

DOI:10.11937/bfyy.201511046

植物 *MADS-box* 基因多样性及进化研究进展

赵兴富¹, 朱永平², 肖靖译¹, 贾蓉¹, 江周¹, 和凤美¹

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要: *MADS-box* 基因是一类序列特异的调节基因家族, 在植物生长发育和信号传导过程中起着重要的作用。现综述了 *MADS-box* 基因特性、功能、进化等方面的研究进展, 有助于深入了解基因重复及随后其功能分化的过程和机制, 对于解释物种起源、遗传、演化乃至资源保护利用具有重要的理论指导意义, 并探讨了 *MADS-box* 基因将来的发展趋势。

关键词: *MADS-box* 基因; 花器官; ABCDE 模型

中图分类号: Q 943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2015)11-0180-07

MADS-box 基因是一类重要的转录因子, 在植物生长发育和信号传导过程中起着重要的作用, 如控制开花时间、花器官形态建成和决定分生组织特性等。该基因家族在进化过程中经历了一系列的基因重复事件, 导致了基因的亚功能化和新功能化, 使植物形态产生多样性。现从现代分子发育生物学的角度出发, 综述了 *MADS-box* 基因家族系统发育历史及基因进化过程, 有助于深入了解基因重复及随后其功能分化的过程和机制, 对于解释物种起源、遗传、演化乃至资源保护利用具有重要的理论指导意义。

1 *MADS-box* 基因特性与功能

1.1 *MADS-box* 基因的由来

MADS-box 是一类古老的基因家族, 广泛存在于动物、植物和真菌中, 其名称来源于 4 种蛋白质因子 MCN (酿酒酵母)、AGAMOUS (拟南芥)、DEFICIENS (金鱼草) 和 SRF (人类) 的首字母缩写^[1]。这 4 种蛋白质的 N 端具有一个由 56~58 个氨基酸组成的高度保守区结构域, 可识别特异的 DNA 序列, 称为 *MADS-box* 结构域, 简称 M 结构域。所有含有这一保守序列的蛋白质因子统称为 *MADS-box* 基因家族^[2-3]。

1.2 *MADS-box* 基因的分类

MADS-box 基因分为 type I 和 type II 2 个谱系, 它们都含有一个高度保守的 M 结构域。这 2 种类型的基因可能是在大约 10 亿年前植物、动物和真菌分化之前的一次基因重复事件产生的^[4-5]。

在动物和真菌的 I 型中, *MADS-box* 基因包括 ARG80/SRF-like 基因, 在植物中为 M 型 *MADS-box* 基因; II 型 *MADS-box* 基因在动物和真菌中为 MEF2 型基因, 植物中为 MIKC 型基因。根据 I 区序列结构的差异, MIKC 型又可以分为 MIKC 和 MIKC* 2 个类型。在拟南芥中分为五大类: $M\alpha$ 、 $M\beta$ 、 $M\gamma$ 、 $M\delta$ 、MIKC 型基因^[6]。其中 $M\alpha$ 、 $M\beta$ 、 $M\gamma$ 属于 I 型 *MADS-box* 基因, $M\delta$ 和 MIKC 分别属于 II 型中的 MIKC* 型和 MIKC 型基因。MIKC* 型基因也进一步的被分为 P 类和 S 类, 目前拟南芥中分离得到的 P 类和 S 类的基因分别为: AGL30、AGL65、AGL94 和 AGL66、AGL67、AGL104^[7]。Puruganan 等^[8]也根据植物进化过程中系统发育关系, 将来源不同的 *MADS-box* 基因进行了分类, 将其分为 AG、AP/AGL9、AP3、PI 和 Orphan 5 个类群。

1.3 *MADS-box* 基因蛋白的结构特征

目前, I 型的 *MADS-box* 基因功能研究较少; 研究较为广泛都是 II 型 (MIKC 型) *MADS-box* 基因。植物 I 型 *MADS-box* 基因通常含有 1~2 个外显子, 没有或含有 1 个内含子, 编码蛋白质含有 1 个高度保守的 SRF-like MADS 结构域, 缺少 K 结构域^[3]。植物 II 型 *MADS-box* 基因除具有高度保守的 M 以外, 还有 I、K 和 C 结构域。大部分 MIKC 型 *MADS-box* 基因含有 6 个内含子和 7 个外显子, 有的也含有 7 个内含子和 8 个外显子。通常情况下, 位于 N 端的外显子 1 编码 M 结构域; 外显子 3~

第一作者简介: 赵兴富 (1988-), 男, 云南大理人, 硕士研究生, 现主要从事园林遗传育种等研究工作。E-mail: zhaoxingfu12@126.com

