用(Salemme et al., 2013)。在拟南芥中,*STK* 是参与调控胚珠和种子正常发育的 D 类 MADS-box 基因,主要在胚珠和种子中表达(Hundertmark et al., 2008)。研究春兰花器官发育的 *STK* 基因的表达模式和功能,一方面有助于解析

春兰花器官形态建成分子基础,为春兰的花型改良和分子育种积累基因资源;另一方面为研究兰科植物的花型演变积累资料。本研究以普通(野生)春兰(*Cymbidium goeringii*)与春兰奇花品种‘天彭牡丹’(*C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’)为材料,在克隆其 D 类 MADS-box 基因 *CygoSTK* 的基础上,通过比较该基因在两个春兰品种花器官中表达模式的差异,分析该基因的表达差异与花型变异的相互关系,以期解析 *CygoSTK* 基因参与春兰花发育调控的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

普通(野生)春兰(*Cymbidium goeringii*)与春兰奇花品种‘天彭牡丹’(*C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’)引种后种植于湖北荆州长江大学园艺园林学院人工气候室。于2018年1月份分别取其当天开花的花朵,分别剥取春兰的花萼、花瓣、唇瓣、花粉块、合蕊柱和子房和‘天彭牡丹’的花萼、花瓣、唇瓣、合蕊柱和子房。将其按组织分开,取样后迅速放于液氮中速冻,于-80℃冰箱中保存备用。

1.2 研究方法

1.2.1 春兰 RNA 的分离和第一链 cDNA 合成 采用 EASY spin Plus 多糖多酚复杂植物 RNA 快速提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)分别提取春兰与春兰‘天彭牡丹’花芽的总 RNA,用

M-MLV逆转录酶(TaKaRa)合成第一链cDNA,反应体系和操作按照说明书进行。

1.2.2 春兰 *CygoSTK* 基因的克隆 根据 Genbank 中已公布的兰科植物 STK 同源基因的 5'非翻译区(5' untranslation region, 5'UTR)和 3'UTR 的保守

序列设计春兰 STK 同源基因引物(表 1),进行春兰 STK 同源基因的全长扩增,扩增程序和阳性克隆的鉴定参考刘志雄和于先泥(2012)的方法。引物合成和测序均由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

表 1 引物名称及序列
Table 1 Primer names and sequences

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence(5'→3')	用途 Function
<i>GSPSTK-F</i>	CAACGACGAGATGCCTTCTCTG	PCR
<i>CygoSTK-R</i>	CTGTAGCAAGACGCCCTTAATGAC	PCR
<i>Actin-F</i>	ATTCAGCCTCTAGTTTGCGATAA	<i>Actin</i> qPCR
<i>Actin-R</i>	CAGCAAATCCAGCCTAACAAATG	<i>Actin</i> qPCR
<i>qCygoSTK-F</i>	TTGAGTATATGCGAAACGAGAA	<i>CygoSTK</i> qPCR
<i>qCygoSTK-R</i>	TTGAGTCGAAGGTTGGAAGGCTC	<i>CygoSTK</i> qPCR

1.2.3 *CygoSTK* 基因序列结构分析 将分离得到的春兰 *CygoSTK* 基因完整开放阅读框(Open Reading Frame, ORF)编码的蛋白在 NCBI 网页上执行 BlastP(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)同源搜索比对,选取来自不同被子植物的 20 个 STK 同源蛋白(表 2),采用 MEGA5.0 软件的邻接法(NJ)构建蛋白序列的分子系统发育树。同时,选取拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的 STK、矮牵牛(*Petunia ×hybrida*)的 FBP7、FBP11 和球花石斛(*Dendrobium thyrsiflorum*)等 8 个物种的 9 个 STK 同源蛋白(表 3),用 BioEdit 7.2 软件中的 ClustalW 程序进行序列比对,进一步分析 *CygoSTK* 蛋白的结构域。

