

·综述·

植物进化发育生物学的形成与研究进展

张剑*, 徐桂霞, 薛皓月, 胡瑾

中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室, 北京 100093

摘要 植物进化发育生物学是最近十几年来才兴起的一门学科, 它是进化发育生物学的主要分支之一。进化发育生物学的产生经历了进化生物学与胚胎学、遗传学和发育生物学的三次大的综合, 其历史可追溯到19世纪初冯·贝尔所创立的比较胚胎学。相关研究曾沉寂了近一个世纪, 直到20世纪80年代早期, 动物中homeobox基因被发现, 90年代初花发育的ABC模型被提出, 加之对发育相关基因研究的不断深入, 才使基因型与表型联系了起来, 进而促进了进化发育生物学的飞速发展。目前进化发育生物学已成为21世纪生命科学领域的研究热点之一。本文详细阐述了进化发育生物学产生和发展的历程, 综述了最近十几年来植物进化发育生物学的主要研究进展。文中重点介绍了与植物发育密切相关的MADS-box基因在植物各大类群中的研究现状, 讨论了植物进化发育生物学领域的研究成果对花被演化、花对称性以及叶的进化等重要问题的启示。

关键词 进化发育生物学, 被子植物, MADS-box, 基因家族, 系统发育

张剑, 徐桂霞, 薛皓月, 胡瑾 (2007). 植物进化发育生物学的形成与研究进展. 植物学通报 24, 1–30.

进化发育生物学(evolutionary developmental biology, 简称 evo-devo), 是一门整合了进化生物学(evolutionary biology)、发育生物学(developmental biology)、分子遗传学(molecular genetics)、胚胎学(embryology)及古生物学(paleontology)等多个学科的思想和研究方法的综合性学科。遗传学家们更愿意把 evo-devo 译为 evodevotics, 即进化发育遗传学(evolutionary developmental genetics)(Theissen, 2000), 两种译法在本质上是一样的。进化发育生物学的定义很多, 以下是几个比较有代表性的: (1) 维基百科 *Wikipedia* 中将进化发育生物学阐释为通过比较不同生物的发育过程, 来确定生物间的亲缘关系以及发育过程的进化; (2) Hall(2003)认为进化发育生物学是一门揭示生物表型遗传变化发育机制的学科, 旨在发现和理解表型起源和进化的分子机制, 并由此打开基因型(genotype)与表型(phenotype)之间的黑匣子(black box); (3) Baguñà和García-Fernández(2003)提出进化发育生物学的研究目的在于揭示发育过程和发育机制在

进化中是如何被修饰的, 以及曾有或现有的多样性是如何从这些变化中产生的。本文将回顾进化发育生物学的发展历史, 阐述植物进化发育生物学的形成过程, 纵览植物进化发育生物学的研究进展, 展示这一21世纪前沿学科的概貌。

1 进化发育生物学简史

1.1 萌芽阶段——进化生物学与胚胎学的综合

发育生物学的研究最早是从胚胎学开始的(白书农, 2003)。18世纪曾有两种关于胚胎发生的假说: 预成论(preformation)和渐成论(epigenesis)。预成论又称先成论, 该假说认为生物体是从预先存在于生殖细胞(卵子或精子)中的雏形发展而来的。发育过程中并没有新的结构产生, 只是原本就存在的雏形的机械性扩大。渐成论又称衍生论或后成论, 是1759年由德国胚胎学家沃尔夫(Caspar Friedrich Wolff, 1733 - 1794年)首先提出的, 该假说认为从受精卵至新生个体的生长和发育是个渐变的

收稿日期: 2006-11-03; 接受日期: 2006-11-17

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30530090 和 30121003)和植物所领域前沿方向性项目

* 通讯作者。E-mail: jian980@126.com

过程,即生物有机体的各种组织和器官是在胚胎发育过程中由原来未分化的物质发展形成的,在早期胚胎中并没有预先存在的结构(雏形)。

1827年,德裔俄国胚胎学家冯·贝尔(Karl Ernst von Baer, 1792 - 1876年)出版了 *On the Mammalian Egg and the Origin of Man* 一书。他观察到人和各种脊椎动物的早期胚胎极为相似,并指出一组动物在胚胎发育过程中,属于所有动物共有的结构总是比用以区分不同种类动物的特征结构先出现。此规律在1842年被德国比较解剖学家穆勒(Johannes Müller, 1801 - 1858年)总结为冯·贝尔定律(von Baer's laws)。冯·贝尔的研究成果彻底否定了预成论,并创立了比较胚胎学(comparative embryology)。这是胚胎学(后来发展出了发育生物学)与进化生物学的最初接触,所以,在一定程度上可以说进化发育生物学最初源于19世纪的比较胚胎学(Arthur, 2002)。

1859年,英国博物学家达尔文(Charles Robert Darwin, 1809 - 1882年)在 *On the Origin of Species* 一书中提出了以自然选择(natural selection)为基础的进化学说(Darwin, 1859),这标志着科学的生物进化论的诞生。其间,达尔文提出了生物进化的机制,他解释动物在形态上的相似是由于它们均来自共同的祖先,而形态上的差异是在不同环境中受自然选择的结果。他受冯·贝尔定律的影响,指出不同动物早期胚胎的相似性反映了物种起源的共祖性,而后期的相异则是由各种动物所处外界环境的不同所引起的(Gilbert, 2003)。他强调胚胎的相似性可以为不同生物类群的共祖性提供证据,胚胎发育是探索生物进化的可靠线索。

德国生物学家海克尔(Ernst Haeckel, 1834 - 1919年),是最早提到将进化与发育相结合这一革命性主题科学家(Sander, 2002)。通过对脊椎动物胚胎发育的长期研究,海克尔于1866年提出了生物重演律(biogenetic law, 亦称生物发生律),他将个体发育(ontogeny)与系统发育(phylogeny)联系起来,提出个体发育是系统发育短暂而快速的重演(recapitulation)(Haeckel, 1866; Gilbert, 2003)。生物重演律的提出促进了进化论与发育研究的结合。

由于达尔文认为胚胎学可以为生物的进化提供最佳证据,于是在19世纪后三分之一的时间里,大量形态学家致力于比较胚胎学的研究(Bowler, 1996; Hall, 1999),并将其应用于不同动物胚层同源性(homology)与系统发育问题的研究上,使比较胚胎学中融入了进化的思想,进而产生了进化胚胎学。进化胚胎学在个体水平上探索不同分类阶元生物的系统发育关系,使胚胎学与分类学(taxonomy)得到了很好的结合。

1.2 积累阶段——进化生物学与遗传学的综合

19世纪80 - 90年代,描述胚胎学(descriptive embryology)在解释一些发育现象时遇到了困难。但胚胎学的发展并没有因此而停滞不前,德国胚胎学家韦尔海姆·鲁克斯(Wilhelm Roux, 1850 - 1924年)和汉斯·杜里舒(Hans Driesch, 1867 - 1941年)等人分别将实验手段用于胚胎发育的研究,由此胚胎学进入了实验胚胎学(experimental embryology)阶段。韦尔海姆·鲁克斯预言:(1)个体胚胎发育(个体发育)机制的研究将比系统发育(进化)的研究进展得快;(2)发育与进化最终将会通过个体发育再次将注意力投向系统发育来实现二者的整合(Gilbert, 2003)。他的第一个预言很快得到了验证,因为从20世纪初开始,胚胎学家对胚胎是如何发育的就比对胚胎是如何进化的更感兴趣,所以他们进行了大量有关胚胎发育的实验研究,而对系统发育的研究则逐渐减弱(Raft, 1996)。虽然,这大大促进了实验胚胎学的发展,但也导致了发育研究与进化研究的隔离,进而使进化发育生物学的发展趋于停滞。因此,韦尔海姆·鲁克斯的第二个预言用了将近一个世纪才得以证实。

1900年,被“埋没”了35年之久的孟德尔(Johann Gregor Mendel, 1822 - 1884年)遗传定律,由荷兰的植物学家德弗里斯(Hugo de Vries, 1848 - 1935年)、德国植物学家柯灵斯(Carl Erich Correns, 1864 - 1933年)、奥地利植物学家丘歇马克(Erich von Tschermak-Seysenegg, 1871 - 1962年)各自重新发现。孟德尔遗传定律的再度问世,标志着遗传学的诞生。1915年,美国遗传学家摩尔根(Thomas Hunt Morgan, 1866 - 1945年)出版了 *The Mechanism of Mendelian Heredity* 一书,

提出了基因在染色体上线性排列的理论, 而后又在1926年发表了名著*The Theory of the Gene*, 提出基因学说, 进而使遗传学与胚胎学正式分离开来(Gilbert, 1988)。此外, 正是摩尔根对果蝇*Drosophila melanogaster*的研究, 开创了遗传学研究的模式系统, 并使该学科迅速发展起来。1953年, 沃森(James Watson, 1928年-)和克里克(Francis Crick, 1916-2004年)提出了DNA的双螺旋结构模型, 使生物学进入了一个新的时代——分子生物学时代。

摩尔根曾指出遗传学将对进化研究做出极大的贡献(Morgan, 1932)。而事实上, 遗传学的发展弥补了达尔文进化论缺乏遗传学方面的认识与机制分析的不足, 为现代进化论的诞生奠定了理论基础。概括地讲, 将基因学说和自然选择学说真正结合起来的是群体遗传学(population genetics)的3位创建者, 英国的费希尔(Ronald Aylmer Fisher, 1890-1962年)、霍尔丹(John Burdon Sanderson Haldane, 1892-1964年)和美国的赖特(Sewall Wright, 1889-1988年)。三位科学家通过创建群体遗传学, 为现代进化论的形成奠定了数学基础。群体遗传学把生物进化定义为群体内基因频率(gene frequency)的改变, 这正是现代综合进化论的核心内容之一。

历史上, 有很多生物学家致力于将遗传学与进化论整合在一起。在20世纪30-40年代, 众多生物学家为完成这个目标共同努力, 代表人物是4位美国生物学家——美籍前苏联遗传学家杜布赞斯基(Theodore Dobzhansky, 1900-1975年)、动物学家迈耶尔(Ernst Mayr, 1904-2005年)、古生物学家辛普森(George Gaylord Simpson, 1902-1984年)和植物学家斯特宾斯(George Ledyard Stebbins, 1906-2000年)。其中以杜布赞斯基的影响最大。

1937年, 杜布赞斯基的巨著*Genetics and the Origin of Species*的出版, 标志着现代进化论的诞生。现代进化论认为种群(或居群)(population)是生物进化的基本单位, 进化机制的研究属于群体遗传学的范畴; 基因突变和染色体畸变是生物进化的原始材料; 在物种形成(speciation)和生物进化过程中, 突变(mutation)、选择

(selection)和隔离(isolation)是3个最基本的环节, 同时遗传漂变(genetic drift)、基因流(gene flow)也是主要动力; 进化的动力可引起基因频率的改变; 而环境也是重要的影响因素。该理论运用孟德尔定律来解释遗传变异(inheritable variation)的性质和机制, 应用群体遗传学的方法来研究进化机制, 并接受了达尔文进化论中的自然选择学说。

此后10年, 有关现代进化论的研究硕果累累。动物学家迈耶尔应用现代进化论的思想来研究分类学, 并于1942年出版了*Systematics and the Origin of Species*一书。他在群体水平上对物种(species)进行了定义, 并提出了在地理变异和隔离条件下新种产生的模型。古生物学家辛普森的研究表明, 现代进化论可以被用于解释化石记录, 而植物学家斯特宾斯则指出植物的进化同样能够通过现代进化论加以解释。到20世纪40年代, 现代进化论已经被成功地应用于几乎所有的生物学领域。1942年, 朱利安·赫胥黎(Julian Huxley, 1887-1975年)出版了*Evolution: Modern Synthesis*一书, 综合了现代进化论在各个领域的研究成果。现代进化论也因此被称为现代综合学说(the modern synthesis, 亦称现代综合进化论)。1947年在普林斯顿成立了遗传学、分类学和古生物学的共同问题委员会, 标志着这个伟大的综合过程的最终完成。

生物的进化可以分为: 物种水平以下的进化, 即小进化(microevolution)、物种形成和产生物种以上的新类群(新属、新科等等)的进化, 即大进化(macroevolution)。现代进化论将生物的进化定义为群体内基因频率的改变, 这种改变不仅可以产生小进化, 还可以导致新种的产生和大进化。达尔文进化论和现代进化论都认为生物进化是渐变的过程, 新种产生和大进化都是小进化缓慢累积的结果。但有一些生物学家却对此持怀疑态度, 其中最为著名的是德裔美国遗传学家高兹史密特(Richard Goldschmidt, 1878-1958年)。1940年, 高兹史密特出版了*The Material Basis of Evolution*一书, 他认为微小的遗传改变并不足以产生进化上的新结构, 小进化的结果不能推广到物种形成和大进化。他还提出了两个模型: (1) 新种源于由重要发育位点发生突变(发

育上的大突变)而产生的有希望的怪物(hopeful monsters),这些有希望的怪物产生新的物种、新的类群,完成生物的大进化;(2)染色体重排(chromosomal rearrangements)可以导致许多发育上的大突变,进而引起表型方面大的改变(Goldschmidt, 1940)。此外,高兹史密特还用遗传学的思想解释胚胎发育,从而创立了发育遗传学(developmental genetics)。

1.3 兴起阶段——进化、发育和遗传的综合

生物体既是在发育过程中自身基因相互作用以及基因与环境之间相互作用的产物,也是进化过程中突变与自然选择的产物。通常,发育生物学家希望通过研究性状与形态的变化过程及其间基因表达和功能的改变,来揭示生物体发育的基本规律;而进化生物学家的研究目的在于了解生物是如何进化的,以及如何改变自身性状与形态的。而生物体自身性状与形态改变的根源恰恰需要从控制个体性状与形态的发育机制中寻找(Goodman and Coughlin, 2000)。当科学家开始利用与个体发育相关基因的表达模式来解释一类生物是如何起源和分化的时候,实际上进化发育生物学的研究就已经开始了,进化生物学与发育生物学的结合也就是顺理成章的事了。

20世纪80年代,曾一度停滞的进化发育生物学随着homeobox基因的发现和研究而又活跃了起来,并实现了发育生物学与进化生物学在基因水平上的融合。*Hox*基因是在研究果蝇突变体(mutant)时发现的,是homeobox基因中最早被发现的一类,其在动物各大类群中普遍存在。*Hox*基因的发现是进化发育生物学发展史上的一个里程碑,它大大推动了进化发育生物学前进的步伐。在*Hox*基因发现之后,有大量源自不同生物分子序列数据得到收集和比较,这极大地促进了进化发育生物学的发展。

从20世纪50年代开始,刘易斯(Edward Lewis, 1918 - 2004年)等人对果蝇突变体进行了饱和筛选(saturation selection),发现了一批由单基因控制的形态变异的突变体。同时,他们在同源异型基因(homeotic genes)的发现及对其功能与结构的解释方面也作出了突

出的贡献。1983年,贾博(Richard Garber)、库若瓦(Atsushi Kuroiwa)、杰瑞(Walter Gehring)及斯科特(Michelle Pellissier Scott)等人首先从果蝇中发现了调节形态发生的homeobox基因(Garber et al., 1983; Scott et al., 1983)。1984年,研究人员通过对果蝇、青蛙和人体内的homeobox基因的研究,发现homeobox基因都包含约180 bp的高度保守的DNA序列(即homeobox)(McGinnis et al., 1984; Scott and Weiner, 1984)。这些研究反映了homeobox基因在系统发育中的普遍的保守性。此后的研究发现,在许多动植物基因组中都有homeobox基因的存在,这些homeobox基因形成了一个庞大的编码转录因子的基因家族——homeobox基因家族,该家族基因所编码的蛋白质拥有一个由60个氨基酸组成的DNA结合域,被称为homeobox结构域。

1999年,整合与比较生物学学会(The Society for Integrative and Comparative Biology, SICB)正式确定进化发育生物学成为一个独立的学科领域(Goodman and Coughlin, 2000)。

生物在时间上有两种改变:单个生物体的一生(个体发育)和生物谱系的进化历史(系统发育)。进化发育生物学的关键点在于其认为第一类改变可为第二类改变提供重要的启示。新性状的进化大多源于新的遗传突变的获得与固定(Irish, 2002)。此外,基因重复也可为新性状的产生提供可能。通过基因重复(gene duplication)产生的新的位点可能有不同的命运:(1)新功能化(neofunctionalization),即获得不同于祖先基因的新的功能(function-gain);(2)亚功能化(subfunctionalization),即与原有的祖先基因的功能部分冗余(partial redundancy);(3)假基因化(pseudogenization),即失去基因功能,成为假基因(pseudogenes)(Moore and Purugganan, 2005)。

对于生物体而言,发育调控基因(developmental regulatory genes)可能是形态进化过程中的关键起始点,理解发育调控基因的系统发育对理解动植物形态的进化十分有益。进化发育生物学的主要目的是对生物进化过程中的关键创新(key innovation)性状和相关发育调控

基因的进化进行研究, 了解进化过程中新性状产生的发育和遗传背景, 分析主要相关基因的进化与发育途径改变、表型进化之间的关系。

19世纪, 冯·贝尔和海克尔将进化生物学与胚胎发育研究联系了起来, 但纵观二者的发展历程(图1), 在大部分时间里, 还是沿着各自的发展路线独自前行的: 进化研究的发展, 从达尔文的进化论到进化生物学的诞生, 再到新达尔文主义、现代综合进化论的提出; 发育研究的发展, 从早期的描述胚胎学到实验胚胎学, 进而是发育生物学和发育遗传学的出现。这期间还穿插着两条辅线: 一是遗传学研究的发展, 遗传学的诞生, 特别是群体遗传学的出现, 给予进化研究极大的启示, 促进了综合进化论的提出, DNA双螺旋结构的发现引领人们进入了分子生物学时代, 随之产生了分子遗传学, 而遗传学的研究与分子水平上发育机制的认识, 又激起了发育遗传学的兴起; 二是比较胚胎学的发展, 异时性(heterochrony)和异位性(heterotopy)理论的提出开启了比较胚胎学研究的新发展, 进而诞生了比较进化系统发育胚胎学, 其被视为进化