责任作者: 和凤美 (1964-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事园林遗传育种等研究工作。E-mail: hefengmei918@126.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31460528)。

收稿日期: 2015-03-04

5 编码半保守的 K 结构域,而最后的 2~3 个外显子编码 C-末端,但是有少部分植物的基因结构可能略有差别,如金鱼草的 *DEFH125*、*SQUA* 基因^[9]。M 结构域具有核心序列 CC(A/T)₆GG(称为 CA₆G 盒),主要与特异的 DNA 结合,有时也可以形成二聚体或与辅助因子进行结合;I 结构域位于 MADS 结构域和 K 结构域之间,大约有 30 多个氨基酸组成并含有较多亲水残基的非保守区域,主要决定转录因子与 DNA 的特异性结合;K 结构域位于 I 和 C 结构域之间,是植物转录因子的特有结构,由 70 个氨基酸组成,是一个次级保守区,其一级结构与角蛋白部分同源而得名,二级结构分析表明 K 结构域能折叠成 3 个两性 α 螺旋,分别为 K1、K2、K3,以便于 MADS-box 蛋白之间形成二聚体,介导蛋白质间的相互作用来共同调控目标基因的表达^[10]。C-末端则位于 K 结构域下游,属于序列和长度最不保守的区域,由疏水氨基酸组成,主要在蛋白复合体的形成和转录激活中起重要作用。

1.4 植物 MADS-box 基因的生物学功能

MADS-box 基因是一类非常重要的转录调控因子,在植物生长发育和信号传导中起着关键性作用。MADS-box 基因表现出了功能的多样性,它调节着植物根、叶、花和果实的发育,特别在花分生组织和花器官中表达。此外,也有研究表明 MADS-box 基因的表达也与胚形态建成^[11]、共生诱导^[12]和抗逆境^[13-14],参与决定开花时间等有关。目前研究最为清楚的是 MADS-box 基因与花器官发育之间的关系,即著名的 ABCDE 模型。

基于对拟南芥和金鱼草的同源性突变体的研究,Coen 等^[15]提出了经典的“ABC 模型”,该模型认为:四轮花器官(由外到内分别为萼片、花瓣、雄蕊、心皮)的发育由功能重叠的 3 类基因 A、B 和 C 来调控。A 类基因决定着萼片的形成;A 和 B 类基因决定花瓣的形成;B 和 C 类基因决定雄蕊的形成;C 类基因单独决定心皮的形成。除此之外,A 和 C 类基因相互抑制,且 B 类基因的功能仅限于花的第二轮和第三轮而不依赖于 A 和 C 类基因的功能。如果决定每轮花器官中的一个基因丧失了功能,则另一组的基因功能将替代它的位置。

随着研究的深入,科学家发现在矮牵牛中还存在决定胎座和胚珠中央分生组织的 MADS-box 基因 *FBP7* 和 *FBP11*^[16]。Angenent 等^[17]将其命名为 D 类基因,在拟南芥中相对应的基因为 *AGL11* 等。后来又在拟南芥中发现了一类功能冗余的 E 类基因 *SEPALLATA 1/2/3* (*SEP1/2/3*)^[18-19]。并证明它与 A、B、C、D 功能基因一起调控花器官的发育^[20]。当然,在这些功能基因中,除了 *AP2* 基因以外,其它都属于 MADS-box 基因。至此,由原来简单的“ABC 模型”延伸出了较为复杂的“ABCDE 模型”(图 1)。

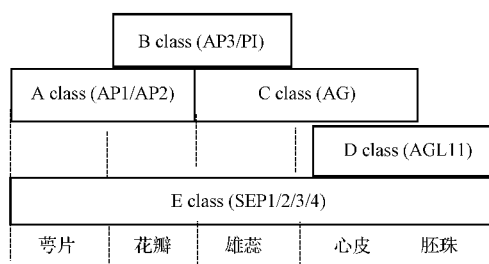


图 1 拟南芥花器官发育的“ABCDE 模型”及基因(引自 Sangtae, 2005)

Fig. 1 The ‘ABCDE model’ of *Arabidopsis thaliana* flower organ development and gene(Sangtae, 2005)