1.2.4 *CygoSTK* 基因的表达分析 在 *CygoSTK* 基因的非保守区域中设计引物,并以春兰的 *CygoActin* (GU181354.1)为内参基因,设计内参基因引物,检测引物的特异性后,用实时荧光定量 PCR 技术(quantitative real time PCR, qPCR)检测 *CygoSTK* 基因在春兰不同花器官中表达的组织特异性,引物序列见表 1。qPCR 在 CFX96(BIO-RAD, 美国)荧光定量 PCR 仪上进行,反应体系 20 μ L: ChamQ SYBR qPCR Master Mix 10 μ L; 上、下游引物各 0.4 μ L; cDNA 模板 0.4 μ L; ddH₂O 8.6 μ L。反应程序: 95 $^{\circ}$ C 1 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s; 60 $^{\circ}$ C 15 s; 40 个循环。实时荧光定量采用 ChamQ SYBR qPCR Master Mix 试剂盒(购置于南京诺维赞生物科技有限公司),基

因的相对表达量按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。用 SPSS17.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 两种春兰花结构的分析

普通春兰的花由 3 枚花萼、2 枚花瓣、1 枚特化的唇瓣、2 个花药构成的花粉块、1 个合蕊柱和 1 个由 3 心皮合生的子房组成,其中花粉块着生于合蕊柱上(图 1:A)。春兰‘天彭牡丹’的花结构包括 4 个花萼、花瓣 2 至多数、唇瓣 2 至多数、合蕊柱顶端无花粉块,子房外观形态正常(图 1:B)。

2.2 春兰 *CygoSTK* 基因全长 cDNA 序列的克隆

春兰 *CygoSTK* 基因 cDNA 序列全长 849 bp, 包含 1 个长 111 bp 的 5'UTR, 1 个长 705 bp 的 ORF, 编码 1 个含 234 个氨基酸残基的 STK-like 转录因子和 1 个终止密码子,同时该序列还包含 1 个长 33 bp 的 3'非翻译区。命名为 *CygoSTK* (Genbank 登录号为 MH917912.1)。序列结构分析表明,两个品种中克隆得到的 *CygoSTK* 基因碱基序列完全一致。

2.3 蛋白同源序列比对与分子系统发生分析

分子系统发生分析与进化树重建结果(图 2)表明, *CygoSTK* 转录因子与 9 个被子植物共 10 个 STK 同源蛋白共聚于 STK 进化系,是拟南芥 STK

表 2 构建分子系统发育树的 STK 同源蛋白

Table 2 STK homologous proteins for phylogenetic tree construction

蛋白质名称 Protein name	种名 Species name	登录号 Accession number
STK	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_192734.1
FBP7	矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	CAA57311.1
FBP11	矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	CAA57445.1
HoMADS1	风信子 <i>Hyacinthus orientalis</i>	AAF08830.1
OrtAG2	红门兰 <i>Orchis italica</i>	AFU81322.1
DthyrAG2	石斛兰 <i>Dendrobium thyrsiflorum</i>	ABQ08574.1
AG	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_567569.1
SHP1	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	AAA32730.1
SHP2	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	AAA32735.1
PrpeSTK	桃 <i>Prnus persica</i>	ABQ85556.1
PravSTK	樱桃 <i>P. avium</i>	AEH41428.1
MaMADS1	小果野蕉 <i>Musa acuminata</i>	AA553908.1
NAG1	烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	AAA17033.1
TAG1	番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	AAA34197.1
CeMADS1	建兰 <i>Cymbidium ensifolium</i>	ADP00515.1
FBP6	矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	CAA48635.1
PLE	金鱼草 <i>Antirrhinum majus</i>	AAB25101.1
LLAG1	铁炮百合 <i>Lilium longiflorum</i>	AAR98733.1
PrseSTK	日本晚樱 <i>Prunus serrulata</i>	ADD91578.1
CygoSTK	春兰 <i>Cymbidium goeringii</i>	MH917912.1

表 3 构建不同物种 STK 同源蛋白比对的序列

Table 3 Sequence alignment construction of different species of STK homologous proteins

蛋白质名称 Protein name	种名 Species name	登录号 Accession number
CygoSTK	春兰 <i>Cymbidium goeringii</i>	
DthyrAG2	球花石斛 <i>Dendrobium thyrsiflorum</i>	AA553908
HoMADS1	风信子 <i>Hyacinthus orientalis</i>	AAF08830
OrtAG2	红门兰 <i>Orchis italica</i>	AFU81322
AVAG2	天门冬 <i>Asparagus virgatus</i>	BAD83772
LMADS2	铁炮百合 <i>Lilium longiflorum</i>	AAS01766
ApMADS2	百子莲 <i>Agapanthus praecox</i>	BAC66963
STK	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_192734
FBP7	矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	CAA57311
FBP11	矮牵牛 <i>Petunia × hybrida</i>	CAA57445