发育生物学的源头之一。20世纪80年代, 随着动物中homeobox基因的发现和研究, 发育生物学与进化生物学在基因水平上得到了融合。随后, 短短十几年的时间里, 进化发育的相关研究得到了飞速发展。

2 植物进化发育生物学研究进展

植物进化发育生物学从动物进化发育研究中得到了许多启示, 借鉴了许多技术、方法和概念。然而, 由于动物和植物在发育过程、形态建成、营养方式、代谢途径等诸多方面存在着较大差异, 因此它们的多细胞化和结构复杂性的遗传发育机制也存在很大不同。近十几年来, 随着对模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)、水稻(*Oryza sativa*)等的研究不断深入, 人们发现了大量与花、叶、根等植物器官发育相关的基因, 并从结构、表达和功能等各个层面对这些基因进行了研究, 提出了一系列与植物关键性状发育相关的模型, 例如花发育的ABC模型(Coen and Meyerowitz, 1991; Weigel and Meyerowitz, 1994)。在模式植物中所取得的大量研究成果给植物进化发育生物学的发展提供了良好的研究基础; 而植物分子系统学(plant molecular phylogenetics)的兴起, 用基因序列的系统发育关系来阐释植物类群间的亲缘关系, 又为植物进化发育生物学提供了有关进化研究的思路和方法, 并使人们意识到对植物发育机制的进化研究可以由模式物种扩展到其它物种, 可对来自不同类群的同源发育相关基因进行进化分析, 探究发育基因与植物进化的内在联系, 将发育相关基因的进化与植物本身的进化相融合, 在遗传和发育的水平上解释进化问题。正是沿着这样的脉络, 植物进化发育生物学研究渐渐拉开了序幕。

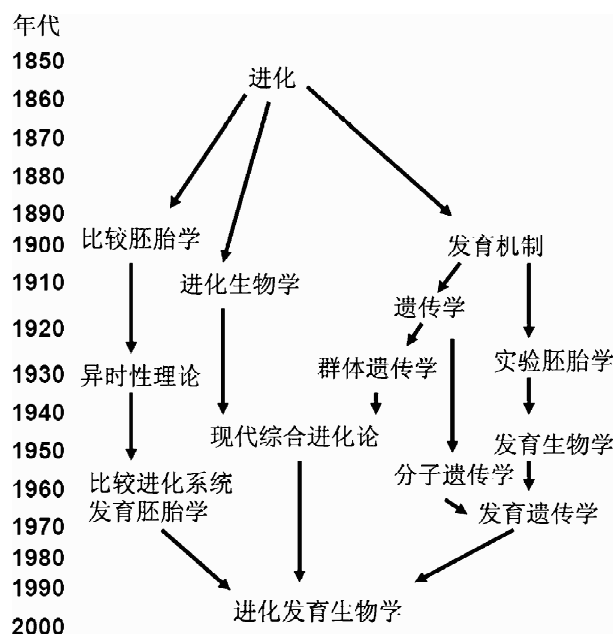


图1 进化发育生物学发展史

Figure 1 The developmental history of evolutionary developmental biology (Love and Raff, 2003)

2.1 ABCDE模型的提出及MADS-box基因的发现

20世纪90年代, 许多植物发育生物学家通过对拟南芥和金鱼草等模式植物突变体的研究, 发现了类似于动物中的同源异型转变现象, 其中典型的与花发育相关的突变体可以分为A、B、C三类。基于三类突变体的表

型, Coen等人提出了ABC模型(ABC model)(Coen and Meyerowitz, 1991; Weigel and Meyerowitz, 1994; Theissen, 2001): 在正常花器官发育的过程中, 相应地存在A、B、C三类花器官身份基因(floral organ identity genes), 分别执行A、B、C三种功能。A类基因控制萼片、花瓣的发育; B类基因控制花瓣、雄蕊的发育; C类基因控制雄蕊、心皮的发育。而A、C类基因互相拮抗, 抑制对方在自身所控制的区域中表达。在拟南芥中, A功能基因有 *APETALA 1(AP1)* 和 *APETALA 2(AP2)*(Mandel et al., 1992; Jofuku et al., 1994), B功能基因有 *APETALA 3(AP3)* 和 *PISTILLATA(PI)*(Jack et al., 1992; Goto and Meyerowitz, 1994), C功能基因有 *AGAMOUS(AG)*(Yanofsky et al., 1990)。在金鱼草中, 相应的花器官身份基因有 *SQUAMOSA(SQUA)*(Huijser et al., 1992); *DEFICIENS(DEF)*和 *GLOBOSA(GLO)*(Sommer et al., 1990; Tröbner et al., 1992); *PLENA(PLE)*和 *FARINELLI(FAR)*(Carpenter and Coen, 1990; Davies et al., 1999)。

在ABC模型提出后, 人们又在矮牵牛(*Petunia hybrida*)中发现了2个与胚珠(ovule)发育相关的基因: *FBP7(FLORAL BINDING PROTEIN7)*和 *FBP11*(Angenent et al., 1995; Colombo et al., 1995), 并将其命名为D类基因, 作为胚珠发育的主控基因(master control gene), 进而ABC模型扩展为ABCD模型(Comombo et al., 1995; Angenent and Colombo, 1996)。在拟南芥中该类基因为 *AGL11(AGAMOUS-LIKE11)*, 或者称为 *SEEDSTICK*(Rounsley et al., 1995; Pinyopich et al., 2003)。此外, 人们在研究拟南芥中 *AGL2*、*AGL4* 和 *AGL9* 这3个基因时发现, 它们除了在拟南芥花发育早期表达(Ma et al., 1991; Flanagan and Ma, 1994; Mandel and Yanofsky, 1998)之外, 还影响各轮花器官的发育, 因为这3个基因的三突变体中, 各轮花器官均转变为萼片, 说明它们在花瓣、雄蕊和心皮的特征决定中起作用, 而且这3个基因在功能上是冗余的(Pelaz et al., 2000)。后来这3个基因分别被重新命名为 *SEPALLATA1(SEP1)*、*SEP2*、*SEP3*, 并

被称为E类基因, 由此, ABCD模型扩展为ABCDE模型(Pelaz et al., 2000; Honma and Goto, 2001; Theissen, 2001; Theissen and Saedler, 2001)。最近的研究表明, *AGL3*基因(或者称为 *SEP4*)对萼片的特征决定有作用(Ditta et al., 2004), 这填补了E类基因在萼片特征决定中的空缺。

上述基因除了拟南芥中的 *AP2* 基因属于 *APETALA2/EREBP* 基因家族(Riechmann and Meyerowitz, 1998)外, 其它均属于MADS-box转录因子基因家族(Shore and Sharrocks, 1995; Theissen et al., 2000)。可见, MADS-box基因因其在植物花的形态建成过程中起着重要作用, 而成为了植物进化发育生物学的核心之一。

MADS的名称来源于 *MCM1(Minichromosome maintenance gene)*(来自于酵母)(Passmore et al., 1988; Herskowitz, 1989), *AG(AGAMOUS)*(来自于拟南芥)(Yanofsky et al., 1990), *DEF(DEFICIENS)*(来自于金鱼草)(Sommer et al., 1990; Schwarz-Sommer et al., 1992)和 *SRF(Serum response factor)*(来自于现代人)(Norman et al., 1988)4个最早鉴定的家族成员的第一个字母。这些基因的共同特点是: 都拥有一段约180 bp的高度保守的DNA序列(Shore and Sharrocks, 1995), 被称为MADS-box; 而其所编码的约60个氨基酸的蛋白质结构域被称为MADS结构域(MADS-domain 或 M-domain), 该结构域具有与靶基因上特异DNA序列相结合的功能(Theissen et al., 2000)。相应地, 具有MADS-box区域的基因统称为MADS-box基因(Schwarz-Sommer et al., 1990)。MADS-box基因在现存的植物、动物和真菌中都有发现, 它们所编码的蛋白质在植物、动物和真菌的生长发育中起着重要的调节作用(Shore and Sharrocks, 1995; Theissen and Saedler, 1995; Theissen et al., 1996, 2000; Riechmann and Meyerowitz, 1997)。系统发育分析表明真核生物的MADS-box基因可分为2个主要类型, I型(type I)和II型(type II)(图2)(Alvarez-Buylla et al., 2000)。其中II型MADS-box基因中的MIKC型基因(包括MADS-box、I、K-box和C末端4个保守程度不一的区域)为



图2 MADS-box 基因家族的进化

Figure 2 The evolution of MADS-box gene family (Becker and Theissen, 2003)

植物所特有。根据内含子与外显子的结构差异, MIKC型 MADS-box 基因又可以进一步划分为 MIKC^c型和 MIKC*型(Henschel et al., 2002)。MIKC^c型与 MIKC*型基因在结构上有明显的不同, MIKC*型基因编码蛋白质的I区比MIKC^c型基因编码蛋白质的I区多大约20个氨基酸, 而且相比之下 MIKC*型基因编码蛋白质的K-box结构域保守性要差些(Henschel et al., 2002; Riese, 2005)。

与植物发育相关的基因大多属于MADS-box基因家族, 而且多为 MIKC型基因。植物 MIKC型 MADS-box 基因在植物的花分生组织、花器官及各种营养器官中有不同的时空表达式样, 执行着不同的功能(Rounsley et al., 1995; Alvarez-Buylla et al., 2000), 其结构、表达和调控模式的改变与花的起源与进化密切相关, 因此在植物进化发育生物学研究中, MIKC型 MADS-box 基因备受关注。植物 MIKC型 MADS-box 基因还可以被进一步分为不同的基因亚家族(Becker and Theissen, 2003)。本文仅对 *SQUA/AP1*、*DEF/AP3*、*GLO/PI*、*GGM13*、*AG* 和 *SEP* 这几个主要的亚家族加以介绍。

2.2 植物大类群的进化发育生物学研究进展

植物进化发育生物学研究的核心目的在于从发育的角度探究植物类群的起源与进化, 所以了解已有的分类系统、植物大类群的系统发育关系及其相关的关键创新性状是十分必要的。图3所示为植物主要类群的划分情况及伴

随类群的分异所出现的关键创新。以下将按照植物各大类群的系统发育顺序对植物进化发育生物学研究进展进行综述, 其中以 MADS-box 基因的研究进展为主。

2.2.1 藻类

形态和分子的系统发育分析表明陆地植物为单系类群, 与现存的淡水轮藻(charophycean)互为姐妹群(Graham et al., 2000)。因此, 要研究陆地植物 MADS-box 基因的起源与进化, 淡水轮藻是最好的研究材料之一。已有研究者在3种淡水轮藻——球状轮藻(*Chara globularis*)、鞘毛藻(*Coleochaete scutata*)和带藻(*Closterium peracerosum-strigosum-littorale*)中均克隆到了 MADS-box 基因, 即球状轮藻的 *CgMADS1*、鞘毛藻的 *CsMADS1* 和带藻的 *CpMADS1*。

序列分析表明, 从3种轮藻中克隆得到的 MADS-box 基因都属于 MIKC^c型。由此可见, 轮藻类和陆地植物的共同祖先中已经拥有了 MIKC^c型 MADS-box 基因(Tanabe et al., 2005)。而且, 通过研究淡水轮藻中这些基因的表达式样, 研究者推测在陆地植物的祖先中, MADS-box 基因可能是单功能基因, 主要参与生殖细胞的分化(Tanabe et al., 2005)。

由于在轮藻类与陆地植物分开之后, 通过基因重复事件, MADS-box 基因在陆地植物中的拷贝数不断增加。因此, 对藻类中的 MADS-box 基因进行研究有助于阐明 MADS-box 基因家族的起源与进化(Tanabe et al., 2005)。

2.2.2 苔藓植物

在苔藓植物(bryophytes)中关于 MIKC型 MADS-box 基因的研究(Krogan and Ashton, 2000; Henschel et al., 2002; Hohe et al., 2002)多集中在模式植物剑叶藓(*Physcomitrella patens*)中。到目前为止, 已经从剑叶藓中分离到9个 MADS-box 基因: *PPM1-PPM4* (Henschel et al., 2002)、*PPM6*(Riese, 2005)、*PPM7*(Riese, 2005)和 *PpMADS1-PpMADS3* (Henschel et al., 2002)。系统发育重建和序列结构比较揭示出 *PPM1*、*PPM2* 和 *PpMADS1* 基因属于 MIKC^c

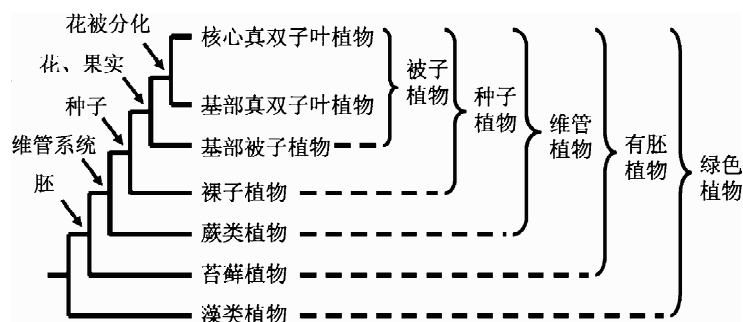


图3 植物主要类群的划分与关键创新性状的出现

Figure 3 The major clades of plants and the appearance of the key innovations

型; *PPM3*、*PPM4*、*PPM6*、*PPM7*、*PpMADS2* 和 *PpMADS3* 基因属于 MIKC* 型。其中, 两个 MIKC* 型基因 *PPM6* 和 *PPM7* 编码的蛋白质具有较长的 I 区和保守性稍差的 K-box。

MIKC^c 型和 MIKC* 型基因在种子植物、蕨类植物和苔藓植物中都存在, 这说明这两类基因的分化事件可能发生在苔藓植物和维管植物分化之前(Purugganan, 1997; Tanabe et al., 2005)。MIKC* 型基因趋向于形成一个单系, 其中包含几个未知功能的基因亚支(Kofuji et al., 2003)。系统发育重建表明苔藓植物和维管植物的最近共同祖先(last common ancestor)中可能仅有一个 MIKC* 型基因的拷贝(Kofuji et al., 2003; Pauenicov et al., 2003)。

2.2.3 蕨类植物

蕨类植物的进化发育研究主要集中在水蕨属(*Ceratopteris*)的水蕨(*C. richardii*) (Chasan, 1992)上。目前已从水蕨中克隆得到超过15个 MADS-box 基因(Münster et al., 1997; di Rosa, 1998*; Hasebe et al., 1998; Kofuji et al., 2003)。人们通过序列比较分析, 将这些基因都归为 MIKC 型 MADS-box 基因(Weigel and Meyerowitz, 1994)。水蕨中的 MADS-box 基因又可被

进一步分为3类: *CRM1*-like、*CRM3*-like 和 *CRM6*-like 基因。其中 *CRM6*-like 基因编码的蛋白质还含有附加的 N 末端氨基酸序列, 与有花植物中 *AGAMOUS* 基因亚家族中的一些基因相似。这一结构上的相似性暗示出蕨类植物与有花植物之间具有潜在的亲缘关系(Hasebe et al., 1998)。研究人员还从与水蕨亲缘关系较远的原始蕨类植物尖头瓶儿小草(*Ophioglossum pedunculatum*)中克隆到 *OPM1*、*OPM3*、*OPM4* 和 *OPM5* 四个 MADS-box 基因, 其中 *OPM1* 和 *OPM5* 可能是 *CRM6*-like 或 *CRM7*-like 基因(Münster et al., 1997)。

蕨类植物中 MADS-box 基因的主要功能可能是调控生物体的发育与细胞分化。它们在配子体和孢子体中都有表达, 比种子植物中的 MADS-box 基因有更广泛的功能和时空表达范围。人们还发现水蕨中的 4 个 MADS-box 基因(*CRM1*、*CRM4*、*CRM6* 和 *CRM9*) 在转录过程中存在选择性剪接(alternative splicing)现象(Olson et al., 1995; Theissen et al., 1996)。此外, 除 *CRM11*、*CRM12* 和 *CMADS5* 基因由于读码框内存在终止密码子或核苷酸的插入或缺失而不能编码完整的 MIKC 型蛋白质外, 大多数蕨类植物中的 MADS-box 基因都能编码(N)MIKC 型蛋白质(Hasebe et al., 1998)。

* di Rosa A (1998). Molekularbiologische untersuchungen zum ursprung homöotischer gene in pflanzen am beispiel der MADS-box-genfamilie aus dem farn *Ceratopteris richardii*. PhD thesis. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität zu Köln, Germany. pp. 1-87.