2 MADS-box 基因在植物中的进化研究

2.1 MADS-box 基因在低等植物中进化

到目前为止,在地衣中并没有发现 MADS-box。苔藓中仅在剑叶藓(*Physcomitrella patens*)中分离到了 9 个 MADS-box 基因,经系统发育重建和结构比较分析得出:PPM1、PPM2 和 *PpMADS1* 属于 MIKC^{*} 型;PPM3、PPM4、PPM6、PPM7、*PpMADS2* 和 *PpMADS3* 属于 MIKC^{*} 型。有趣的是在 MIKC^{*} 型中 PPM6 和 PPM7 基因与其它基因有所不同,它们编码的蛋白质具有较长的 I 结构域和保守型较差的 K 结构域^[21-22]。研究者也从 3 种淡水轮藻中分离到 MADS-box 基因,如球状轮藻(*Chara globularis*)的 *CgMADS1*、鞘毛藻(*Coleochaete scutata*)的 *CsMADS1* 和带藻(*Closterium peracerosum-strigosum-littorale*)的 *CpMADS1*。经过序列分析表明,它们都属于 MIKC^{*} 型基因。Graham 等^[23]也经过形态和分子系统发育分析表明,陆生植物为单系类群,与淡水轮藻互为姐妹群。由此可见,MIKC^{*} 型基因已经存在于藻类和陆生植物的共同祖先中,通过表达样式分析,推测陆生植物祖先中的 MADS-box 基因可能是单功能基因,主要参与生殖细胞的分化。当轮藻类与陆生植物分开后,通过基因重复使陆生植物的 MADS-box 基因的拷贝数不断增加,进而使植物进一步发生进化^[24]。

综上所述,在苔藓和淡水轮藻中都拥有 MIKC^{*} 型基因,而苔藓类植物中除了 MIKC^{*} 外还存在 MIKC^{*} 型基因。目前大多数种子植物中分离到的 MADS-box 基因为 MIKC^{*} 型,少数兼有 MIKC^{*} 和 MIKC^{*} 2 种类型,如拟南芥^[6-7]、水稻^[25]。由此推测 MIKC^{*} 和 MIKC^{*} 型基因可能存在于苔藓类和维管束植物的共同祖先当中,并在 4.5 亿年前经过基因的复制并分歧之后得到了至今存在的苔藓和维管束植物。

2.2 MADS-box 基因在蕨类植物中的进化

迄今为止,蕨类植物的 MADS-box 基因主要集中在较为原始的薄囊蕨类的水蕨属(*Ceratopteris*)、厚囊蕨类的瓶尔小草属(*Ophioglossum*)和石松中,其中瓶尔小草

属相对于水蕨来说亲缘关系较远。目前已经从不同水蕨的不同发育阶段和不同植物组织的 mRNA 中分离出了 15 个 *MADS-box* 基因,它们与典型的种子植物 *MIKC* 结构域具有很高的同源性,编码蛋白质有 M、I、K 和 C 结构域,因此,把它归入到 *MIKC* 型的 *MADS-box* 基因中。而对瓶尔小草属进行 cDNA 克隆分析,得到 4 种不同的基因 *OPM1*、*OPM3*、*OPM4* 和 *OPM5*^[26],系统发育重建分析发现,水蕨的 *MADS-box* 基因由 3 类基因亚族构成,即 *CRM1*、*CRM3* 和 *CRM6* 基因,它们分别排列在种子植物的基因亚族中^[27]。对于瓶尔小草属中发现的 *OPM1* 和 *OPM3-OPM5* 基因^[26],它们不属于任何一种已知种子植物的基因亚族,除了 *OPM3* 和 *OPM4* 以外,*OPM1* 和 *OPM5* 可能分别属于 *CRM7* 和 *CRM6* 类基因,而 *CRM6* 和 *CRM7* 类基因可能已在蕨类进化的早期形成。至此可推测,蕨类植物与种子植物的共同祖先中存在不同类型的 *MIKC* 型 *MADS-box* 基因,它们经过多次独立复制而产生。基因重复的多样性可能使 *MIKC* 类基因变得多样,致使蕨类植物和种子植物多样化。石松(*Lycopodium annotinum*)也是蕨类植物,目前已在石松的孢子体中分离到了 *MADS-box* 基因 *LAMB1*。*LAMB1* 基因只在孢子叶球上表达,其 M 结构域和 K 结构域之间的外显子(有时为内含子)和 C-端的结构和长度与其它蕨类植物有所不同。经系统发生重建分析表明 *LAMB1* 基因与其它植物的 *MADS-box* 基因没有任何联系,它并不是种子植物的花同源异型基因,可能是 *MADS-box* 基因树的一个基部分支^[28]。