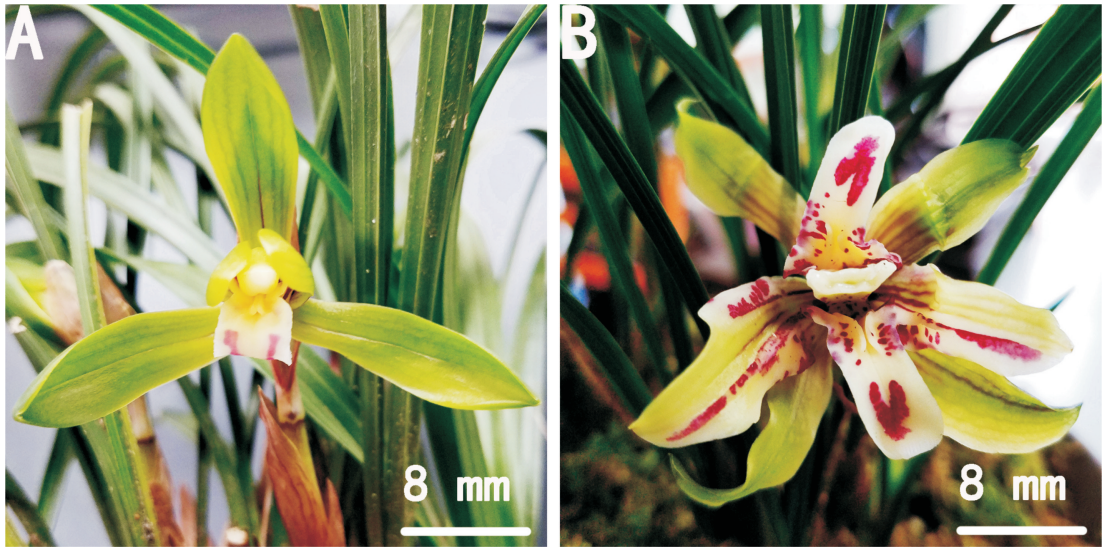
物球花石斛 STK 同源蛋白 DthyrAG2 的亲缘关系最近,序列相似性高达 88.46%,物种间的演化关系在进化树上得到了很好支持。

蛋白同源序列比对结果(图 3)显示,CygoSTK 转录因子具有 1 个高度保守的 MADS 结构域(MADS domain)(1~57),1 个次级保守的 K 结构域(91~172),1 个保守性较低的 I 区(58~90)。其 M 区有 57 个氨基酸,I 区有 33 个氨基酸,K 区有 82 个氨基酸,C 区有 62 个氨基酸,其 C 末端的转录激活区含有两个高度保守的基序,即 AGI 基序和 AG II 基序,且在该蛋白的最末端发现了单子叶植物 D 类蛋白特有的 MD 基序(图 3)。这进一步证实 CygoSTK 蛋白属于 MADS-box 基因家族中的 D 类蛋白。