除MADS-box基因外,人们在水蕨中还发现了11个HD-Zip基因: *Crhb1*-*Crhb11*, 该类基因属于homeobox基因家族, 以前仅在被子植物中有报道, 其可能参与花的发育及其它一些生理过程(Aso, 1999)。系统发育分析显示这11个*Crhb*基因分属于HD-Zip亚家族中的HD-Zip I、II和IV类, 其中*Crhb4*、*Crhb8*和*Crhb11*属于HD-Zip I基因, 但是它们与被子植物中的HD-Zip I基因存在差异。此外, *Crhb1*和*Crhb3*基因只在配子体中表达, *Crhb1*参与配子体的性别决定; 除*Crhb1*、*Crhb2*、*Crhb3*和*Crhb11*基因外, 其它的*Crhb*基因在孢子体和配子体中都有表达。在蕨类植物中, 虽然配子体世代和孢子体世代中植物在形态上有很大的不同, 但HD-Zip基因在配子体和孢子体中的表达式样却十分相似。因此, 研究HD-Zip基因在配子体和孢子体发育过程中的调控作用的差异, 对于理解植物世代交替的进化历史有重大意义。

2.2.4 裸子植物

现存的裸子植物主要有4类: 苏铁类(cycads)、银杏类(ginkgooids)、松柏类(conifers)和买麻藤类(gnetophytes)。其中有关植物进化发育生物学的研究主要集中在松柏类和买麻藤类上, 而在苏铁类和银杏类中也有少量研究。人们从挪威杉(*Picea abies*)、黑杉(*P. mariana*)和松属(*Pinus*)的蒙特尔松(*P. radiata*)和美加红松(*P. resinosa*)中克隆到一些MADS-box基因, 并进行了系统发育分析, 发现它们主要归为以下几类基因: AG-、AGL2-、AGL6-、DEF/GLO- 和 TM3-like 基因。研究还显示这些 MADS-box 基因在大、小孢子叶球中都有表达, 其中一些基因还在营养器官中表达, 如蒙特尔松的AGL6-like基因*PrMADS3*在松针原基中有表达(Mouradov et al., 1998); 挪威杉的 TM3-like 基因 *DAL3*在营养枝条中有表达, AGL6-like基因*DAL1*在一年生的枝条中有表达(Tandre et al., 1998)。此外, 原位杂交结果表明蒙特尔松的AGL6-like基因*PrMADS2/3*和AGL2-like基因*PrMADS1*在形成珠鳞和小孢子叶的原基中有表达(Mouradov et al., 1998); 挪威杉的AG-like 基因 *DAL2*在珠鳞中有表达; 黑杉的 AG-like 基因

*SAG1*在雌球花中有表达, 在雄球花中仅在绒毡层组织中有极低的表达。这些研究表明松柏类植物中的AG-、AGL2- 和 AGL6-like 基因与生殖结构的形成有关。

买麻藤类植物有许多与被子植物相似的解剖学特征, 该类群植物一直被认为是被子植物的近亲。然而, 基于分子序列的系统发育分析却表明该类群植物与现存的松柏类植物的关系比与被子植物的近(Winter et al., 1999)。人们在显轴买麻藤(*Gnetum gnemon*)中克隆到了13个MADS-box基因: GGM1-13。其中GGM1属于TM3-like基因亚家族, 在大、小孢子叶球和叶中表达; GGM2与DEF/GLO-like基因很相似, 只在小孢子叶球表达; GGM3是AG-like基因, 在大、小孢子叶球中均有表达, 而在叶中不表达; GGM9和GGM11属于AGL6-like基因。GGM2基因编码蛋白质的C末端有一个保守的paleoAP3基序(motif), 该基序主要存在于基部被子植物和基部真双子叶植物中的paleoAP3基因谱系与核心真双子叶植物中的TM6基因谱系所编码蛋白的C末端区域内(paleoAP3和TM6谱系是DEF/GLO基因亚家族的两个分支), 这一发现支持了GGM2基因与DEF/GLO-like基因亲缘关系较近的说法, 但是GGM2基因的外显子、内含子结构比被子植物的DEF/GLO-like基因结构要原始些。

研究人员在银杏(*Ginkgo biloba*)中克隆到了拟南芥AGAMOUS基因的直系同源基因GBM5(Jager et al., 2003)。研究表明GBM5基因在雄株和雌株器官发育的早期表达, 而在雌株的雌配子体中则一直表达, 这一表达式样在松柏类植物中也有发现, 如挪威杉中的*DAL2*基因和黑杉中的*SAG1*基因(Jager et al., 2003)。

LEAFY(LFY)基因主要控制花分生组织的形成, 其属于花分生组织身份基因(floral meristem identity gene), 对花器官身份基因有调节作用。蒙特尔松中有2个LFY同源基因: NLY和PRFLL, 其中NLY基因在营养生长期表达, PRFLL基因在小孢子叶球中表达(Mellerowicz et al., 1998)。Frohlich和Parker(2000)研究发现LFY基因在裸子植物中有2个拷贝, 而在被子植物中仅有1个拷贝, 通过深入研究, 他们提出花组成的发育控制主要源于裸子植物祖先中雄性生殖结构的系统

活动,而含有胚珠的雌性生殖结构在最初的花中的异位发生是次要的,即有名的主雄性理论(the mostly male theory)。

据估计在3亿年前裸子植物和被子植物的最近共同祖先中,至少有7类不同的MADS-box基因,分别是AG-、AGL2-、AGL6-、DEF/GLO-、GGM13-、STMADS11-和TM3-like基因,这些基因可能与生殖器官的发育有关。研究表明在裸子植物中有DEF/AP3和GLO/PI类基因的存在,说明这两类基因的祖先基因至少存在于3亿年前,即在裸子植物与被子植物未分化前就存在B类基因了(Winter et al., 2002a)。而由B类基因在裸子植物和被子植物的雄性生殖器官(小孢子叶和雄蕊)中表达,可推断B类基因在所有种子植物中都有原始的性别分化功能,可区分雌雄生殖器官(雄性生殖器官中B类基因表达,雌性生殖器官中B类基因不表达),而雌雄生殖器官在同一生长轴上产生正是花起源中的重大事件之一(Albert et al., 1998; Winter et al., 1999, 2002a; Theissen et al., 2002)。随着被子植物的进化,DEF/AP3和GLO/PI基因亚家族逐步建立起来,并获得确定花瓣特征的功能(Winter et al., 2002b)。此外,在主要的种子植物类群中都发现了AG-like基因,但在非种子植物中却尚未发现,所以AG亚家族可能在3-4亿年前种子植物出现时就已经建立了(Theissen et al., 2000)。裸子植物中的AG-like基因在雌雄生殖器官中都有表达,可见这是该类基因的原始表达状态(Tandre et al., 1995, 1998; Rutledge et al., 1998; Winter et al., 1999),所以其原始功能可能在于确定生殖器官(雄性和雌性)的特征并将其与非生殖器官区分开来(Haughn and Somerville, 1988; Winter et al., 1999)。人们还在裸子植物中发现了SEP类基因(Mouradov et al., 1998),这说明此类基因在被子植物和裸子植物的最近共同祖先中已经存在了,距今约3亿年(Becker and Theissen, 2003)。

2.2.5 被子植物

近年来,基于DNA序列证据的系统发育分析表明,被子植物分为基部被子植物(basal angiosperms, 具单萌发

孔及其衍生类型花粉)和真双子叶植物(eudicots, 具有三萌发孔及其衍生类型花粉)两大类(Soltis and Soltis, 2004)。真双子叶植物(eudicots), 又分为基部真双子叶植物(basal eudicots)和核心真双子叶植物(core eudicots)。

花是被子植物的关键创新性状。纵观历史,美丽而复杂的花从来就是科学家们关注的焦点。德国博物学家歌德(Johann Wolfgang Goethe, 1749-1832年)1790年就提出花器官是变态的叶,著名的进化生物学家达尔文将花的演化问题称为“讨厌之谜”(the abominable mystery)。由于花发育相关基因的进化与表达式样的变化对花部形态建成有重要影响,对花多样性分化有促进作用,因此控制花发育的基因就成了植物进化发育生物学的研究重点(Kramer and Hall, 2005)。由于与花发育相关的基因大多属于MADS-box基因家族,所以在被子植物中人们将大多数精力投入到对MADS-box基因家族的研究上。

2.2.5.1 基部被子植物 基部被子植物(basal angiosperms)包括最基部的ANITA类群、木兰类双子叶植物(magnoliid dicots)、金粟兰科(Chloranthaceae)、单子叶植物(monocots)和金鱼藻目(Ceratophyllales) (Qiu et al., 1999; Soltis et al., 1999, 2000; Zanis et al., 2002; APG, 2003; Soltis and Soltis, 2004)。ANITA类群由无油樟科(Amborellaceae)、睡莲目(Nymphaeales) (睡莲科(Nymphaeaceae)和莼菜科(Cabombaceae))、八角目(Illiciiales) (八角科(Illiciaceae)和五味子科(Schisandraceae))、早落瓣科(Trimeniaceae)、木兰藤科(Austrobaileyaceae)构成(Qiu et al., 1999)。

a. ANITA类群和木兰类双子叶植物 Kramer等(1998)从木兰科(Magnoliaceae)的含笑(*Michelia figo*)和北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera*)及胡椒科(Piperaceae)的*Peperomia hirta*和*Piper magnificum*中克隆到了AP3、PI的同源基因(Kramer et al., 1998)。经过对核心真双子叶植物、基部真双子叶植

物和基部被子植物一些物种中B类基因序列的比较与系统发育分析,发现基部真双子叶植物与基部被子植物中的AP3同源基因及核心真双子叶植物中的TM6同源基因所编码蛋白质的C末端具有PI-derived基序和paleoAP3基序,而相应的核心真双子叶植物中的AP3同源基因所编码蛋白质的C末端却具有PI-derived基序和euAP3基序,进一步分析显示euAP3基序是AP3类基因在核心真双子叶植物基部发生了一次基因重复事件之后产生的,其主要存在于重复后产生的euAP3这一支中(Kramer et al., 1998)。而另一类B类基因PI在产生后未发生大尺度的基因重复事件,相应的同源基因所编码蛋白质的C末端都具有类似的PI基序(Kramer et al., 1998)。

Kim等(2004)基于无油樟属(*Amborella*)、萍蓬草属(*Nuphar*)、八角属(*Illicium*)这几类最基部的被子植物中的25条新的AP3、PI的代表序列构建了最早的现存被子植物中的B功能基因的系统发育树,并发现无油樟属、睡莲科植物中的PI同源基因的第5个外显子(exon 5)的长度为42 bp,与其它被子植物中的典型状态相同,同时也发现在许多最基部类群的分支中的PI同源基因在外显子5的区域有缺失,继而长度缩减为30 bp。此外,他们还发现无油樟*A. trichopoda*中的AP3、PI同源基因编码蛋白中都包含一段保守基序DEAER,并推断原始的基序在由基因重复产生AP3、PI谱系之前就已经存在了,只是在无油樟属分化后经历了修饰过程。同时发现,无油樟中相应基因编码的蛋白质具有含多聚信号的C末端,可见其有形成转录因子复合物的潜能。

Stellari等(2004)从ANITA类群和木兰类双子叶植物中确定和分析了29个B类基因的新代表,并报道在木兰目(Magnoliales)林仙科(Winteraceae)的*Drimys*属植物中发现了B₅基因的同源基因*DrwBs*。此外,他们对PI同源基因的结构分析显示:在木兰藤目分化之前,睡莲目分离出来之后,ANITA类群中的PI基因谱系在外显子5(exon 5)的区域内产生了12个核苷酸的缺失这一共有衍征。此发现与Kim等(2004)的研究结果相吻合。

Kim等(2005)对无油樟属、睡莲属、八角属及木兰属和泡泡树属(*Asimina*) (木兰类植物的代表)的研究结

果表明: MADS-box基因在这些植物中的表达式样比在单子叶植物和真双子叶植物中要广泛和多样,即AP1同源基因在花器官和叶中都普遍表达; AP3/PI同源基因在所有花器官中普遍表达; AG同源基因大多在雄蕊和心皮中表达,但也在八角属植物的花被片中表达。

Jaramillo和Kramer(2004)对马兜铃科(*Aristolochiaceae*) (木兰类植物)的马蹄香属(*Saruma*) (花被片分化为两轮)和马兜铃属(*Aristolochia*) (花被片未分化,仅有一轮)进行研究,在马蹄香中克隆得到*SrhAP3*和*SrhPI*两个B类基因,在马兜铃中克隆得到*ArmAP3-1*、*ArmAP3-2*、*ArmPI-1*和*ArmPI-2*四个B类基因。对这些基因的表达式样研究发现: *SrhAP3*和*SrhPI*基因在花瓣和萼片中的表达与拟南芥中AP3和PI基因的表达相似。

b. 金粟兰科植物 Li等(2005)对金粟兰科植物(无花被的基部被子植物)中的MADS-box基因进行了较为全面的研究。通过基因克隆,在金粟兰(*Chloranthus spicatus*)中分别得到AP1类基因*CsAP1*, AP3类基因*CsAP3*和SEP3类基因*CsSEP3*。表达式样研究结果显示: *CsAP1*在花和花序中广泛表达,体现了SQUA类基因的原始功能在于确定花序和花分生组织的发育而非花器官的式样; *CsAP3*在雄性花器官中专一表达,显示了AP3类基因在区分雄性和雌性生殖器官过程中的原始功能; *CsSEP3*在分生组织中不表达,但其mRNA在花发育过程中有所积累,这支持了SEP类基因的功能和表达式样在整个被子植物中相对保守的观点。目前的证据表明,虽然金粟兰的花被缺失,但相应的基因还是保存着一些原始的功能。

c. 单子叶植物 由于单子叶植物的花、果实和种子具有重要的经济价值,且花序和花的结构多样,所以该类群植物一直受到科研人员的极大关注。许多单子叶植物MADS-box基因都被列入了人们研究的范围,如玉米(*Zea mays*)、水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、高粱(*Sorghum bicolor*)、百合(*Lilium regale*)、郁金香(*Tulipa gesneriana*)、芦笋(*Asparagus officinalis*)和某些兰科(*Orchidaceae*)植物

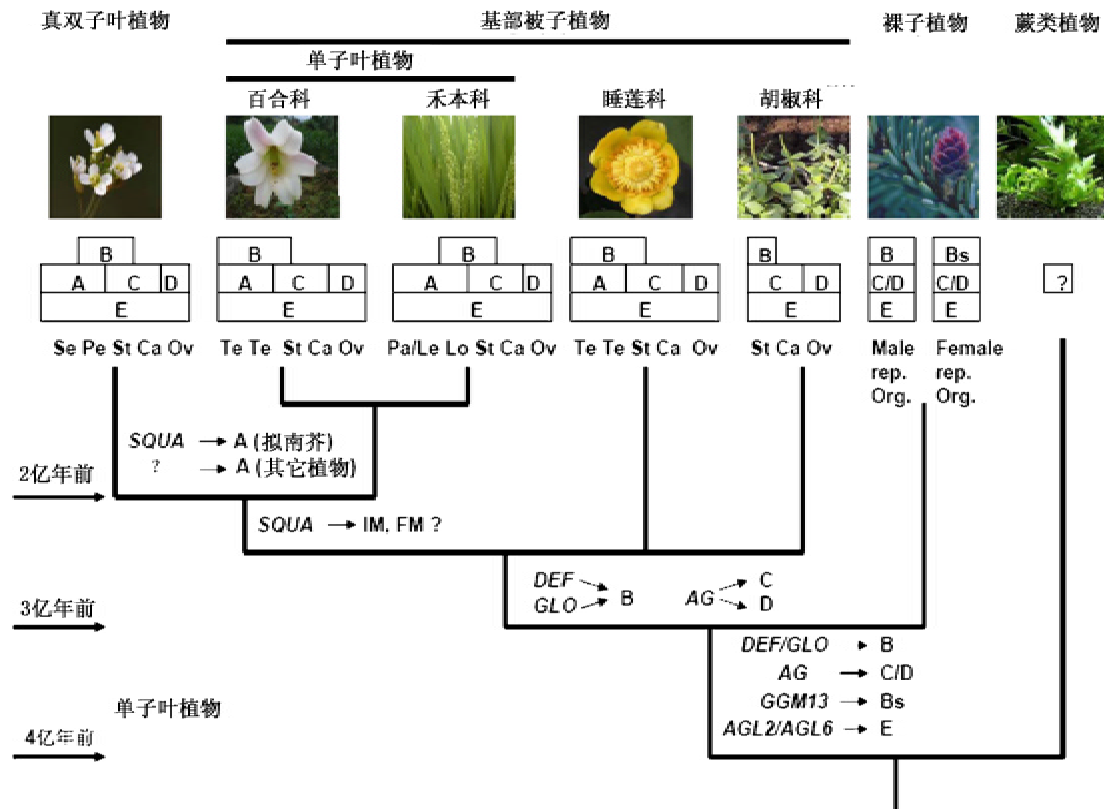


图4 维管植物中扩展的ABCDE模型

SQUA、*DEF*、*GLO*、*GGM13*、*AG*、*AGL2*和*AGL6*分别代表 *SQUA*-like、*DEF*-like、*GLO*-like、*GGM13*-like、*AG*-like、*AGL2*-like和*AGL6*-like MADS-box 基因亚家族。基因亚家族与其对应的同源异型功能间用箭头表示；*DEF/GLO*表示 *DEF*-和*GLO*-like的祖先基因，*AGL2/AGL6*表示 *AGL2*-和*AGL6*-like的祖先基因；A、B、Bs、C、D和E表示花同源异型的不同功能；C/D表示C和D花同源异型功能的祖先功能；IM表示确定花序分生组织发育的功能；FM表示确定花分生组织发育的功能
Se: 萼片; Pe: 花瓣; St: 雄蕊; Ca: 心皮; Ov: 胚珠; Pa: 内稃; Le: 外稃; Lo: 浆片; Male rep. Org.: 雄性生殖器官; Female rep. Org.: 雌性生殖器官

Figure 4 The extended ABCDE model in the vascular plants (Theissen et al., 2000, 2002)

SQUA, *DEF*, *GLO*, *GGM13*, *AG*, *AGL2*, *AGL6* mean the MADS-box gene subfamilies of *SQUA*-, *DEF*-, *GLO*-, *GGM13*-, *AG*-, *AGL2*- and *AGL6*-like genes. The relationships between representatives of these gene subfamilies and homeotic functions are symbolized by arrows. *DEF/GLO*, a precursor of both *DEF*- and *GLO*-like genes, *AGL2/AGL6*, a precursor of both *AGL2*- and *AGL6*-like genes. A, B, Bs, C, D and E, the floral homeotic functions; C/D, a precursor of floral homeotic functions C and D; FM, function in the specification of floral meristems; IM, function in the specification of inflorescence meristems
Se: sepal; Pe: petal; St: stamen; Ca: carpel; Ov: ovule; Pa: palea; Le: lemma; Lo: lodicule; Male rep. Org.: male reproductive organs; Female rep. Org.: female reproductive organs.