近年来,人们用来源于拟南芥和金鱼草同源异型基因的引物或探针对水蕨属、瓶尔小草属乃至石松进行研究,并没有发现蕨类植物中的 *MADS-box* 基因与种子植物花同源异型基因属于同一进化枝,可能是因为蕨类植物的生活周期中没有花被片、雄蕊、心皮和胚珠等种子植物所特有的器官。目前,未能得到蕨类植物 *MADS-box* 基因的突变体和转基因植株。用 Northern 杂交和 mRNA 原位杂交的方法对水蕨的 *MADS-box* 基因进行研究发现,大部分基因均可以在蕨类生活周期中的配子体和孢子体中表达,而只有 *CRM9* 和 *CRADS1* 在孢子体中的表达多于配子体^[26-27]。综上所述,蕨类植物的 *MADS-box* 基因普遍控制着发育和细胞分化的功能,然而不像被子植物决定花器官形成的同源异型基因一样受到严格的时间和空间限制。

除此之外,蕨类植物还具有非典型植物的 *MADS-box* 基因特征,大部分水蕨 *MADS-box* 基因的最初转录产物都会发生选择性剪接,如 *CRM1*、*CRM4*、*CRM6* 和 *CRM9* 基因的转录产物。在现已经报道的 *MIKC* 类基因中,能发生选择性剪接的只有蕨类植物,它是一个特例。但是对于动物来说,选择性剪接非常典型,如 *MEF2* 类

MADS-box 基因;当然也有在玉米中分离到的 *MADS-box* 基因的转座子类元件也有选择性剪接。因此可以说明,选择性剪接可能是代表着一个 *MADS-box* 基因产生不同蛋白质多样性的古老机制,而针对种子植物来说,这一机制可能退化。另外大部分蕨类的 cDNA 能编码(N) *MIKC* 类蛋白,但是几个与 *MADS-box* 基因有高度同源性的 cDNA 包括 *CRM11*、*CRM15* 和 *CMADS5* 在内的基因没有连续的阅读框^[27]。蕨类植物的 *MADS-box* 还有一个特点就是 *CRM9* mRNA 只存在于细胞核中,不能被转移,因此,*CRM9* 可能是一种非功能基因^[29]。

对现存的蕨类植物和种子植物系统发育树的重建可以找到它们较近的祖先。它们的祖先可能没有种子植物具有的花器官或者胚珠,但是它们又与蕨类植物很像,具有裸露的孢子囊和独立的配子体世代,它们可能具有多个 *MIKC* 型的 *MADS-box* 基因,而这些基因可以在它们祖先生活的整个周期内普遍表达,在发育和细胞分化的转录调控中起着重要的作用^[29],但没有遵行花器官发育的“ABCDE 模型”。

2.3 *MADS-box* 基因在裸子植物中的进化

目前,对裸子植物的 *MADS-box* 基因的研究集中在松柏类、买麻藤类、苏铁类和银杏类。而苏铁类和银杏类中只得到了少数 *MADS-box* 基因的 cDNA。松柏类植物主要集中在云杉属(*Picea abies*、*Picea mariana*)和松属(*Pinus radiata*、*Pinus resinosa*)^[30-31]。经系统进化树分析研究表明,从松柏类中得到的 *MADS-box* 基因的 cDNA 属于被子植物的基因亚族: *AG*、*AGL2*、*AGL6*、*DEF*、*GLO* 和 *TM3*。经过基因表达证明,大部分松柏类植物 *MADS-box* 基因在雌雄球果中均有转录,也有在营养器官中表达。挪威云杉 *DAL2* 和黑云杉 *SAG1* 基因具有 C 和 D 功能基因的作用。经过系统发生重建与基因克隆显示,裸子植物云杉属中也存在 *DEF/GLO* 类基因。由此可推测决定裸子植物生殖器官特征的基因可能是 *DAL2/SAG1* 与 *DEF/GLO* 基因中的一个或者多个基因相互作用的结果^[29]。经证实这些基因与 C 功能更为接近,而不是 D 功能基因。这可能是因为决定胚珠特征的基因比决定雄蕊和心皮特征的 *AG* 基因较为古老和原始,它们最初的功能也许是区分珠鳞、胚珠等生殖器官和苞鳞等营养器官。被子植物中 C、D 功能基因的形成,可能是基因重复、加倍或者分化所造成的。目前,研究者在裸子植物中也发现了 *SEP* 类基因^[32]。这说明 *SEP* 类基因已经存在于被子植物和裸子植物的最近共同祖先当中,距今有 3 亿年历史^[33]。

买麻藤类植物与被子植物有许多相似的解剖学特征,一般认为是被子植物的近亲。但是以分子序列为基础的系统发育分析表明,买麻藤类植物与现存的松柏类植物亲缘关系比被子植物较近。目前,人们已经克隆到