2.4 春兰 *CygoSTK* 基因在花器官中表达的组织特异性分析

qPCR 检测分析结果(图 4)显示,在春兰中 *CygoSTK* 基因主要在花瓣、唇瓣、花粉团、合蕊柱和

直系同源蛋白,其与拟南芥的 STK 转录因子的序列相似性为 57.87%,该转录因子与单子叶植物的 STK 同源蛋白聚于 1 个小的进化分支,其与兰科植

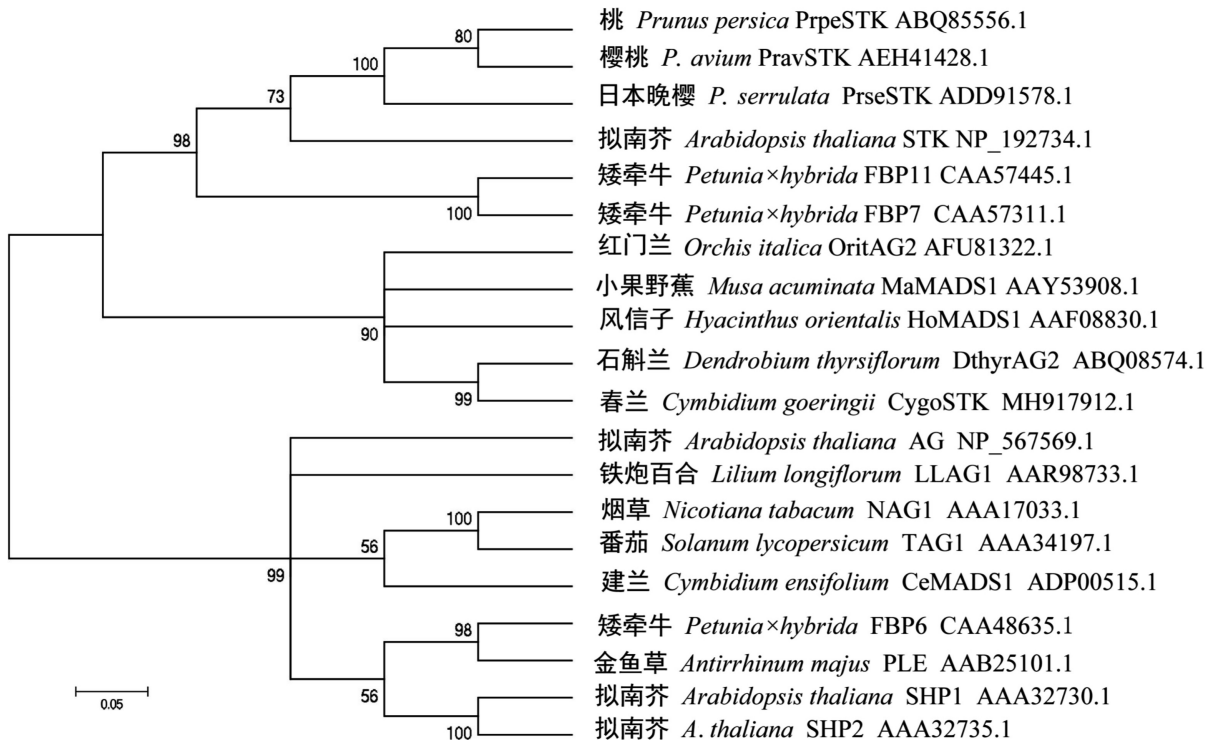


A. 春兰; B. 春兰‘天彭牡丹’。

A. *Cymbidium goeringii*; B. *C. goeringii* ‘Tian Peng Mu Dan’.

图 1 两种春兰的花结构

Fig. 1 Flower structure of two kinds of *Cymbidium goeringii*

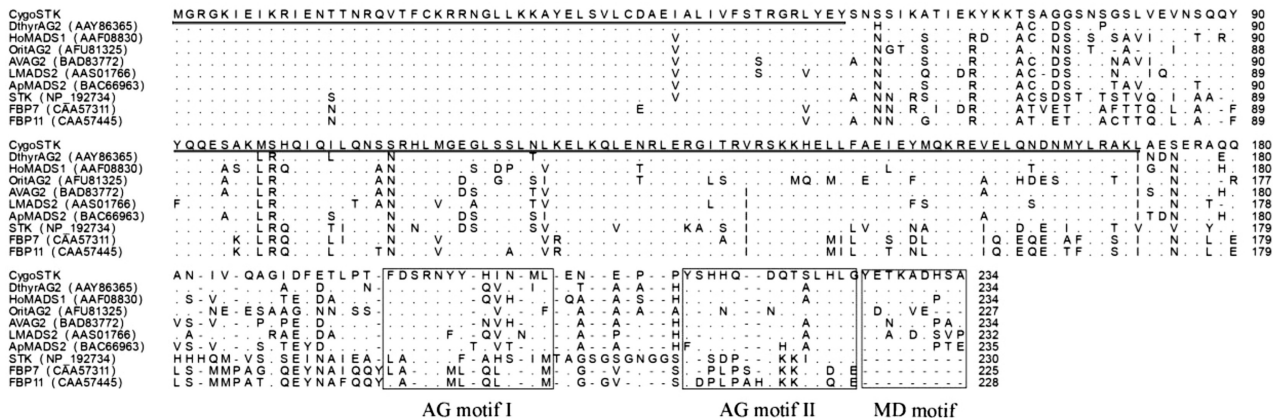


分支上的数字表示执行 1 000 次重复计算获得的自展百分比。标尺代表遗传距离。

The number represents the Bootstrap percentage values calculated by 1 000 replicates. The scale bar represents genetic distance.

图 2 CygoSTK 与其他植物 STK-like 蛋白的分子系统发生分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of CygoSTK and other STK-like proteins from different plants

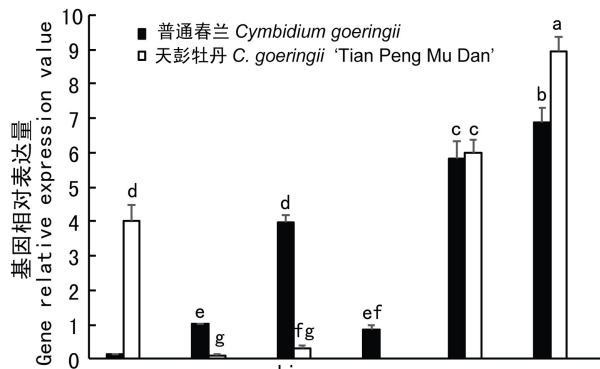


第1个下划线代表M区,第2个下划线代表K区,M区和K区之间是I区;AG I基序、AG II基序和MD基序用方框标出。

The first underline represents the M region, the second underline represents the K region, and the I region is between M region and the K region; AG I motif, AG II motif and MD motif are boxed.

图3 *CygoSTK* 与其他物种D类MADS-box同源蛋白间的比较