(Schmidt et al., 1993; Chung et al., 1994, 1995; Fischer et al., 1995; Theissen et al., 1995; Mena et al., 1995, 1996; Greco et al., 1997; Cacharrón et al., 1995, 1999; Kang et al., 1995, 1997, 1998; Kang and

An, 1997)。
尽管第一个关于单子叶植物MADS-box基因的研究结果来自于兰科(Lu et al., 1993), 但是人们目前的研究重心却在玉米和水稻上。这两个物种不仅是世界上绝

大多数地区的主要粮食作物, 也很适合作为分子生物学和遗传学研究的模式植物。相对而言, 目前对高粱 (Greco et al., 1997) 和小麦 (Murai et al., 1997) 的研究则较少。

人们在玉米中克隆到了拟南芥AG基因的同源基因 *ZAG1/ZMM2* 和 *ZAG2/ZMM1* (Theissen et al., 1995)。序列分析和染色体位置分析表明, *ZAG1/ZMM2* 和 *ZAG2/ZMM1* 是由近期的基因重复事件产生的, 它们是两对旁系同源基因, 即 *ZAG1* 和 *ZMM2* 是旁系同源关系, *ZAG2* 和 *ZMM1* 是旁系同源关系 (Theissen et al., 1995)。 *ZAG1* 在雌蕊原基和雄蕊原基中表达, *ZMM2* 与 *ZAG1* 的序列相似性很高, 它们是 *AGL1* 型基因 (Ma et al., 1991), 表达式样研究表明 *ZAG1* 对于心皮的发育更为重要, 而 *ZMM2* 对于雄蕊的发育更重要 (Theissen et al., 1995)。 *ZAG1* 和 *ZMM2* 是 AG 的直系同源基因 (Theissen et al., 1995)。从玉米中还得到了 *AGL6* 的直系同源基因 *ZAG3* 和 *ZAG* 及 *AP1* 的同源基因 *ZAP15* (Mena et al., 1996)。此外, 还克隆到了 *AP3* 同源基因 *SILKY1*, 其在雄蕊和浆片的原基上表达 (Schmidt and Ambrose, 1998)。目前在玉米中, 已经有超过 30 个 MADS-box 基因被克隆, 它们分属于一些不同的基因亚家族 (Schmidt et al., 1993; Fischer et al., 1995; Theissen et al., 1995; Cacharrón et al., 1995, 1999; Greco et al., 1997)。

在水稻中得到了拟南芥 *AGL2* 的同源基因 *OSMADS24*、*AGL4* 的同源基因 *OSMADS45* (Greco et al., 1997) 和 *GLO-like* 基因 *OMADS4* (Kang et al., 1998) 等一系列 MADS-box 基因。

百合科植物的花常常具有大而简单的结构, 由两轮、每轮 3 片花瓣状器官组成艳丽的花被, 这与禾本科植物的花有非常大的不同。这样的花结构似乎可以很简单地用标准的 ABCDE 模型来解释, 只是 B 功能表达的范围扩大到了第一轮。但事实可能并非这么简单, 进一步的研究还在继续。

2.2.5.2 真双子叶植物 被子植物近 30 万种, 真双子叶植物几乎占了其中的四分之三 (Drinnan et al., 1994)。

基部真双子叶植物包括的类群主要有: 广义毛茛目 (Ranunculales)、山龙眼目 (Proteales)、清风藤科 (Sabiaceae)、黄杨科 (Buxaceae) 和昆栏树科 (Trochodendraceae)。其中毛茛目包括: 毛茛科 (Ranunculaceae)、小檗科 (Berberidaceae)、防己科 (Menispermaceae)、星叶草科 (Circaeasteraceae)、木通科 (Lardizabalaceae)、罂粟科 (Papaveraceae) 和领春木科 (Eupteleaceae); 山龙眼目则包括: 山龙眼科 (Proteaceae)、悬铃木科 (Platanaceae) 和莲科 (Nelumbonaceae)。

核心真双子叶植物中包括了有花植物 (flowering plants) 的许多主要类群, 其中包括种类最多的两类是菊类 (asterids) 和蔷薇类 (rosids), 菊类中研究比较多的是唇形目 (Lamiales) 玄参科 (Scrophulariaceae) 的金鱼草 (*Antirrhinum majus*), 茄目 (Solanales) 茄科 (Solanaceae) 的矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 和烟草 (*Nicotiana tabacum*), 菊目 (Asterales) 菊科的非洲菊 (*Gerbera hybrida*); 蔷薇类中研究比较多的是十字花科 (Brassicaceae) 的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、白芥 (*Sinapis alba*)、甘蓝 (*Brassica oleracea*) 和油菜 (*Brassica napus*), 豆科 (Leguminosae) 的紫花苜蓿 (*Medicago sativa*)、豌豆 (*Pisum sativum*)。此外, 石竹亚纲 (Caryophyllidae) 石竹科 (Caryophyllaceae) 的宽叶蝇子草 (*Silene latifolia*) 和香石竹 (*Dianthus caryophyllus*), 蓼科 (Polygonaceae) 的酸模 (*Rumex acetosa*) 也在进化发育研究中有所涉及。现存的蔷薇类和菊类大约是在 0.7 亿年前分开的 (Becker and Theissen, 2003)。

被子植物的花呈现出不同程度的形态多样性, 而基部真双子叶植物将花的多样性体现得淋漓尽致, 核心真双子叶植物又将花的典型结构与特征展现得尽善尽美。花被片分化为萼片和花瓣, 心皮完全闭合、器官轮状排列等性状似乎是在被子植物进化后期产生的, 因此这些性状出现在绝大多数核心真双子叶植物中。

花发育的 ABCDE 模型 (图 4) 是在核心真双子叶植物的模式物种中建立起来的, 但在各个大类群中的保守性

有很大差异。相对而言,BCD 系统在整个被子植物层面上适用性较好(Theissen et al., 2000),而 A、E 类功能则多局限于真双子叶植物,甚至是核心真双子叶植物中。基部真双子叶植物的 B 功能也较核心真双子叶植物的有较多的变化。

MADS-box 基因的数目在有花植物的进化过程中大量增加,这一点在真双子叶植物中尤为突出。MADS-box 基因家族主要的几个基因亚家族有: *SQUA/AP1* (A-class)、*DEF/AP3* (B-class)、*GLO/PI* (B-class)、*GGM13* (B_s-class)、*AG* (C/D-class) 和 *SEP* (E-class) 亚家族。

a. 基部真双子叶植物 基部真双子叶植物的花部形态十分复杂多样,仅毛茛科(Ranunculaceae)植物的花被就有诸多类型。有些属,如毛茛属(*Ranunculus*)的花具有两轮花被片,绿色的花萼和色彩艳丽花冠,类似于核心真双子叶植物的花;有的两轮花被片都呈花瓣状,如耧斗菜属(*Aquilegia*);有的仅有一轮花瓣状的萼片,如白头翁属(*Pulsatilla*);有的在同一属中存在着两种类型的花被,如铁线莲属(*Clematis*)。由于花器官身份基因决定花器官的特征,因而对基部真双子叶植物的此类基因进行研究将会有助于揭示花部特征多样化的机制,这反过来也能够促进人们对花器官身份基因进化历史的深入了解。然而遗憾的是,目前对此类基因的研究多集中在核心真双子叶植物中,尤其是模式植物拟南芥中。人们对基部真双子叶植物的关注则相对较少。

a1. ***SQUA/AP1* 亚家族** 人们从木兰类、单子叶植物、基部真双子叶植物和许多核心真双子叶植物中都分离得到了 *SQUA/AP1* 类基因。Litt 和 Irish(2003)基于前人积累的数据和从 19 个物种中得到的基因,对 *SQUA/AP1* 亚家族(作者称其为 *AP1/FUL* 基因亚家族)的基因进行了系统发育分析,推测出在核心真双子叶植物基部发生的一次重复事件产生了 euAP1 和 euFUL 两个谱系,其中 euFUL 谱系与非核心真双子叶植物中的 *FUL-like* 谱系更接近,euAP1 谱系是核心真双子叶植物所特有的,其所编码的蛋白质 C 末端具有 euAP1 基序,

euFUL 和 FUL-like 蛋白则具有 paleoAP1 基序。在基部真双子叶植物中对此亚家族基因表达式样和功能方面的研究至今还未见报道。

a2. ***DEF/AP3* 亚家族和 *GLO/PI* 亚家族** ABC 模型(Coen and Meyerowitz, 1991)是基于核心真双子叶植物中的拟南芥和金鱼草的研究结果而建立的。然而,这一模式程序的保守性范围为人们所质疑,尤其是在多样化程度很高的花被器官的起源方面。在一些基部真双子叶植物中,B 类基因并不统一或恒定地在花瓣中表达,这可能符合花瓣的多次起源假说(Friedman et al., 2004)。

Kramer 等(2003)对毛茛科的 9 个属的 *AP3* 类基因和 *PI* 类基因的进化进行了研究,以小檗科、木通科中各一个同属基因作为外类群,进行了系统发育分析。结果表明:在毛茛科分化以前 *AP3* 基因谱系中就已经发生过两次基因重复事件,从而在毛茛科植物中产生了 3 个 *AP3* 谱系,分别为: *AP3-I*、*AP3-II* 和 *AP3-III*。而在 *PI* 谱系中的基因重复事件发生的时间都较近,多在属以内(Kramer et al., 2003)。

耧斗菜属的高山耧斗菜(*A. alpina*)具有花瓣以及花瓣状的萼片,而栽培种 *A. clematiflora* 的第二轮花器官变成了花瓣状的萼片:无距也无蜜腺,并且和第一轮花瓣状的萼片有着同样的形状和大小。RT-PCR 研究表明(Kramer et al., 2003),高山耧斗菜的两轮花被存在 3 个 *AP3* 同源基因和 1 个 *PI* 同源基因,这意味着 B 类基因的表达扩展到了花瓣状的萼片中;而 *A. clematiflora* 中则没有发现 *AP3-III* 同源基因在花被中表达,这说明该基因对其花瓣状花萼的形成并不是必需的。全缘铁线莲 *C. integrifolia* 的花被仅由 1 轮花瓣状的萼片组成,其不表达 *AP3-III* 同源基因,而 *C. chiisanensis* 却兼有花瓣和花瓣状的萼片,同时有 *AP3-III* 同源基因的表达。从以上结果可以推测出 *AP3-III* 同源基因可能参与区分第一轮花瓣状的萼片和第二轮形态上不同的花瓣。基因重复事件使得 B 类基因的数量和种类增加,并出现功能分化,这或许促进了毛茛科植物花被器官的多样化。

Shan 等(2006)在对木通科(Lardizabalaceae)三叶木通(*Akebia trifoliata*)的研究中,克隆到了 3 个 *AP3* 同

源基因 *AktAP3-1*、*AktAP3-2*、*AktAP3-3* 和 1 个 *PI* 同源基因 *AktPI*。系统发育分析显示, 3 个 *AktAP3* 基因是通过两次基因重复产生的, 其中 *AktAP3-2* 和 *AktAP3-3* 是通过木通属 *Akebia* 起源前发生的一次基因重复事件而产生的 2 个旁系同源基因。原位杂交结果显示, 这些基因主要在三叶木通的雄蕊和心皮中表达, *AktAP3-3* 和 *AktPI* 基因在发育的花瓣状花被片中表达, 可见花被片的花瓣状结构可能是 B 类基因表达的结果。RT-PCR 分析发现这些基因在三叶木通的雄花和雌花中都有表达, 只是表达水平不同。酵母双杂交结果显示, *AktAP3-1/2/3* 都可与 *AktPI* 蛋白形成专一的异源二聚体, 只是结合强度有所差异。由 *AktAP3* 基因的 3 个重复拷贝的 mRNA 表达和蛋白质相互作用分析结果, 推断亚功能化对三叶木通中的多个 AP3-like 基因拷贝的保留作出了突出贡献。

上述结果表明, ABC 模型虽然在核心真双子叶植物中较通用, 但对基部被子植物和基部真双子叶植物并不完全适用。

a3. **AG 亚家族** Zahn 等(2006)从加州罂粟(*Eschscholzia californica*)中分离出 3 个 AG 同源基因: *EScaAG1*、*EScaAG2* 和 *EScaAGL11*, 将其加入现有的 AG 基因谱系中, 构建了系统发育树。结果表明: AG 亚家族基因可以归入 AG 和 AGL11 两大谱系, 每个谱系都包括来自核心真双子叶植物, 基部真双子叶植物和基部被子植物的同源基因。*EScaAG1* 和 *EScaAG2* 属于 AG 谱系, *EScaAGL11* 则属于 AGL11 谱系。由于 MADS-box 基因的表达式样常常与其所具有的功能有很强的相关性, Zahn 等(2006)通过原位杂交对 *EScaAG1* 和 *EScaAG2* 的表达式样进行了分析, 并与其它真双子叶植物中已知的 AG 同源基因的表达式样进行了对比, 试图弄清 AG 亚家族基因功能的进化能否用祖先基因的重复事件及随后的功能改变来解释。结果显示: *EScaAG1* 和 *EScaAG2* 与 AG 基因可能在调控分生组织和花器官的特征上有着相似的作用, 只是比 AG 更早在花发育过程中起作用。

a4. **SEP 亚家族** 对基部真双子叶植物中的 SEP 类基因研究很少, Zahn 等(2005)对加州罂粟的 *EScaAGL9* 进行了原位杂交分析, 在花萼原基开始形成之后, *EScaAGL9* 在后来发育为内部三轮花器官的位置表达, 一直维持到花发育完成; 在胚珠原基开始形成的阶段, *EScaAGL9* 在花萼的上部区域有较低水平的表达, 在发育的花瓣和雄蕊中的表达水平比在心皮和胚珠原基中的高; 在发育的种子中, *EScaAGL9* 的表达水平也较高, 在蒴果壁上的表达水平则不高。总体来说, *EScaAGL9* 的表达式样与 *SEP3* 基因较为相似(Zahn et al., 2005)。通过对 SEP 基因的系统发育分析, Zahn 等(2005)发现该基因亚家族中发生过多次基因重复事件。在现存的被子植物起源之前, SEP 谱系发生了一次基因重复事件, 产生了 AGL2/3/4 和 AGL9 两大谱系。在真双子叶植物起源之后, 核心真双子叶植物分化之前, AGL2/3/4 经历了两次基因重复事件, 产生了 AGL2(包括 *SEP1* 和 *SEP2*)、AGL3(包括 *SEP4*)和 *FBP9* 三个谱系(Zahn et al., 2005)。

b. **核心真双子叶植物** 核心真双子叶植物是目前植物进化发育生物学研究中成果最多的一个类群, 人们从中得到了许多与植物发育相关的基因, 并进行了功能方面的分析, 其中, 又以与花发育相关的 MADS-box 基因为首, 涉及其各个亚家族。

b1. **SQUA/AP1 亚家族** SQUA/AP1 亚家族包括拟南芥中的 *APETALA1*(*AP1*)、*CAULIFLOWER*(*CAL*)、*FRUITFULL*(*FUL*)(亦称 *AGL8*)(Mandel et al., 1992; Kempin et al., 1995; Gu et al., 1998)和 *AGAMOUS-LIKE79*(*AGL79*)基因(Hecht, 2005), 金鱼草中的 *SQUA-MOSA* 基因(*SQUA*)(Huijser et al., 1992), 矮牵牛中的 *PFG* 和 *FBP26* 基因, 豌豆中的 *PROLIFERATING INFLORESCENCE MERISTEM*(*PIM*)基因(亦称 *PEAM4*)(Berbel et al., 2001; Taylor et al., 2002), 番茄中的 *LeMADS-MC*(Vrebalov et al., 2002)和 *POTM1* 基因(只是 *POTM1* 基因在根、茎、叶中都有表达, 在花中表

达反而微弱, 所以其主要在营养器官发育中起作用)(Kang and Hannapel, 1995), 白芥中的 *SAMADSC* 基因(Menzel et al., 1995), 甘蓝中的 *BOAP1* 基因(Anthony et al., 1995), 宽叶蝇子草中的 *SLM4* 和 *SLM5* 基因(Hardenack et al., 1994)。这一亚家族中的大多数基因在花序或花分生组织中典型表达, 主要行使分生组织特征决定的功能(Theissen et al., 1996), 而且各基因有着相似的表达式样和突变体表型(Becker and Theissen, 2003)。*AP1*、*FUL* 和 *CAL* 在促进花分生组织形成上功能相互重叠。*FUL* 基因是这一亚家族中比较特殊的一个, 它在心皮的瓣膜上明显表达, 被视为瓣膜身份基因(valve identity genes), 而且在花序分生组织及叶中也有所表达, 还在果实形态建成过程中调节组织发育(Gu et al., 1998)。*CAL* 基因似乎是由发生在十字花科内部的基因重复事件产生的。与 *AP1*、*CAL* 和 *FUL* 不同, *AGL79* 在根中表达, 其作用还不清楚(Parenicov, 2003)。此外, *AP1* 基因还作为花器官身份基因影响萼片和花瓣的发育(Mandel et al., 1992), 即具有 A 功能。拟南芥中的 *AP1*、*AP2* 基因执行控制萼片与花瓣特征的 A 功能, 但其它植物中的 A 功能就不那么明显了。金鱼草中 *AP1* 基因的同源基因 *SQUA* 对萼片和花瓣的发育不是严格必需的(Huijser et al., 1992), 矮牵牛中 *AP2* 基因的直系同源基因并不执行 A 功能(Maes et al., 1998)。*AP1* 基因几乎是 *SQUA/AP1* 亚家族中唯一一个拥有 A 功能的(单独决定萼片特征, 与 B 类基因一同决定花瓣特征)(Litt and Irish, 2003)。可见 A 功能对于 *SQUA/AP1* 亚家族来说并不是一个原始的功能项。*SQUA/AP1* 类基因的原始功能可能在于确定花序或花分生组织的特征, 而确定花被或果实瓣膜的征可能是在进化中衍生的(Theissen, 2000; Theissen et al., 2000)。

b2. *DEF/AP3* 亚家族和 *GLO/PI* 亚家族 *DEF/AP3* 亚家族包括: 拟南芥中的 *AP3* 基因(Jack et al., 1992); 金鱼草中的 *DEF* 基因(Sommer et al., 1990), 二者都是典型的 B 功能基因, 决定花瓣与雄蕊的发育; 矮牵牛中的 *PMADS1* 基因, 仅对花瓣的发育是必需的, 对雄蕊的

发育则冗余, 其功能与 *AP3*、*DEF* 基因的不等同(van der Krol and Chua, 1993); 马铃薯中的 *STDEF* 基因; 宽叶蝇子草中的 *SLM3* 基因(Garcia-Maroto et al., 1993; Hardenack et al., 1994); 酸模中的 *RAD1* 和 *RAD2* 基因, 与典型的 B 类花器官身份基因非常相似, 只是表达仅限于第三轮花器官, 所以该类植物前两轮都呈现萼片状, 这可能是酸模属的一个衍生特征(Ainsworth et al., 1995)。矮牵牛和酸模的例子说明, 在进化中 *DEF/AP3* 亚家族的基因在表达上存在补充性的改变, 进而产生了许多植物在花瓣、雄蕊上的差距。此外, 该亚家族还包括紫花苜蓿中的 *NMH7* 基因, 其表达仅限于根瘤菌感染的根节结细胞, 在花中无表达, 不能作为花器官身份基因(Theissen et al., 1996); 番茄中的 *TM6* 基因, 在花瓣、雄蕊和心皮中都有表达, 不是典型的 B 功能基因(Pnueli et al., 1991); 马铃薯中的另一个该亚家族的基因 *PD2*, 与 *TM6* 基因情况类似, 功能与 *DEF* 基因不等同。

GLO/PI 亚家族包括: 拟南芥中的 *PI* 基因(Goto and Meyerowitz, 1994); 金鱼草中的 *GLO* 基因(Tröbner et al., 1992), 二者是典型的 B 功能基因, 决定花瓣与雄蕊的发育; 矮牵牛中的 *FBP1* 基因, 与 *PI* 基因类似, 与 *GLO* 基因功能等同(Angenent et al., 1993; Goto and Meyerowitz, 1994), 而矮牵牛中的另外一个 B 类基因 *PMADS2* (Kush et al., 1993), 虽与 *FBP1* 基因表达一致, 却不能互补 *FBP1* 基因的突变体。

从系统发育上说, 这两个亚家族源于被子植物起源之前的一次基因重复事件, 随后 *GLO/PI* 谱系保持相对稳定, 而 *DEF/AP3* 谱系则在核心真双子叶植物基部又发生了一次基因重复事件, 产生了 euAP3 谱系和 *TM6* 谱系, 核心真双子叶植物之外的其它植物中的 *DEF/AP3* 基因归入 paleoAP3 谱系。其中, *TM6* 谱系与 paleoAP3 谱系更相似, 它们所编码的蛋白质 C 末端都具有高度保守的 paleoAP3 基序, 与之大体相对应的位置, 在 euAP3 蛋白中有非常保守的 euAP3 基序。在 euAP3 基序 / paleoAP3 基序之前还有一段被称为 PI-derived 基序, 这段保守序列与 *GLO/PI* 蛋白 C 末端的 PI 基序的序列和位置都较为相似, 因此人们推断在 *DEF/AP3* 谱系和 *GLO/*

PI 谱系分化之前的祖先基因编码的蛋白质已经具有了 *PI* 基序, 可能也有了 *paleoAP3* 基序, 在进化过程中, *GLO/PI* 谱系丢失了 *paleoAP3* 基序, *PI* 基序则相对稳定, 而 *DEF/AP3* 谱系中 *PI* 基序发生了变化, 在核心真双子叶植物基部发生基因重复事件之后, *euAP3* 谱系的 *paleoAP3* 基序被 *euAP3* 基序所替代。Vandenbussche 等(2003)通过对 *DEF/AP3* 基因及其所推导的蛋白质 C 末端序列的比较, 认为编码 *paleoAP3* 基序的 DNA 序列通过 8 个碱基对的插入, 不仅带来新的序列, 而且造成了移码突变, 从而产生了可以编码 *euAP3* 基序的 DNA 序列。2006 年, Kramer 等人在已有的数据基础上, 加入了 25 个真双子叶植物的 *AP3* 同源基因, 再次进行了分析, 得到更为简化的模型, 认为 *euAP3* 基序起源于编码 *paleoAP3* 基序的 DNA 中一个碱基的缺失, 以及非常少的核苷酸变化(Kramer et al., 2006)。

Lamb 和 Irish(2003)对 *paleoAP3* 基序和 *euAP3* 基序进行了研究, 他们用 *paleoAP3* 基序替换拟南芥中的 *euAP3* 基序后, 转入拟南芥的 *ap3-3* 突变体中, 发现花瓣依然保持萼片状, 雄蕊则有部分的恢复。推断 *paleoAP3* 蛋白质只能促进核心真双子叶植物雄蕊的发育, 而不能促进其花瓣的形成。*DEF/AP3* 亚家族经基因重复以及随后的序列分歧, 功能上发生了明显的分化, *euAP3* 谱系获得了调控花瓣形成的作用, 这可能是核心真双子叶植物花瓣起源的一个决定因素。此外, 从这一研究结果还可以推出 *DEF/AP3* 蛋白末端的基序对相应基因功能的完成相当重要。

b3. GGM13 亚家族 *GGM13* 基因是在裸子植物买麻藤中得到的(Becker et al., 2000), 该基因亚家族中包括拟南芥中的 *ABS*、*TT16* 和 *AGL32* 基因。*GGM13* 类基因在裸子植物和被子植物中都有发现, 其在约 3 亿年前两大类群的最近共同祖先中就已经存在了(Becker et al., 2002)。*GGM13* 类基因被推测为 B 类基因的姐妹基因, 称为 *B_{sister}*(*B_s*)类基因(Becker et al., 2002)。

研究表明 *B_s* 类基因在裸子植物和被子植物的雌性生殖器官(胚珠和心皮)中表达, 可区分雌雄性生殖器官(雌性生殖器官中 *B_s* 类基因表达, 雄性生殖器官中 *B_s* 类基

因不表达)。B 类基因和 *B_s* 类基因这两大支是由二者的祖先基因在 3 - 4 亿年前的种子植物的雄性小孢子叶(male microsporophylls)与雌性大孢子叶(female megasporophylls)的进化中经历了基因重复事件而产生的(Becker et al., 2002)。

b4. AG 亚家族 *AG* 亚家族包括拟南芥中的 *AG*、*STK*(亦称 *AGL11*)、*SHATTERPROOF1*(*SHP1*)(亦称 *AGL1*)、*SHP2*(亦称 *AGL5*)基因(Yanofsky et al., 1990; Ma et al., 1991; Rounsley et al., 1995); 金鱼草中的 *PLENA*(*PLE*) (Bradley et al., 1993)和 *FARINELL1*(*FAR*)基因; 油菜中的 *BAG1* 基因(Mandel et al., 1992a); 烟草中的 *NAG1* 基因(Kempin et al., 1993); 番茄中的 *TAG1* 基因(Pnueli et al., 1994); 矮牵牛中的 *PMADS3*(Tsuchimoto et al., 1993)、*FBP7*和 *FBP11* 基因(Angenent and Colombo, 1996); 宽叶蝇子草中的 *SLM1* 基因(Hardenack et al., 1994); 酸模中的 *RAP1* 基因(Ainsworth et al., 1995)。其中, 拟南芥中的 *AG*、*STK*、*SHP1*和 *SHP2*四个基因有着高度的序列一致性, 并表现出各自不同但又相互重叠的表达式样, 在 *MADS-box* 基因的系统发育树上形成一个单系。*AG* 基因在花分生组织的形成及雄蕊和心皮的发育中起关键作用。*SHP1* 基因在心皮原基中表达, 在萼片、花瓣和雄蕊中则无表达, 其在表达上晚于 *AG* 基因(Ma et al., 1991), *SHP2* 基因的表达式样类似 *SHP1* 基因, 其在心皮和胚珠发育中起作用, 受 *AG* 基因的正调控(Savidge et al., 1995), 此外, *SHP1*和 *SHP2* 基因在果实中也有表达, 它们在决定果实开裂的功能上有很程度的冗余。*STK* 基因在发育的胚珠原基和种子中表达, 它与 *AG* 和 *SHP1/2* 共同调节胚珠的发育(Zahn et al., 2006)。金鱼草中的 *PLE* 基因功能与拟南芥中的 *AG* 基因相似, 但是在系统发育分析中, 它们分别属于 *PLE* 和 *euAG* 谱系, 说明它们不是直系同源关系而是旁系同源关系。金鱼草中的 *FAR* 才是 *AG* 的直系同源基因, *FAR* 在器官形成和分生组织发育中所起的作用不如 *AG* 和 *PLE* 基因大, 但是在雄蕊发育的后期所起的作用却比 *PLE* 基因的大(Zahn et al., 2006)。拟南芥中的 *SHP1/SHP2* 基因是

*PLE*的直系同源基因, *SHP1/2*对拟南芥长角果上分裂带的形成起作用, 该功能明显不同于*AG*基因亚家族的主体功能, 可能是通过新功能化(neofunctionalization)而获得的(Zahn et al., 2006)。如上基因大多数归属于两类花器官身份基因, *STK*、*FBP7*和*FBP11*基因属于D类, 它们决定胚珠的特征(Becker and Theissen, 2003), 其它基因大多属于C类, *SHP1/SHP2*基因兼有C和D两种功能, 即在心皮和胚珠的发育中都起作用。*AG*亚家族基因的祖先基因在被子植物基部发生了一次基因重复事件, 而后重复的基因经历了新功能化或亚功能化(subfunctionalization) (Force et al., 1999), 进而建立了两个基因分支: 一支是以现存真双子叶植物中的D类基因为代表的胚珠特异性基因; 一支在雌雄性生殖器官中均表达, 并随着被子植物新兴性状心皮的出现, 而产生了C类花器官身份基因。

系统发育分析表明, 在核心真双子叶植物基部 *AG* 谱系中的一次基因重复事件产生了*euAG*和*PLE*两个谱系(Irish, 2003; Kramer et al., 2004; Causier et al., 2005), 还有一次更早的基因重复事件发生在被子植物早期, 裸子植物和被子植物分化以后, 这次重复事件产生了*AG*和*AGL11*两个谱系(Kramer et al., 2004; Zahn et al., 2006)。

b5. *SEP* 亚家族 *SEP*亚家族包括拟南芥中的*SEP1* (亦称*AGL2*)、*SEP2* (亦称*AGL4*)、*SEP3* (亦称*AGL9*) 和*SEP4* (亦称*AGL3*) 基因(Ma et al., 1991; Mandel and Yanofsky, 1998)。这4个基因的序列和表达式样十分相似, 它们均属于E类基因(Theissen, 2001)。*SEP1/2/3*基因在花瓣、雄蕊和心皮的发育中是必需的, *SEP4*基因对萼片、花瓣、雄蕊和心皮的特征决定起作用(Ditta et al., 2004; Zahn et al., 2005)。这4个基因在花器官特征决定中有冗余作用。此外, *SEP1/2/3*基因还能阻止花分生组织的无限生长(Pelaz, 2000), *SEP4*基因在花分生组织的形成中也起着重要的作用(Ditta, 2004)。该亚家族还包括: 矮牵牛中的*FBP2*基因(Angenent et al., 1994); 番茄中的*TM5*和*TM29*基因(Pnueli et al., 1994; Ampomah-Dwamena et al., 2002);

非洲菊中的*GRCD1*和*GRCD2*基因(Kotilainen et al., 2000; Uimari et al., 2004); 金鱼草中的*DEFH49*基因(Davies and Schwarz-Sommer, 1994)。*FBP2*、*TM5*基因和大多数*SEP*类基因一样, 主要在花瓣、雄蕊和心皮原基中表达(Becker and Theissen, 2003), 它们可能与*SEP3*基因是直系同源关系(Theissen et al., 1996)。*GRCD1*基因也是一个E功能花器官身份基因, 而*GRCD2*基因却在花序发育过程中起作用(Kotilainen et al., 2000; Uimari et al., 2004)。*DEFH49*基因主要在心皮中表达, 在雄蕊和花瓣中也有表达, 表达式样类似于大多数的*SEP*类基因 (Davies and Schwarz-Sommer, 1994)。番茄中还有一个*SEP*直系同源基因*LeMADS-RIN*, 但仅在果实成熟中起调节作用, 与花器官或花分生组织发育无关(Vrebalov et al., 2002)。研究表明, *SEP*类基因扮演着花分生组织和花器官身份基因中间的一个角色(Pnueli et al., 1994; Savidge et al., 1995)。从上述研究中还可以看出, 不同的核心真双子叶植物的E类基因有轮特异和冗余性的变化。

植物中*SEP*类基因的数量、发育和功能依物种的不同而存在差异, 因而其中任何一个特定基因的冗余程度也是各异的(Malcomber and Kellogg, 2005)。*SEP*类基因在不同物种中有相对各异的表达式样和功能, 可能是该亚家族经历了快速的功能分化的缘故, 而且其家族成员可能在功能上并非同类, 这在单子叶植物中体现得很明显(Theissen et al., 1996)。此外, 由于*SEP*类基因编码蛋白可与其它MADS-box基因蛋白质产物形成蛋白质复合物, 代表性的就是在四聚体模型中与其它MADS-box基因亚家族成员编码的蛋白质形成异源二聚体或更高一级的蛋白质复合物(Fan et al., 1997; Honma and Goto, 2001; Theissen, 2001; Theissen and Saedler, 2001)。因此, *SEP*亚家族基因可能与*SQUA*、*DEF/GLO*、*AG*亚家族基因有协同进化关系。

通过对以上各亚家族的分析, 可以看出在核心真双子叶植物起源之前AB(C/D)E类基因都曾经发生过基因重复事件。已有研究表明A类基因中的*SQUA/AP1*亚家族从祖先状态的*FUL*-like谱系经基因重复事件产生了*euAP1*和*euFUL*两个谱系, 而本文作者所在的研究组

通过对以往及新得到的该基因亚家族的成员序列的系统发育分析, 推测在核心真双子叶植物基部发生过两次十分相近的基因重复事件, 进而产生了3个谱系: euAP1、AGL79和euFUL; B类基因的DEF/AP3亚家族在核心真双子叶植物中有euAP3和TM6两个谱系; 在核心真双子叶植物基部AG谱系中的一次基因重复事件产生了euAG和PLE两个谱系; 在真双子叶植物起源之后, 核心真双子叶植物分化之前, AGL2/3/4经历了两次基因重复事件, 产生了AGL2(包括SEP1和SEP2)、AGL3(包括SEP4)和FBP9三个谱系(Shan et al., 2006)。可见, 核心真双子叶植物起源之前, 控制花器官形成的基因已成倍增加, 在随后的进化过程中, 一部分重复的基因拷贝经过亚功能化或新功能化发生了功能分化, 从而增加了花发育调控网络的复杂性, 进而促进了核心真双子叶植物花部形态的多样化。此外, 基因重复后逐步进化而来的调控网络可能使植物在自然选择中占据优势并稳定下来, 促使核心真双子叶植物三大创新性状(花被有明显的花萼和花冠之分, 花器官轮状排列, 各轮数目相对固定)的出现。

3 植物进化发育生物学研究的几个热点问题

3.1 花被

花被(perianth)分化为萼片和花瓣是真双子叶植物一个显著的创新性状, 经典的形态学研究认为花瓣是多次独立地由雄蕊或苞片衍生而来的(Takhtajan, 1991; Theissen et al., 2000)。在基部被子植物中, 有些类群有花被缺失的极端简化性状, 如金粟兰科植物; 有些类群前两轮上有花瓣状的器官(petaloid organs)存在(称为花被片 tepal), 如木兰类、单子叶植物中的百合科植物; 有些类群有特化的花部结构, 如单子叶植物中禾本科的一些植物, 在花的第一、二轮分别出现了内稃/外稃、浆片。在基部真双子叶植物中, 有些类群的花被在形态上有类似雄蕊的过渡类型, 而且在花被形态上变化多样, 如毛茛类植物。在核心真双子叶植物中, 大多数类群具有典型的四轮花器官结构, 萼片和花瓣分化鲜明, 但也有特例,

如蓼科的酸模第一、二轮花器官均呈现萼片状(sepaloid)。花器官身份基因, 尤其是B类基因的进化及表达式样的研究, 可为花被分化、花瓣起源问题提供许多线索。早期人们曾提出边界平移模型(sliding boundary model), 认为被子植物原始状态的花被是无分化的, 后来出现分化可能是通过两种不同的方式进行的: (1) 原有的花被片分化为萼片和花瓣; (2) 雄蕊转变为花瓣状器官。第一种情况, 可以通过B类基因外侧边界移动而实现, 移动方向取决于未分化的花被片原来的状态(萼片状或雄蕊状); 在第二种情况下, A和C类基因边界的向心移动可以解释雄蕊向花瓣状器官的转变(Bowman, 1997)。但上述的解释并不尽如人意。研究发现, AP3和PI同源基因的B功能(决定花瓣和雄蕊特征的形成)似乎仅在核心真双子叶植物中保守(Irish and Kramer, 1998), 而在其它植物类群中则有所变化, 例如, 毛茛类几种不同植物的AP3和PI的直系同源基因在花瓣中的表达式样既不统一也不稳定, 说明它们所起的作用也是不尽相同的, 进而人们推测AP3和PI的直系同源基因获得在花瓣中的组织或细胞特异性的(tissue- or cell-type-specific)功能可能是由一次或多次独立的衍生事件导致的(Kramer and Irish, 1999)。由于这些基因在雄蕊中的表达比较一致, 所以人们推测它们在雄蕊发育中的作用是相对保守的(Kramer and Irish, 1999)。概括起来, 真双子叶植物花瓣的起源有两种可能: 毛茛类植物的花瓣是雄蕊源的(推测包含B功能决定的缺失); 核心真双子叶植物的花瓣大多是苞片源的(可能源于B功能的获得)(Kramer and Irish, 1999; Cronk, 2001)。核心真双子叶植物中酸模的两轮萼片状被片的产生与其花被器官中B类基因未全面地行使B功能有关(Ainsworth et al., 1995)。目前种种证据表明花瓣是多次起源的。

3.2 花对称性

花对称性的进化研究是理解被子植物进化的重要组成部分。花的背腹不对称性(两侧对称 zygomorphy)的进化加速了花外形的特化(specialization)(Cronk and Möller, 1997), 同时促进了物种的形成与形态的多样化, 兰科(Orchidaceae) (约2.5万种)、豆科(Fabaceae) (约2万

种)、菊科(Asteraceae) (约1.8万种)的花形态多样即是典型的例子(Cronk, 2001)。在被子植物进化历史上, 两侧对称花和辐射对称花之间的转变发生了多次。系统发育分析显示, 在菊亚纲内两侧对称花是由辐射对称花的祖先经过几次独立的进化事件发展起来的, 同时也存在许多由两侧对称向辐射对称的逆转(Coen and Nugent, 1994; Coen et al., 1995)。