Fig. 3 Comparison of *CygoSTK* with D-class MADS-box homologous proteins of other plants



se. 花萼; pe. 花瓣; lip. 唇瓣; an. 花粉团; gy. 合蕊柱; ov. 子房。

se. Sepal; pe. Petal; lip. Labellum; an. Anther; gy. Gynostemium; ov. Ovary.

图4 *CygoSTK* 基因在两个品种花器官中的表达比较

Fig. 4 Comparison expression of *CygoSTK* gene in floral organs of two varieties

子房中表达,在花萼中仅能检测到微弱的转录信号;其在子房中的表达量最高,均显著高于其在其他花器官中的表达 ($LSD, P < 0.05$),在合蕊柱中的表达量其次,但均显著高于其在花瓣、唇瓣和花粉团中的表达量 ($LSD, P < 0.05$);同时, *CygoSTK* 基因在唇瓣中的表达量显著高于花瓣和花粉团 ($LSD, P < 0.05$),但其在花粉团中的表达与花瓣中的表达量却无显著差异。在春兰‘天彭牡丹’中

CygoSTK 基因主要在花萼、唇瓣、合蕊柱和子房中表达,在花瓣中仅能检测到微弱的转录信号;与普通春兰类似, *CygoSTK* 基因在春兰‘天彭牡丹’子房中的表达量最高,均显著高于其他花器官 ($LSD, P < 0.05$),在合蕊柱中的表达量次之,显著高于花萼和唇瓣 ($LSD, P < 0.05$),同时在花萼中的表达量也显著高于唇瓣 ($LSD, P < 0.05$)。从 *CygoSTK* 基因在两种春兰同类花器官表达的差异来看, *CygoSTK* 基因在春兰‘天彭牡丹’的花萼中有明显表达,而在普通春兰花萼中仅能检测到微弱的转录信号;在普通春兰的花瓣中有明显表达,而在春兰‘天彭牡丹’花瓣中仅能检测到微弱的转录信号;但 *CygoSTK* 基因在普通春兰唇瓣中的表达量却显著高于春兰‘天彭牡丹’ ($LSD, P < 0.05$)。从 *CygoSTK* 基因在普通春兰和春兰‘天彭牡丹’合蕊柱与子房中的表达量来看, *CygoSTK* 基因在普通春兰子房中的表达量显著高于‘天彭牡丹’ ($LSD, P < 0.05$),但在两个品种合蕊柱中的表达量却无显著性差异。