与花对称性相关的基因家族主要有两个: *TCP*基因家族和 *MYB*基因家族。其中研究比较多的是 *TCP*基因家族, 该家族基因编码的蛋白质含有保守的碱性-螺旋-环-螺旋TCP结构域(basic helix-loop-helix (bHLH) TCP domain)(Howarth and Donoghue, 2006)。菊类和蔷薇类中发现的TCP的直系同源基因在花的背侧特征(dorsal identity)决定方面起着重要的作用(Howarth and Donoghue, 2006)。TCP基因家族还进一步划分为两个亚家族: *PCF*基因亚家族和 *CYC/TB1*基因亚家族(Cubas et al., 1999)。CYC/TB1亚家族基因编码的蛋白质还含有另一个保守的区域, 即R-box结构域(R-box domain) (Cubas et al., 1999; Geeta, 2003), 该亚家族主要包括玉米中的 *TEOSINTE BRANCHED1(TB1)*基因、金鱼草中的 *CYCLIDEA(CYC)*基因和 *DICHOTOMA(DICH)*、拟南芥中的 *TCP1*、*TCP12*和 *TCP18*基因(Howarth and Donoghue, 2006)。TB1基因与顺式元件的进化有关, 主要控制玉米类植物顶端优势的增长。CYC和 *DICH*基因在两侧对称花的花冠和雄蕊的背侧特征决定中起重要作用(Luo et al., 1996, 1999), CYC基因可与细胞周期调节因子作用, 在花中改变生长的对称性(Gaudin et al., 2000), 其在早期花分生组织中的不同表达式样可能调节了近轴器官的发育命运, 促进了近轴(adaxial)花瓣的增大与近轴雄蕊的退化(Coen et al., 1995; Luo et al., 1996)。此外, 该基因在非两侧对称花的发育中可能有控制花定位的作用(floral orientation)(Geeta, 2003)。金鱼草中, CYC与 *DICH*基因功能相互交叉, 在花分生组织中的表达相互重叠(Luo et al., 1996), *DICH*基因可以在CYC基因表达区域上表达, 并增强花瓣形态的差异(Cronk, 2001)。拟南芥中CYC的同源基因 *TCP1*被发现在花近轴基部和

叶腋处分生组织中表达(Cubas et al., 2001)。CYC与 *DICH*基因对背腹不对称性的促进作用可能是从分枝发育(branch development)发展起来的(Shepard and Purugganan, 2002)。

CYC/TB1基因亚家族又可进一步分为两个亚支(Cubas, 2002), 其中一个主要的亚支是ECE支(clade), 包括 *TB1*、*CYC/DICH*、*TCP1/12/18*(Howarth and Donoghue, 2005)。CYC类基因的重复在核心真双子叶植物中很普遍(Reeves and Olmstead, 2003; Howarth and Donoghue, 2006)。研究发现核心真双子叶植物中的ECE支基因分三类: *CYC1*、*CYC2*和*CYC3*(Howarth and Donoghue, 2005, 2006), 而且CYC1与其它两类基因是姐妹关系(Howarth and Donoghue, 2006)。人们在单子叶植物、木兰类真双子叶植物及基部真双子叶植物中的毛茛科耬斗菜属中仅发现了一个ECE支基因的拷贝, 而后又通过系统发育分析, 推断ECE支基因在核心真双子叶植物基部发生过一次基因重复事件, 这次事件很可能就发生在耬斗菜属的位置上, 并产生了CYC1基因和CYC2/3的祖先基因两个分支, 随后在核心真双子叶植物中发生的一次基因重复事件促成了CYC2与CYC3的分化(Lukens and Doebley, 2001; Citerne et al., 2003; Howarth and Donoghue, 2005, 2006)。CYC1基因, 如 *TB1*; CYC2基因, 如 *CYC*、*DICH*; CYC3基因, 如 *TCP12*。进一步研究结果显示, 在CYC1亚支中没有再发生基因重复事件, 而在CYC2亚支中还发生了多次基因重复事件(Lukens and Doebley, 2001; Citerne et al., 2003; Howarth and Donoghue, 2005, 2006), 鉴于CYC类基因与花对称性, 尤其是两侧对称性的出现关系密切, 所以上述结论印证了被子植物不同分支中花的两侧对称性是多次独立起源的说法(Cronk, 2001)。

CYC类基因的进化研究为MADS-box基因的进化研究提供了补充信息, 其间阐释的一个关键点就是一些主要的与花发育相关的基因大都在核心真双子叶植物基部发生过一次基因重复(Howarth and Donoghue, 2006), 这与核心真双子叶植物花器官的完善和多样化状态的出现息息相关。

3.3 叶的进化发育

3.3.1 *KNOX* 基因家族与叶的进化

目前对叶的进化发育研究主要针对复叶(compound leaf)。已有观点认为复叶可能是在不同类群中经历了多次独立进化而产生的,也可能是原始的发育程序在不同分支中反复受抑制或复兴的缘故(Goliber et al., 1999)。有人认为复叶源自浅裂的单叶(simple leaf),有人认为复叶源自叶和茎发育程序的融合类型(Sattler and Ritishauser, 1992)。此外,人们研究认为叶可能源于类似不定生长的侧枝系统,而不定分生组织的生长是由 knotted-like homeobox (*KNOX*)基因家族来维持的(Cronk, 2001)。*KNOX*基因的主要功能在于维持茎端分生组织(SAM)和叶的发育。典型的*KNOX*基因如 *SHOOT MERISTEMLESS (STM)*、*BREVIPEDICELLUS (BP)*、*knotted1-like from Arabidopsis thaliana2 (KNAT2)*, 它们在茎端分生组织中表达,而在叶原基中的表达却受到抑制(Kerstetter et al., 1994; Lincoln et al., 1994; Long et al., 1996)。*KNOX*基因的过量表达可以导致变化的复叶形态的出现(Sinha et al., 1993; Chuck et al., 1996; Hareven et al., 1996; Janssen et al., 1998),可见茎和叶形态的进化与*KNOX*基因家族成员功能的多样化有很大关系(Friedman et al., 2004)。进一步研究表明*KNOX*基因在具单叶的物种的叶中表达受抑制,而在诸如番茄这样具复叶的植物叶中可以表达,而且其过量表达会增加叶裂的程度(Goliber et al., 1999),进而人们推测复叶的产生是*KNOX*基因表达式样变化的结果。此外,如果抑制*PHAN*基因在番茄复叶中的表达,羽状复叶将转变为掌状复叶(Kim et al., 2003),由此可见复叶形态的进一步改变与*PHAN*基因表达式样的改变有很大关系(Friedman et al., 2004)。

人们还发现*KNOX*基因在初始叶中主要受MYB结构域蛋白基因家族(the myb-domain protein family)中一些基因的抑制,如拟南芥中的 *ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)*、金鱼草中的 *PHANTASTICA (PHAN)*、玉米中的 *ROUGH SHEATH2 (RS2)*(Waites et al., 1998; Timmermans et al., 1999; Tsiantis et al.,

1999; Byrne et al., 2000),而其它的*KNOX*基因又会对这些抑制子进行负调控,如*AS1*基因在下调*KNAT1 (knotted1-like from Arabidopsis thaliana 1)*和*KNAT2*在叶中表达的同时,还要受*SHOOTMERISTEMLESS (STM)*基因的负调控(Cronk, 2001)。

虽然*KNOX*基因是解释复叶进化的主线,但也有例外,在豌豆复叶中就不表达*KNOX*基因,而是由*LEAFY (LFY)*基因的直系同源基因*UNIFOLIATA*(Gourlay et al., 2000)和*UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)*基因的直系同源基因*PEA FIMBRIATA (PEAFIM)*(Taylor et al., 2001)共同影响复叶的发育和构成的。*LFY*和*UFO*基因可以调节拟南芥中*AP3*基因的表达,所以花发育的途径可能受复叶进化的协同选择(Shepard and Purugganan, 2002)。

3.3.2 *FLORICAULA/LEAFY-like* 基因与复叶的形成

*FLORICAULA/LEAFY-like*基因最初被视为花分生组织身份基因,进一步研究发现在许多被子植物中,*FLO/LFY*基因也在营养茎端和发育的叶中表达(Busch and Gleissberg, 2003)。在一些具有多裂叶(dissected leaves)的物种中,如豌豆、番茄、葡萄(*Vitis vinifera*),*FLO*同源基因的表达时间所有延长,并在边缘分裂带(marginal blastozone,叶的近轴和远轴面在叶的边缘汇合,组成这一汇合处的细胞被称为边缘分裂带)处表达(Molinero-Rosales et al., 1999; Gourlay et al., 2000; Carmona et al., 2002)。此外,Busch和Gleissberg(2003)对加州罂粟的*FLO-like*基因进行了研究,发现*EcFLO*也在发育的叶中边缘分裂带处表达,这说明*FLO-like*基因对叶的分裂起作用这一功能可能早在真双子叶植物起源之时就已获得了。可见,*FLO-like*基因在豆目(Fabales)、葡萄目(Vitales)、茄目和毛茛目植物的多裂叶发育中起作用(Busch and Gleissberg, 2003)。由此看来,*FLO/LFY*基因可能对复叶的形成起一定的作用,而在大多数情况下,复叶的发育可能是受*KNOX1*和*FLO/LFY*基因联合调控的(Busch and Gleissberg, 2003)。

4 结语

植物进化发育生物学领域在短短十几年中得到了突飞猛进的发展,向人们充分展示了这门学科所蕴含的巨大生命力。进化发育生物学不断吸收着来自发育生物学、分子生物学、生物信息学等相关学科的研究成果,来扩大自己的研究广度和深度。许多进化中的重大问题诸如达尔文的花起源的“讨厌之谜”,白垩纪的植物类群大爆发等等,都在随着植物进化发育生物学的发展,渐渐地被揭开其神秘的面纱。更加可喜的是,目前花基因组计划(floral genome project, FGP)已经启动,许多植物的全基因组测序已经完成或正在进行。全基因组数据大大扩展了生物学研究的信息量,增加了进化发育研究可选基因的数量,而不同物种基因组的同线性(syteny)或共线性(collinearity)现象,又为进化研究提供了新的突破口,在基因组水平上研究基因的结构与功能可以更为系统和全面,并有可能更清楚地反映出生物发育的分子机制及进化的遗传背景。植物进化发育生物学未来的发展方向:一方面,研究会不同的植物类群中不断扩展,尤其是对具有过渡性和代表性特征,或多变的形态的类群的深入探索,诸如基部被子植物、基部真双子叶植物;另一方面,在已有的基础上对植物发育相关的分子机制的研究将会不断深入,从大的尺度上,研究主要基因和基因家族的进化模式,及其与植物关键创新性状(如生活史的世代交替、维管系统、胚、种子和心皮)之间的内在联系,进一步理解植物大类群(如有胚植物、维管植物、种子植物和被子植物)的起源和早期演化。我们相信植物进化发育生物学的研究将给我们带来越来越多的惊喜,让我们可以更清楚和透彻地认识这五彩缤纷的植物世界。

致谢 本文是在陈之端研究员和孔宏智副研究员的指导下完成的。感谢汤彦承和路安民研究员阅读全文并提出修改意见,感谢山红艳博士对文章初稿提出宝贵意见,感谢山红艳博士、刘翠晶和张宁博士生提供相关研究结果。

参考文献

- 白书农 (2003). 植物发育生物学. 北京: 北京大学出版社.
- Ainsworth C, Crossley S, Buchanan-Wollaston V, Thangavelu M, Parker J** (1995). Male and female flowers of the dioecious plant sorrel show different patterns of MADS-box gene expression. *Plant Cell* **7**, 1583-1598.
- Alvarez-Buylla ER, Liljegren SJ, Pelaz S, Gold SE, Burgeff C, Ditta GS, Vergara-Silva F, Yanofsky MF** (2000). MADS-box gene evolution beyond flowers: expression in pollen, endosperm, guard cells, roots and trichomes. *Plant J* **24**, 457-466.
- Albert VA, Gustafsson MHG, di Laurenzio L** (1998). Ontogenetic systematics, molecular developmental genetics, and the angiosperm petal. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ, eds. *Molecular Systematics of Plants II*. Boston: Kluwer Academic Publishers. pp. 349-374.
- Ampomah-Dwamena C, Morris BA, Sutherland P, Veit B, Yao JL** (2002). Down-regulation of *TM29*, a tomato *SEPALLATA* homolog, causes parthenocarpic fruit development and floral reversion. *Plant Physiol* **130**, 605-617.
- Angiosperm Phylogeny Group** (2003). An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot J Linn Soc* **141**, 399-436.
- Angenent GC, Franken J, Busscher M, Weiss D, van Tunen AJ** (1994). Co-suppression of the petunia homeotic gene *fbp2* affects the identity of the generative meristem. *Plant J* **5**, 33-44.
- Angenent GC, Franken J, Busscher M, van Dijken A, van Went JL, Dons HJM, van Tunen AJ** (1995). A novel class of MADS-box genes is involved in ovule development in *Petunia*. *Plant Cell* **7**, 1569-1582.
- Angenent GC, Colombo L** (1996). Molecular control of ovule development. *Trends Plant Sci* **1**, 228-232.
- Anthony RG, James PE, Jordan BR** (1995). The cDNA sequence of a cauliflower *apetala-1/squamosa* homolog. *Plant Physiol* **108**, 441-442.
- Aso K, Kato M, Banks JA, Hasebe M** (1999). Characterization of homeodomain-leucine zipper genes in the fern *Ceratopteris richardii* and the evolution of the homeodomain-leucine zipper gene family in vascular plants. *Mol Biol Evol* **16**, 544-552.
- Arthur W** (2002). The emerging conceptual framework of evolutionary developmental biology. *Nature* **415**, 757-764.
- Becker A, Winter KU, Meyer B, Saedler H, Theissen G**

- (2000). MADS-box gene diversity in seed plants 300 million years ago. *Mol Biol Evol* **17**, 1425-1434.
- Becker A, Theissen G** (2003). The major clades of MADS-box genes and their role in the development and evolution of flowering plant. *Mol Phylogenet Evol* **29**, 464-489.
- Berbel A, Navarro C, Ferrandiz C, Canas LA, Madueno F, Beltran JP** (2001). Analysis of *PEAM4*, the pea *AP1* functional homologue, supports a model for *AP1*-like genes controlling both floral meristem and floral organ identity in different plant species. *Plant J* **25**, 441-451.
- Becker A, Kaufmann K, Freialdenhoven A, Vincent C, Li MA, Saedler H, Theissen G** (2002). A novel MADS-box gene subfamily with a sister-group relationship to class B floral homeotic genes. *Mol Genet Genomics* **266**, 942-950.
- Becker A, Theissen G** (2003). The major clades of MADS-box genes and their role in the development and evolution of flowering plants. *Mol Phylogenet Evol* **29**, 464-489.
- Bowler PJ** (1996). Life's Splendid Drama. Evolutionary Biology and the Reconstruction of Life's Ancestry. 1860-1940. Chicago: The University of Chicago Press.
- Bowman JL, Alvarez J, Weigel D, Meyerowitz EM, Smyth DR** (1993). Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by *APETALA1* and interacting genes. *Development* **119**, 721-743.
- Bowman JL** (1997). Evolutionary conservation of angiosperm flower development at the molecular and genetic levels. *J Biosci* **22**, 515-527.
- Bradley D, Carpenter R, Sommer H, Hartley N, Coen E** (1993). Complementary floral homeotic phenotypes result from opposite orientations of a transposon at the *plena* locus of *Antirrhinum*. *Cell* **72**, 85-95.
- Busch A, Gleissberg S** (2003). *EcFLO*, a *FLORICAULA*-like gene from *Eschscholzia californica* is expressed during organogenesis at the vegetative shoot apex. *Planta* **217**, 841-848.
- Busch MA, Bomblies K, Weigel D** (1999). Activation of a floral homeotic gene in *Arabidopsis*. *Science* **285**, 585-587.
- Byrne ME, Barley R, Curtis M, Arroyo JM, Dunham M, Hudson A, Martienssen RA** (2000). *Asymmetric leaves1* mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. *Nature* **408**, 967-971.
- Byrne ME, Simorowski J, Martienssen RA** (2002). *ASYMMETRIC LEAVES1* reveals knox gene redundancy in *Arabidopsis*. *Development* **129**, 1957-1965.
- Causier B, Castillo R, Zhou J, Ingram R, Xue Y, Schwarz-Sommer Z, Davies B** (2005). Evolution in action: following function in duplicated floral homeotic genes. *Curr Biol* **15**, 1508-1512.
- Cacharrón J, Fischer A, Saedler H, Theissen G** (1995). Expression patterns of MADS-box genes as studied by in situ hybridization. *Maize Genet Coop News Lett* **69**, 37-38.
- Cacharrón J, Saedler H, Theissen G** (1999). Expression of MADS-box genes *ZMM8* and *ZMM14* during inflorescence development of *Zea mays* discriminates between the upper and the lower floret of each spikelet. *Dev Genes Evol* **209**, 411-420.
- Carmona MJ, Cubas P, Martinez-Zapater JM** (2002). *VFL*, the grapevine *FLORICAULA/LEAFY* ortholog, is expressed in meristematic regions independently of their fate. *Plant Physiol* **130**, 68-77.
- Carpenter R, Coen ES** (1990). Floral homeotic mutations produced by transposon-mutagenesis in *Antirrhinum majus*. *Genes Dev* **4**, 1483-1493.
- Chuck G, Lincoln C, Hake S** (1996). *KNAT1* induces lobed leaves with ectopic meristems when overexpressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **8**, 1277-1289.
- Chung YY, Kim SR, Finkel D, Yanofsky MF, An G** (1994). Early flowering and reduced apical dominance result from ectopic expression of a rice MADS-box gene. *Plant Mol Biol* **26**, 657-665.
- Chung YY, Kim SR, Kang HG, Noh YS, Park MC, Finkel D, An G** (1995). Characterization of two rice MADS-box genes homologous to *GLOBOSA*. *Plant Sci* **109**, 45-56.
- Chasan R** (1992). *Ceratopteris*: a model plant for the 90s. *Plant Cell* **4**, 113-115.
- Citerne HL, Luo D, Pennington RT, Coen E, Cronk QCB** (2003). A phylogenomic investigation of *CYCLOIDEA*-like TCP genes in the Leguminosae. *Plant Physiol* **131**, 1042-1053.
- Coen ES, Meyerowitz EM** (1991). The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* **353**, 31-37.
- Coen ES, Nugent JM** (1994). Evolution of flowers and inflorescences. *Development* (Suppl) 107-116.
- Coen ES, Nugent JM, Luo D, Bradley D, Cubas P, Chadwick M, Copsey L, Carpenter R** (1995). Evolution of floral symmetry. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **350**, 35-38.
- Colombo L, Franken J, Koetje E, van Went J, Dons HJM, Angenent GC, van Tunen AJ** (1995). The petunia MADS-box gene *FBP11* determines ovule identity. *Plant Cell* **7**, 1859-1868.
- Cronk QCB, Möller M** (1997). Genetics of floral symmetry revealed. *Trends Ecol Evol* **12**, 85-86.

- Cronk QCB** (2001). Plant evolution and development in a post-genomic context. *Nat Rev Genet* **2**, 607 - 619.
- Cubas P, Lauter N, Doebley J, Coen E** (1999). The TCP domain: a motif found in proteins regulating plant growth and development. *Plant J* **18**, 215 - 222.
- Cubas P, Coen E, Zapater JMM** (2001). Ancient asymmetries in the evolution of flowers. *Curr Biol* **11**, 1050 - 1052.
- Cubas P** (2002). Role of TCP genes in the evolution of morphological characters in angiosperms. In: Cronk QCB, Bateman RM, Hawkins JA, eds. *Developmental Genetics and Plant Evolution*. London: Taylor & Francis. pp. 247 - 266.
- Darwin C** (1859). *On the Origin of Species*. London: John Murray.
- Davies B, Schwarz-Sommer Z** (1994). Control of floral organ identity by homeotic MADS-box transcription factors. In: Nover L, ed. *Results and Problems in Cell Differentiation 20, Plant Promoters and Transcription Factors*. Berlin: Springer. pp. 235 - 258.
- Davies B, Motte P, Keck E, Saedler H, Sommer H, Schwarz-Sommer Z** (1999). *PLENA* and *FARINELLI*: redundancy and regulatory interactions between two *Antirrhinum* MADS-box factors controlling flower development. *EMBO J* **18**, 4023 - 4034.
- Ditta G, Pinyopich A, Robles P, Pelaz S, Yanofsky MF** (2004). The *SEP4* gene of *Arabidopsis thaliana* functions in floral organ and meristem identity. *Curr Biol* **14**, 1935 - 1940.
- Drews GN, Bowman JL, Meyerowitz EM** (1991). Negative regulation of the Arabidopsis homeotic gene *AGAMOUS* by the *APETALA2* product. *Cell* **65**, 991 - 1002.
- Drinnan AN, Crane PR, Hoot SB** (1994). Patterns of floral evolution in the early diversification of non-magnoliid dicotyledons (eudicots). *Plant Syst Evol* **8**, 93 - 122.
- Fan HY, Hu Y, Tudor M, Ma H** (1997). Specific interactions between the K domains of AG and AGLs, members of the MADS domain family of DNA binding proteins. *Plant J* **12**, 999 - 1010.
- Ferrindiz C, Gu Q, Martienssen R, Yanofsky MF** (2000). Redundant regulation of meristem identity and plant architecture by *FRUITFULL*, *APETALA1* and *CAULIFLOWER*. *Development* **127**, 725 - 734.
- Fischer A, Saedler H, Theissen G** (1995). Restriction fragment length polymorphism-coupled domain-directed differential displays: a highly efficient technique for expression analysis of multigene families. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 5331 - 5335.
- Fischer A, Baum N, Saedler H, Theissen G** (1995). Chromosomal mapping of the MADS-box multigene family in *Zea mays* reveals dispersed distribution of allelic genes as well as transposed copies. *Nucleic Acids Res* **23**, 1901 - 1911.
- Flanagan CA, Ma H** (1994). Spatially and temporally regulated expression of the MADS-box gene *AGL2* in wild-type and mutant Arabidopsis flowers. *Plant Mol Biol* **26**, 581 - 595.
- Force A, Lynch M, Pickett FB, Amores A, Yan YI, Postlethwait J** (1999). Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics* **151**, 1531 - 1545.
- Friedman WE, Moore RC, Purugganan MD** (2004). The evolution of plant development. *Am J Bot* **91**, 1726 - 1741.
- Frohlich MW, Parker DS** (2000). The mostly male theory of flower evolutionary origins: from genes to fossils. *Syst Bot* **25**, 155 - 170.
- Garber RL, Kuroiwa A, Gehring WJ** (1983). Genomic and cDNA clones of the homeotic locus Antennapedia in *Drosophila*. *EMBO J* **2**, 2027 - 2036.
- Garcia-Maroto F, Salamini F, Rohde W** (1993). Molecular cloning and expression patterns of three alleles of the *Deficiens*-homologous gene *St-Deficiens* from *Solanum tuberosum*. *Plant J* **4**, 771 - 780.
- Gaudin V, Lunness PA, Fobert PR, Towers M, Riou-Khamlichi C, Murray JAH, Coen E, Doonan JH** (2000). The expression of *D-cyclin* genes defines distinct developmental zones in snapdragon apical meristems and is locally regulated by the *cycloidea* gene. *Plant Physiol* **122**, 1137 - 1148.
- Geeta R** (2003). Variation and diversification in plant evo-devo. *Am J Bot* **90**, 1257 - 1261.
- Gilbert SF** (1988). Cellular politics: just, goldschmidt, and the attempts to reconcile embryology and genetics. In: Rainger R, Benson K, Maienschein J, eds. *The American Development of Biology*. Philadelphia: University of Pennsylvania Press. pp. 311 - 346.
- Gilbert SF** (2003). The morphogenesis of evolutionary developmental biology. *Int J Dev Biol* **47**, 467 - 477.
- Goldschmidt RB** (1940). *The Material Basis of Evolution*. New Haven: Yale University Press.
- Goliber T, Kessler S, Chen JJ, Bharathan G, Sinha N** (1999). Genetic, molecular, and morphological analysis of compound leaf development. *Curr Top Dev Biol* **43**, 259 - 290.
- Goodman CS, Coughlin BC** (2000). The evolution of evo-devo biology. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 4424 - 4425.
- Gourlay CW, Hofer JMI, Ellis THN** (2000). Pea compound leaf architecture is regulated by interactions among the genes *UNIFOLIATA*, *COCHLEATA*, *AFILA*, and *TENDRIL-LESS*. *Plant Cell* **12**, 1279 - 1294.

- Graham LE, Cook ME, Busse JS** (2000). The origin of plants: body plan changes contributing to a major evolutionary radiation. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 4535-4540.
- Greco R, Stagi L, Colombo L, Angenent GC, Sari-Gorla M, Pe ME** (1997). MADS-box genes expressed in developing inflorescences of rice and sorghum. *Mol Gen Genet* **253**, 615-623.
- Gu Q, Ferrándiz C, Yanofsky MF, Martienssen R** (1998). The *FRUITFULL* MADS-box gene mediates cell differentiation during *Arabidopsis* fruit development. *Development* **125**, 1509-1517.
- Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C** (1998). Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* **279**, 1360-1363.
- Haeckel E** (1866). *Generelle Morphologie der Organismen: Allegemeine Grundzüge der organischen Formen-Wissenschaft, Mechanisch Begründet Durch Die von Charles Darwin Reformirte Descendenz-Theorie*. Vol. 2. Berlin: G. Reimer. pp. 43-60.
- Hall BK** (1999). *Evolutionary Developmental Biology*, 2nd edn. The Netherlands Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Hall BK** (2003). Evo-devo: evolutionary developmental mechanism. *Int J Dev Biol* **47**, 491-495.
- Hardenack S, Ye D, Saedler H, Grant S** (1994). Comparison of MADS-box gene expression in developing male and female flowers of the dioecious plant white campion. *Plant Cell* **6**, 1775-1787.
- Hareven D, Guffinger T, Parnis A, Eshed Y, Lifschitz E** (1996). The making of a compound leaf: genetic manipulation of leaf architecture in tomato. *Cell* **84**, 735-744.
- Hasebe M, Wen CK, Kato M, Banks JA** (1998). Characterization of MADS homeotic genes in the fern *Ceratopteris richardii*. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 6222-6227.
- Haughn GW, Somerville CR** (1988). Genetic control of morphogenesis in *Arabidopsis*. *Dev Genet* **9**, 73-89.
- Hecht V, Foucher F, Ferrandiz C, Macknight R, Navarro C, Morin J, Vardy ME, Ellis N, Beltran JP, Rameau C, Weller JL** (2005). Conservation of *Arabidopsis* flowering genes in model legumes. *Plant Physiol* **137**, 1420-1434.
- Henschel K, Kofuji R, Hasebe M, Saedler H, Munster 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.
- Hohe A, Rensing SA, Mildner M, Lang D, Reski R** (2002). Day length and temperature strongly influence sexual reproduction and expression of a novel MADS-box gene in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Biol* **4**, 595-602.
- Honma T, Goto K** (2001). Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature* **409**, 525-529.
- Howarth DG, Donoghue MJ** (2005). Duplications in *CYC*-like genes from Dipsacales correlate with floral form. *Int J Plant Sci* **166**, 357-370.
- Howarth DG, Donoghue MJ** (2006). Phylogenetic analysis of the 'ECE' (*CYC/TB1*) clade reveals duplications predating the core eudicots. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 9101-9106.
- Huijser P, Klein J, Lonig WE, Meijer H, Saedler H, Sommer H** (1992). Bractomania, an inflorescence anomaly, is caused by the loss of function of the MADS-box gene *SQUAMOSA* in *Antirrhinum majus*. *EMBO J* **11**, 1239-1249.
- Ingram GC, Doyle S, Carpenter R, Schultz EA, Simon R, Coen ES** (1997). Dual role for *fimbriata* in regulating floral homeotic genes and cell division in *Antirrhinum*. *EMBO J* **16**, 521-6534.
- Irish VF, Kramer EM** (1998). *Advances in Botanical Research*. San Diego: Academic. pp. 197-230.
- Irish VF** (2002). Evo-devo branches out. *Science* **298**, 2135-2136.
- Irish VF** (2003). The evolution of floral homeotic gene function. *Bioessays* **25**, 637-646.
- Jack T, Brockman LL, Meyerowitz EM** (1992). The homeotic gene *APETALA3* of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS-box and is expressed in petals and stamens. *Cell* **68**, 683-697.
- Jack T** (2001). Relearning our ABCs: new twists on an old model. *Trends Plant Sci* **6**, 310-316.
- Janssen BJ, Lund L, Sinha N** (1998). Overexpression of a homeobox gene, *LeT6*, reveals indeterminate features in the tomato compound leaf. *Plant Physiol* **117**, 771-786.
- Jager M, Hassanin A, Manuel M, le Guyader H, Deutsch J** (2003). MADS-box genes in *Ginkgo biloba* and the evolution of the *AGAMOUS* family. *Mol Biol Evol* **20**, 842-854.
- Jaramillo MA, Kramer EM** (2004). *APETALA3* and *PISTILLATA* homologs exhibit novel expression patterns in the unique perianth of *Aristolochia* (Aristolochiaceae). *Evol Dev* **6**, 449-458.
- Jofuku KD, den Boer BG, Montagu MV, Okamoto JK** (1994). Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell* **6**, 1211-1225.
- Kang SG, Hannapel DJ** (1995). Nucleotide sequences of novel potato (*Solanum tuberosum* L.) MADS-box cDNAs and their expression in vegetative organs. *Gene* **166**, 329-330.
- Kang HG, Noh YS, Chung YY, Costa MA, An K, An G** (1995).

- Phenotypic alterations of petal and sepal by ectopic expression of a rice MADS box gene in tobacco. *Plant Mol Biol* **29**, 1 - 10.
- Kang HG, An G** (1997). Isolation and characterization of a rice MADS-box gene belonging to the *AGL2* gene family. *Mol Cells* **7**, 45 - 51.
- Kang HG, Jang S, Chung JE, Cho YG, An G** (1997). Characterization of two rice MADS-box genes that control flowering time. *Mol Cells* **7**, 559 - 566.
- 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.
- Kempin SA, Savidge B, Yanofsky MF** (1995). Molecular basis of the cauliflower phenotype in Arabidopsis. *Science* **267**, 522 - 525.
- Kerstetter R, Vollbrecht E, Lowe B, Veit B, Yamaguchi J, Hake S** (1994). Sequence analysis and expression patterns divide the maize knotted1-like homeobox genes into two classes. *Plant Cell* **6**, 1877 - 1887.
- Kim S, Yoo MJ, Albert VA, Farris JS, Soltis PS, Soltis DE** (2004). Phylogeny and diversification of B-function MADS-box genes in angiosperms: evolutionary and functional implications of a 260-million-year-old duplication. *Am J Bot* **91**, 2102 - 2118.
- Kim S, Koh J, Ma H, Hu Y, Endress PK, Hauser BA, Buzgo M, Soltis PS, Soltis DE** (2005). Sequence and expression studies of A-, B-, and E-class MADS-box homologues in *Eupomatia* (Eupomatiaceae): support for the bracteate origin of the calyptra. *Int J Plant Sci* **166**, 185 - 198.
- Kim S, Koh J, Yoo MJ, Kong HZ, Hu Y, Ma H, Soltis PS, Soltis DE** (2005). Expression of floral MADS-box genes in basal angiosperms: implications for the evolution of floral regulators. *Plant J* **43**, 724 - 744.
- Kim M, McCormick S, Timmermans M, Sinha N** (2003). The expression domain of *PHANTASTICA* determines leaflet placement in compound leaves. *Nature* **424**, 438 - 443.
- Kofuji R, Sumikawa N, Yamasaki M, Kondo K, Ueda K, Ito M, Hasebe M** (2003). Evolution and divergence of the MADS-box gene family based on genome-wide expression analyses. *Mol Biol Evol* **20**, 1963 - 1977.
- Kotilainen M, Elomaa P, Uimari A, Albert VA, Yu D, Teeri TH** (2000). *GRCD1*, an *AGL2*-like MADS-box gene, participates in the C function during stamen development in *Gerbera hybrida*. *Plant Cell* **12**, 1893 - 1902.
- Kramer EM, Dorit RL, Irish VF** (1998). Molecular evolution of genes controlling petal and stamen development: duplication and divergence within the *APETALA3* and *PISTILLATA* MADS-box gene lineages. *Genetics* **149**, 765 - 783.
- Kramer EM, Irish VF** (1999). Evolution of genetic mechanisms controlling petal development. *Nature* **399**, 144 - 148.
- Kramer EM, di Stilio VS, Schluter PM** (2003). Complex patterns of gene duplication in the *APETALA3* and *PISTILLATA* lineages of the Ranunculaceae. *Int J Plant Sci* **164**, 1 - 11.
- Kramer EM, Jaramillo MA, di Stilio VS** (2004). Patterns of gene duplication and functional evolution during the diversification of the *AGAMOUS* subfamily of MADS-box genes in angiosperms. *Genetics* **166**, 1011 - 1023.
- Kramer EM, Hall JC** (2005). Evolutionary dynamics of genes controlling floral development. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 1 - 6.
- Kramer EM, Su HJ, Wu CC, Hu JM** (2006). A simplified explanation for the frameshift mutation that created a novel C-terminal motif in the *APETALA3* gene lineage. *BMC Evol Biol* **6**, 30 - 30.
- Krogan NT, Ashton NW** (2000). Ancestry of plant MADS-box genes revealed by bryophyte (*Physcomitrella patens*) homologues. *New phytol* **147**, 505 - 517.
- Lamb RS, Irish VF** (2003). Functional divergence within the *APETALA3/PISTILLATA* floral homeotic gene lineages. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 6558 - 6563.
- Lee I, Aukerman MJ, Gore SL, Lohman KN, Michaels SD, Weaver LM, John MC, Feldmann KA, Amasino RM** (1994). Isolation of *LUMINIDEPENDENS*: a gene involved in the control of flowering time in Arabidopsis. *Plant Cell* **6**, 75 - 83.
- Li GS, Meng Z, Kong HZ, Chen ZD, Theissen G, Lu AM** (2005). Characterization of candidate class A, B, and E floral homeotic genes from the perianthless basal angiosperm *Chloranthus spicatus* (Chloranthaceae). *Dev Genes Evol* **215**, 437 - 449.
- Liljegren SJ, Ditta GS, Eshed Y, Savidge B, Bowman JL, Yanofsky MF** (2000). *SHATTERPROOF* MADS-box genes control seed dispersal in Arabidopsis. *Nature* **404**, 766 - 770.
- Lincoln C, Long J, Yamaguchi J, Serikawa K, Hake S** (1994). A *KNOTTED1*-like homeobox gene in Arabidopsis is expressed in the vegetative meristem and dramatically alters leaf morphology when overexpressed in transgenic plants. *Plant Cell* **6**, 1859 - 1876.
- Litt A, Irish VF** (2003). Duplication and diversification in the *APETALA1/FRUITFULL* floral homeotic gene lineage: implications for the evolution of floral development. *Genetics* **165**, 821 - 833.
- Long JA, Moan EI, Medford JI, Barton MK** (1996). A member of the *KNOTTED* class of homeodomain proteins encoded by