3 讨论

在本研究中,获得了春兰与春兰奇花品种‘天彭牡丹’花器官发育相关的1个MADS-box基因

CygoSTK。氨基酸序列比对、蛋白质结构域和系统进化树分析结果表明, *CygoSTK* 蛋白均含有典型的 MADS 结构域和 K 结构域, 是高度保守的 D 类 MADS-box 蛋白。

在被子植物中, MADS-box 基因表达模式的变化大多会对植物的生长发育产生重要影响 (Kramer et al., 2004)。在模式植物拟南芥中, *STK* 基因主要在子房中表达, 参与调控胚珠和种子的发育 (Hundertmark et al., 2008)。在石蒜科 (Amaryllidaceae) 植物中国水仙 (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) 中, *STK-like* 基因 *NtSTK* 主要在雌蕊中表达 (吴菁华等, 2015)。在蔷薇科 (Rosaceae) 植物重瓣樱花‘普贤像’中, *STK* 同源基因 *PrseSTK* 在花萼、雄蕊和雌蕊中表达, 其在花萼中异位表达导致重瓣樱花萼筒上着生异位子房, 进而参与调控樱花单瓣与重瓣花的形态差异 (刘志雄和李凤兰, 2015)。在棕榈科植物油棕 (*Elaeis guineensis*) 中, 其 *STK* 同源基因 *SHELL* 除参与调控果实形状发育外, 还参与种子油脂的合成 (Singh et al., 2013)。在兰科植物中, 文心兰 (*Erycina pusilla*) 的 *STK* 同源基因 *EpMADS23* 在合蕊柱中的表达量显著高于其他花器官组织 (Dirks-Mulder et al., 2017)。在小屿蝴蝶兰 (*Phalaenopsis equestris*) 中, *STK-like* 基因 *PeMADS7* 仅在合蕊柱中表达, 且表达时间相对较晚, *PeMADS7* 转基因拟南芥表现出早花、叶片向上弯曲以及种子不育增加等现象 (You et al., 2012)。木石斛 (*Dendrobium crumenatum*) 的 *STK* 同源基因 *DcOAG2* 在合蕊柱、子房和花粉团中检测到有表达, 主要调控石斛兰子房的发育 (Xu et al., 2010)。蝴蝶兰 (*Dendrobium thyrsiflorum*) 的 *STK* 同源基因 *PhalAG2* 在唇瓣、蕊柱、子房中均有表达, 该基因与 C 类基因共同调控着蝴蝶兰子房的发育 (Song et al., 2006)。石斛兰的 *STK* 同源基因 *DthyrAG2* 在唇瓣、蕊柱和子房中均有表达, 且在胚珠晚期的发育中发挥着重要作用 (Skipper et al., 2006)。

在本研究中, *CygoSTK* 基因主要在春兰的唇瓣、花粉团、合蕊柱和子房中表达, 其中在子房中的表达量显著地高于其他花器官, 表明 *CygoSTK* 基因对春兰子房的形成起着重要的调控作用。在

春兰奇花品种‘天彭牡丹’中, *CygoSTK* 基因主要在花萼、合蕊柱和子房中表达, *CygoSTK* 基因在春兰‘天彭牡丹’花萼中表达量高可能与其花萼增多与形态变异相关, 但具体的调控方式还有待于进一步研究。从 *CygoSTK* 基因在两个春兰品种花器官的表达模式来看, 其主要在合蕊柱和子房中表达, 但在子房中的表达量显著高于其他花器官, 在春兰花发育过程中可能主要参与调控子房的发育。

综上所述, *CygoSTK* 基因的表达在功能上具有很强的保守性, 主要参与春兰子房的发育, 同时对该基因的进一步研究对于春兰花器官形态改造及定向的培育具有重要参考价值。

参考文献:

- CHEN JM, SONG JY, HE J, et al., 2016. Studies on volatile components in the flowers of *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium faberi* in Qinling Mountains [J]. Acta Horti Sin, 43(12): 2461-2472. [陈君梅, 宋军阳, 何洁, 等, 2016. 秦岭地区春兰和蕙兰的花挥发性成分研究 [J]. 园艺学报, 43(12): 2461-2472.]
- DIRKS-MULDER A, BUTOT R, VAN SP, et al., 2017. Exploring the evolutionary origin of floral organs of *Erycina pusilla*, an emerging orchid model system [J]. BMC Evol Biol, 23(3): 17-89.
- HAN YP, KANG KW, KIM DH, et al., 2018. *In vitro* propagation of *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. through direct adventitious shoot regeneration [J]. Physiol Mol Biol Plant, 24(2): 307-313.
- HUMBERTMARK M, HINCHA DK, 2008. LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. BMC Genomics, 118(9): 1471-2164.
- KRAMER EM, PLUSCA C, PLUS CL, 2019. The developmental evolution of flowers [J]. Curr Top Dev Biol, 131(12): 211-238.
- LIU ZX, YU XN, 2012. Cloning and expressing analysis of a floral homeotic gene *PrseAP3* from *Prunus lannesiana* [J]. J Huazhong Agric Univ, 31(5): 578-583. [刘志雄, 于先泥, 2012. 日本晚樱同源异型基因 *PrseAP3* 的克隆及其在单瓣与重瓣花中的表达分析 [J]. 华中农业大学学报, 31(5): 578-583.]
- LIU ZX, LI FL, 2015. Expression of a floral homeotic gene *PrseSTK* from *Prunus lannesiana* in single and double flower

- [J]. Bull Bot Res, 35(4): 535–539. [刘志雄, 李凤兰, 2015. 樱胚珠发育调控基因 *PrseSTK* 在单瓣与重瓣花中的表达比较 [J]. 植物研究, 35(4):535–539.]
- SALEMME M, SICA M, GAUDIO L, et al., 2013. The *OitaAG* and *OitaSTK* genes of the orchid *Orchis italica*: A comparative analysis with other C- and D-class MADS-box genes [J]. Mol Biol Rep, 40(5): 3523–3535.
- SINGH R, LOW ET, OOI LC, et al., 2013. The oil palm *SHELL* gene controls oil yield and encodes a homologue of *SEEDSTICK* [J]. Nature, 500(7462): 340–344.
- SKIPPER M, JOHANSEN LB, PEDERSEN KB, et al., 2006. Cloning and transcription analysis of an *AGAMOUS* and *SEEDSTICK* ortholog in the orchid *Dendrobium thyrsiflorum* (Reichb. f.) [J]. Gene, 366(2): 266–274.
- SONG IJ, NAKAMURA T, FUKUDA T, et al., 2006. Spatio-temporal expression of duplicate *AGAMOUS* orthologues during floral development in *Phalaenopsis* [J]. Dev Gene Evol, 216(6): 301–313.
- WU JH, WU SH, YANG C, et al., 2015. cDNA cloning, sequence analysis and tissue expression of *NtSTK* gene in *Narcissus tazetta* var. *chinese* [J]. Chin J Trop Crop, 36(10): 1820–1824. [吴菁华, 吴少华, 杨超, 等, 2015. 中国水仙 *NtSTK* 基因的克隆、序列和组织表达分析 [J]. 热带作物学报, 36(10):1820–1824.]
- XIANG L, CHEN Y, CHEN L, et al., 2018. B and E MADS-box genes determine the perianth formation in *Cymbidium goeringii* (Rehb. f.) [J]. Physiol Plant, 162(3): 353–369.
- XU Y, TEO LL, ZHOU J, et al., 2010. Floral organ identity genes in the orchid *Dendrobium crumenatum* [J]. Plant J, 46(1): 54–68.
- YOU YC, PEI FL, YU YH, et al., 2012. C- and D-class MADS-Box genes from *Phalaenopsis equestris* (Orchidaceae) display functions in gynostemium and ovule development [J]. Plant Cell Physiol, 53(6): 1053–1067.
- ZUO LJ, YU L, CHEN B, 2017. Studies on rhizome multiplication and differentiation of *Cymbidium sinense* × *Cymbidium goeringii* [J]. Agric Biotechnol, 6(6): 22–25.

(责任编辑 蒋巧媛)