- the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature* **379**, 66-69.
- Love AC, Raff RA** (2003). Knowing your ancestors: themes in the history of evo-devo. *Evol Dev* **5**, 327-330.
- Lu ZX, Wu M, Loh CS, Yeong CY, Goh CJ** (1993). Nucleotide sequence of a flower-specific MADS-box cDNA clone from orchid. *Plant Mol Biol* **23**, 901-904.
- Luo D, Carpenter R, Vincent C, Copsey L, Coen E** (1996). Origin of floral asymmetry in *Antirrhinum*. *Nature* **383**, 794-799.
- Luo D, Carpenter R, Copsey L, Vincent C, Clark J, Coen E** (1999). Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum*. *Cell* **99**, 367-376.
- Lukens LN, Doebley J** (2001). Molecular evolution of the teosinte branched gene among maize and related grasses. *Mol Biol Evol* **18**, 627-638.
- Ma H, Yanofsky MF, Meyerowitz EM** (1991). *AGL1-AGL6*, an *Arabidopsis* gene family with similarity to floral homeotic and transcription factor genes. *Genes Dev* **5**, 484-495.
- Macknight R, Bancroft I, Page T, Lister C, Schmidt R, Love K, Westphal L, Murphy G, Sherson S, Cobbett C, Dean C** (1997). *FCA*, a gene controlling flowering time in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-binding domains. *Cell* **89**, 737-745.
- Maes T, van de Steene N, van Montagu M, Gerats T** (1998). The *AP2*-like genes of *Petunia hybrida*. *Flowering News* **25**, 35-40.
- Malcomber ST, Kellogg EA** (2005). *SEPALLATA* gene diversification: brave new whorls. *Trends Plant Sci* **10**, 427-435.
- Mandel MA, Bowman JL, Kempin SA, Ma H, Meyerowitz EM, Yanofsky MF** (1992). Manipulation of flower structure in transgenic tobacco. *Cell* **71**, 133-143.
- Mandel MA, Gustafson-Brown C, Savidge B, Yanofsky MF** (1992). Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA1*. *Nature* **360**, 273-277.
- Mandel MA, Yanofsky MF** (1998). The *Arabidopsis AGL9* MADS-box gene is expressed in young flower primordial. *Sex Plant Reprod* **11**, 22-28.
- McGinnis W, Levine MS, Hafen E, Kuroiwa A, Gehring WJ** (1984). A conserved DNA sequence in homoeotic genes of the *Drosophila antennapedia* and *bithorax* complexes. *Nature* **308**, 428-433.
- Menzel G, Apel K, Melzer S** (1995). Isolation and analysis of *SaMADSC*, the *APETALA1* cDNA homolog from mustard. *Plant Physiol* **108**, 853-854.
- Mena M, Mandel AM, Lerner DR, Yanofsky MF, Schmidt RJ** (1995). A characterization of the MADS-box gene family in maize. *Plant J* **8**, 845-854.
- Mena M, Ambrose BA, Meeley RB, Briggs SP, Yanofsky MF, Schmidt RJ** (1996). Diversification of C-function activity in maize flower development. *Science* **274**, 1537-1540.
- Moore RC, Purugganan MD** (2005). Evolutionary dynamics of plant duplicate genes. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 122-128.
- Morgan TH** (1932). The rise of genetics. *Science* **76**, 261-288.
- Molinero-Rosales N, Jamilena M, Zurita S, Gomez P, Capel J, Lozano R** (1999). *FALSIFLORA*, the tomato orthologue of *FLORICAULA* and *LEAFY*, controls flowering time and floral meristem identity. *Plant J* **20**, 685-693.
- Mouradov A, Glassick TV, Hamdorf BA, Murphy LC, Marla SS, Yang Y, Teasdale R** (1998). Family of MADS-box genes expressed early in male and female reproductive structures of *Monterey pine*. *Plant Physiol* **117**, 55-61.
- Münster T, Pahnke J, Rosa AD, Kim JT, Martin W, Saedler H, Theissen G** (1997). Floral homeotic genes were recruited from homologous MADS-box genes preexisting in the common ancestor of ferns and seed plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 2415-2420.
- Murai K, Murai R, Ogihara Y** (1997). Wheat MADS box genes, a multigene family dispersed throughout the genome. *Genes Genet Syst* **72**, 317-321.
- Olson EN, Perry M, Schulz RA** (1995). Regulation of muscle differentiation by the *MEF2* family of MADS-box transcription factors. *Dev Biol* **172**, 2-14.
- Parcy F, Nilsson O, Busch MA, Lee I, Weigel D** (1998). A genetic framework for floral patterning. *Nature* **395**, 561-566.
- Parenicov L, de Folter S, Kieffer M, Horner DS, Favalli C, Busscher J, Cook HE, Ingram RM, Kater MM, Davies B, Angenent GC, Colombo L** (2003). Molecular and phylogenetic analyses of the complete MADS-box transcription factor family in *Arabidopsis*: new openings to the MADS world. *Plant Cell* **15**, 1538-1551.
- Passmore S, Maine GT, Elble R, Christ C, Tye BK** (1988). A *Saccharomyces cerevisiae* protein involved in plasmid maintenance is necessary for mating of MAT alpha cells. *J Mol Biol* **204**, 593-606.
- 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.
- Pinyopich A, Ditta GS, Savidge B, Liljegren SJ, Baumann E, Wisman E, Yanofsky MF** (2003). Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. *Nature* **424**, 85-88.

- Pnueli L, Abu-Abeid M, Zamir D, Nacken W, Schwarz-Sommer Z, Lifschitz E** (1991). The MADS-box gene family in tomato: temporal expression during floral development conserved secondary structures and homology with homeotic genes from *Antirrhinum* and Arabidopsis. *Plant J* **1**, 255-266.
- Pnueli L, Hareven D, Broday L, Hurwitz C, Lifschitz E** (1994). The *TM5* MADS-box gene mediates organ differentiation in the three inner whorls of tomato flowers. *Plant Cell* **6**, 175-186.
- Purugganan MD, Rounsley SD, Schmidt RJ, Yanofsky MF** (1995). Molecular evolution of flower development: diversification of the plant MADS-box regulatory gene family. *Genetics* **140**, 345-356.
- Purugganan MD** (1997). The MADS-box floral homeotic gene lineages predate the origin of seed plants: phylogenetic and molecular clock estimates. *J Mol Evol* **45**, 392-396.
- Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G** (1995). The *CONSTANS* gene of Arabidopsis promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* **80**, 847-857.
- Qiu YL, Lee J, Bernasconi-Quadroni F, Soltis DE, Soltis PS, Zanis M, Zimmer EA, Chen ZD, Savolainen V, Chase MW** (1999). The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature* **402**, 404-407.
- Reeves PA, Olmstead RG** (2003). Evolution of the *TCP* gene family in Asteridae: cladistic and network approaches to understanding regulatory gene family diversification and its impact on morphological evolution. *Mol Biol Evol* **20**, 1997-2009.
- Riechmann JL, Meyerowitz EM** (1997). MADS domain proteins in plant development. *Biol Chem* **378**, 1079-1101.
- Riechmann JL, Meyerowitz EM** (1998). The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biol Chem* **379**, 633-646.
- Rounsley SD, Ditta GS, Yanofsky MF** (1995). Diverse roles for MADS-box genes in Arabidopsis development. *Plant Cell* **7**, 1259-1269.
- Rutledge R, Regan S, Nicolas O, Fobert P, Côté C, Bosnich W, Kauffeld C, Sunohara G, Séguin A, Stewart D** (1998). Characterization of an *AGAMOUS* homologue from the conifer black spruce (*Picea mariana*) that produces floral homeotic conversions when expressed in Arabidopsis. *Plant J* **15**, 625-634.
- Sander K** (2002). Ernst Haeckel's ontogenetic recapitulation: irritation and incentive from 1866 to our time. *Ann Anat* **184**, 523-533.
- Sattler R, Ritishauser R** (1992). Partial homology of pinnate leaves and shoots: orientation of leaflet inception. *Bot Jahrb Syst Pflanzengesch Pflanzengeogr* **114**, 61-79.
- Savidge B, Rounsley SD, Yanofsky MF** (1995). Temporal relationship between transcription of two Arabidopsis MADS-box genes and the floral organ identity genes. *Plant Cell* **7**, 721-733.
- Schwarz-Sommer Z, Huijser P, Nacken W, Saedler H, Sommer H** (1990). Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus*. *Science* **250**, 931-936.
- Schwarz-Sommer Z, Hui I, Huijser P, Flor PJ, Hansen R, Tetens F, Lönning WE, Saedler H, Sommer H** (1992). Characterization of the *Antirrhinum* floral homeotic MADS-box gene *deficiens*: evidence for DNA binding and autoregulation of its persistent expression throughout flower development. *EMBO J* **11**, 251-261.
- Schmidt RJ, Veit B, Mandel MA, Mena M, Hake S, Yanofsky MF** (1993). Identification and molecular characterization of *ZAG1*, the maize homolog of Arabidopsis floral homeotic gene *AGAMOUS*. *Plant Cell* **5**, 729-737.
- Schmidt RJ, Ambrose BA** (1998). The blooming of grass flower development. *Curr Opin Plant Biol* **1**, 60-67.
- Scott MP, Weiner AJ, Hazelrigg TI, Polisky BA, Pirrotta V, Scalenghe F, Kaufman TC** (1983). The molecular organization of the Antennapedia locus of *Drosophila*. *Cell* **35**, 763-776.
- Scott MP, Weiner AJ** (1984). Structural relationships among genes that control development: sequence homology between the Antennapedia, Ultrabithorax, and fushi tarazu loci of *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* **81**, 4115-4119.
- Shan HY, Su KM, Lu WL, Kong HZ, Chen ZD, Meng Z** (2006). Conservation and divergence of candidate class B genes in *Akebia trifoliata* (Lardizabalaceae). *Dev Genes Evol* **216**, 785-795.
- Shepard KA, Purugganan MD** (2002). The genetics of plant morphological evolution. *Curr Opin Plant Biol* **5**, 49-55.
- Shigyo M, Hasebe M, Ito M** (2006). Molecular evolution of the *AP2* subfamily. *Gene* **366**, 256-265.
- Shore P, Sharrocks AD** (1995). The MADS-box family of transcription factors. *Eur J Biochem* **229**, 1-13.
- Sinha NR, Williams RE, Hake S** (1993). Overexpression of the maize homeo box gene, *KNOTTED-1*, causes a switch from determinate to indeterminate cell fates. *Genes Dev* **7**, 787-795.
- Soltis PS, Soltis DE, Chase MW** (1999). Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* **402**, 402-404.
- Soltis PS, Soltis DE, Zanis MJ, Kim S** (2000). Basal lineages of

- angiosperms: relationships and implications for floral evolution. *Int J Plant Sci* **161**, 97 - 107.
- Soltis PS, Soltis DE** (2004). The origin and diversification of angiosperms. *Am J Bot* **91**, 1614 - 1624.
- Sommer H, Beltrán JP, Huijser P, Pape H, Lönning WE, Saedler H, Schwarz-Sommer Z** (1990). *Deficiens*, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. *EMBO J* **9**, 605 - 613.
- Stellari GM, Jaramillo MA, Kramer EM** (2004). Evolution of the *APETALA3* and *PISTILLATA* lineages of MADS-box-containing genes in the basal angiosperms. *Mol Biol Evol* **21**, 506 - 519.
- Takhtajan A** (1991). *Evolutionary Trends in Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Tandre K, Albert VA, Sundas A, Engström P** (1995). Conifer homologues to genes that control floral development in angiosperms. *Plant Mol Biol* **27**, 69 - 78.
- Tanabe Y, Hasebe M, Sekimoto H, Nishiyama T, Kitani M, Henschel K, Munster T, Theissen G, Nozaki H, Ito M** (2005). Characterization of MADS-box genes in charophycean green algae and its implication for the evolution of MADS-box genes. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 2436 - 2441.
- Tandre K, Svenson M, Svensson ME, Engström P** (1998). Conservation of gene structure and activity in the regulation of reproductive organ development of conifers and angiosperms. *Plant J* **15**, 615 - 624.
- Taylor S, Hofer J, Murfet I** (2001). *Stamina pistilloida*, the pea ortholog of *Fim* and *UFO*, is required for normal development of flowers, inflorescences and leaves. *Plant Cell* **13**, 31 - 46.
- Taylor SA, Hofer JMI, Murfet IC, Sollinger JD, Singer SR, Knox MR, Ilis THN** (2002). *PROLIFERATING INFLORESCENCE MERISTEM*, a MADS-box gene that regulates floral meristem identity in pea. *Plant Physiol* **129**, 1150 - 1159.
- Theissen G, Saedler H** (1995). MADS-box genes in plant ontogeny and phylogeny: Haeckel's 'biogenetic law' revisited. *Curr Opin Genet Dev* **5**, 628 - 639.
- Theissen G, Strater T, Fischer A, Saedler H** (1995). Structural characterization, chromosomal localization and phylogenetic evaluation of two pairs of *AGAMOUS*-like MADS-box genes from maize. *Gene* **156**, 155 - 166.
- Theissen G, Kim J, Saedler H** (1996). Classification and phylogeny of the MADS-box multigene family suggest defined roles of MADS-box gene subfamilies in the morphological evolution of eukaryotes. *J Mol Evol* **43**, 484 - 516.
- Theissen G, Becker A, di Rosa A, Kanno A, Kim JT, Münster T, Winter KU, Saedler H** (2000). A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Mol Biol* **42**, 115 - 149.
- Theissen G** (2000). Shattering developments. *Nature* **404**, 711 - 713.
- Theissen G** (2001). Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Curr Opin Plant Biol* **4**, 75 - 85.
- Theissen G, Saedler H** (2001). Floral quartets. *Nature* **409**, 469 - 471.
- Theissen G, Becker A, Winter KU, Münster T, Kirchner C, Saedler H** (2002). How the land plants learned their floral ABCs: the role of MADS-box genes in the evolutionary origin of flowers. In: Cronk QCB, Bateman RM, Hawkins JA, eds. *Developmental Genetics and Plant Evolution*. London: Taylor & Francis. pp. 173 - 205.
- Timmermans MCP, Hudson A, Becraft PW, Nelson T** (1999). *ROUGH SHEATH2*: a myb protein that represses *KNOX* homeobox genes in maize lateral organ primordia. *Science* **284**, 151 - 153.
- Trübner W, Ramirez L, Motte P, Hue I, Huijser P, Lönning WE, Saedler H, Sommer H, Schwarz-Sommer Z** (1992). *GLOBOSA*: a homeotic gene which interacts with *DEFICIENS* in the control of *Antirrhinum* floral organogenesis. *EMBO J* **11**, 4693 - 4704.
- Tsiantis M, Schneeberger R, Golz JF, Freeling M, Langdale JA** (1999). The maize rough *SHEATH2* gene and leaf development programs in monocot and dicot plants. *Science* **284**, 154 - 156.
- Uimari A, Kotilainen M, Elomaa P, Yu D, Albert VA, Teeri TH** (2004). Integration of reproductive meristem fates by a *SEPALLATA*-like MADS-box gene. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**, 15817 - 15822.
- Vandenbussche M, Theissen G, van de Peer Y, Gerats T** (2003). Structural diversification and neo-functionalization during foral MADS-box gene evolution by C-terminal frame-shift mutations. *Nucleic Acids Res* **31**, 4401 - 4409.
- Vandenbussche M, Zethof J, Royaert S, Weterings K, Gerats T** (2004). The duplicated B-class heterodimer model: whorl-specific effects and complex genetic interactions in *Petunia hybrida* flower development. *Plant Cell* **16**, 741 - 754.
- Vrebalov J, Ruezinsky D, Padmanabhan V, White R, Medrano D, Drake R, Schuch W, Giovannoni J** (2002). A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato *Ripening-Inhibitor (Rin)* locus. *Science* **296**, 343 - 346.
- Wagner D, Sablowski RWM, Meyerowitz EM** (1999). Transcriptional activation of *APETALA1* by *LEAFY*. *Science* **285**, 582 - 584.

- Waites R, Selvadurai HR, Oliver IR, Hudson A** (1998). The *PHANTASTICA* gene encodes a myb transcription factor involved in growth and dorsoventrality of lateral organs in *Antirrhinum*. *Cell* **93**, 779-789.
- Weigel D, Alvarez J, Smyth DR, Yanofsky MF, Meyerowitz EM** (1992). *LEAFY* controls floral meristem identity in Arabidopsis. *Cell* **69**, 843-859.
- Weigel D, Meyerowitz EM** (1994). The ABC's of floral homeotic genes. *Cell* **78**, 203-209.
- Winter KU, Becker A, Münster T, Kim JT, Saedler H, Theissen G** (1999). MADS-box genes reveal that gnetophytes are more closely related to conifers than to flowering plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 7342-7347.
- Winter KU, Saedler H, Theissen G** (2002a). On the origin of class B floral homeotic genes: functional substitution and dominant inhibition in Arabidopsis by expression of an ortholog from the gymnosperm *Gnetum*. *Plant J* **31**, 457-475.
- Winter KU, Weiser C, Kaufmann K, Bohne A, Kirchner C, Kanno A, Saedler H, Theissen G** (2002b). Evolution of class B floral homeotic proteins: obligate heterodimerization originated from homodimerization. *Mol Biol Evol* **19**, 587-596.
- Yanofsky MF, Ma H, Bowman JL, Drews GN, Feldman KA, Meyerowitz EM** (1990). The protein encoded by the Arabidopsis homeotic gene *AGAMOUS* resembles transcription factors. *Nature* **346**, 35-39.
- 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.
- Zahn LM, Leebens-Mack JH, Arrington JM, Hu Y, Landherr LL, Depamphilis CW, Becker A, Theissen G, Ma H** (2006). Conservation and divergence in the *AGAMOUS* subfamily of MADS-box genes: evidence of independent sub- and neofunctionalization events. *Evol Dev* **8**, 30-45.
- Zanis MJ, Soltis DE, Soltis PS, Mathews S, Donoghue MJ** (2002). The root of the angiosperms revisited. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 6848-6853.

Foundation and Current Progress of Plant Evolutionary Developmental Biology

Jian Zhang*, Guixia Xu, Haoyue Xue, Jin Hu

State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100093, China

Abstract The discipline plant evolutionary developmental biology has emerged over the last 10 years. It is a major clade of evolutionary developmental biology or evo-devo. Evo-devo has been established step by step, with integration of evolutionary biology and embryology, genetics and developmental biology. The discipline has its origin in comparative embryology founded by von Baer in the early nineteenth century. Following a quiescent period of almost one century, evo-devo erupted out of the discovery of the homeobox genes in the early 1980s and the proposal of the floral ABC model in the early 1990s, in addition to the flourishing research on developmental genes. Evo-devo has become one of the hot topics in life sciences in the twenty-first century. In this article, we review the history of evo-devo, and then focus on the progress of plant evolutionary developmental biology in the last 10 years. We mainly introduce studies on the MADS-box genes that play a key role in revealing plant development in the major clades of plants. Moreover, we discuss the implications of such important evolutionary issues as perianth origin, flower symmetry, and leaf evolution.

Key words evolutionary developmental biology, angiosperms, MADS-box, gene family, phylogeny

Zhang J, Xu GX, Xue HY, Hu J (2007). Foundation and current progress of plant evolutionary developmental biology. *Chin Bull Bot* **24**, 1-30.

* Author for correspondence. E-mail: jian980@126.com