了 13 个显轴买麻藤(*Gnetum gnemon*)的 *MADS-box* 基因,即 GGM1-13。经过系统发生重建表明有 7 个基因(GGM4,5,6,7,8,10,13)是属于新的基因亚族。其余 6 个基因(GGM1,2,3,9,11,12)属于被子植物基因亚族,如 *STMADS11*、*TM3*、*DEF/GLO*、*AG* 和 *AGL6* 等。裸子植物中分离到的第一个 *DEF/GLO* 类的基因是 GGM2,它是 B 功能基因 *DEF/GLO* 的直向同源基因,它的外显子、内含子的结构比被子植物的 *DEF/GLO* 类基因结构较为原始。在挪威云杉和蒙特尔松也分离到了 *DEF/GLO* 类基因。经过系统发生重建表明,GGM2 基因虽然是被子植物的基因亚族,但是买麻藤类的基因总是和松柏类植物的基因形成一个亚族。GGM13 与 GGM2 结构相类似,但是与被子植物的 *DEF/GLO* 基因亲缘关系较远^[34]。由此可见,买麻藤类和松柏类植物的亲缘关系较近。

基于前人的研究和系统发生重建表明,现存的裸子植物和被子植物最近的一个共同祖先可能存在着 7 种不同的 *MADS-box* 基因,它们分别是 *AG*、*AGL2*、*AGL6*、*DEF/GLO*、*GGM13*、*STMADS11* 和 *TM3*。这些大部分基因可能与生殖器官的特征形成有关。经研究表明裸子植物中已有 *DEF/AP3* 和 *GLO/PI* 类基因存在,说明裸子植物和被子植物在没有分化之前就存在 B 类基因^[35]。而 B 类基因在裸子植物和被子植物的雄性生殖器官中表达,可推断 B 类在所有种子植物中都有原始的性别分化功能,甚至用原始的 B 功能来决定雄性和雌性生殖器官,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^[21]。

2.4 *MADS-box* 基因在被子植物中的进化研究

2.4.1 *MADS-box* 基因在基部被子植物中进化 在基部被子植物的研究中,Kramer 等^[36]从木兰类双子叶植物中克隆到了 *AP3*、*PI* 的同源基因,序列比较分析认为,双子叶植物 *AP3* 类基因在自己的体系内部发生了基因重复事件,而 *PI* 类基因未产生重大的基因重复。Kim 等^[37]对 ANITA 类群和木兰类植物进行了研究,发现 *AP1* 在花器官和叶片中普遍表达,而 *AP3/PI* 在花器官中普遍表达,*AG* 的同源基因在心皮和雄蕊中表达。说明这类植物的 *MADS-box* 基因表达具有广泛性和多样性。Li 等^[38]在金粟兰中分离到了 *AP1* 类基因 *CsAP1*,经过研究表明,*CsAP1* 也在花和花序中普遍表达。胡金勇^[39]则对被子植物基部类群古草本三白草(*Saururus chinensis* Baill.)和细辛(*Asarum caudigerum* Hance.)进行了研究,得到 9 个与花发育过程相关的 *MADS-box* 基因,其中 3 个来自三白草,分别为 *ScM-1*、*ScM-2* 和 *ScM-3*。其余 6 个来自细辛为 *AcM-1* 到 *AcM-6*。经过原位杂交等技术研究和系统重建表明,*ScM-1* 和 *AcM-1* 属于 *SQUA* 亚族基因并处于整个亚族的基部,它们具某些典型结构和转录表达模式,表示出功能的多样性。*SQUA*

亚族可以分为 2 个分支,其祖先可能出现在被子植物分化成单子叶植物和双子叶植物 2 个类群之前;从第一个 *SQUA* 亚族基因的出现到真双子叶植物的 *SQUA* 亚族基因,可能经历了一个从复杂到具体、从泛化到特异的一个进化过程。虽然被子植物基部类群已经具有 A、B、C 功能的同源基因,但是这些基因的表达具有广泛性和多样性。它们有可能不适合“ABCD 模型”。

2.4.2 单子叶植物 *MADS-box* 基因 单子叶植物的花的结构多样,是研究植物花器官进化发育的重要材料。近年来,*MADS-box* 基因除了在禾本科作物(水稻、玉米等)研究之外,在观赏植物(兰花、百合等)上也取得了一定的研究进展。单子叶植物中分离到的第一个 *MADS-box* 基因来自于兰花^[40]。兰花表现出高度特异的形态、结构和生理特性^[41],它作为单子叶植物花发育的模式植物而得到更多研究。对兰花的 B 功能基因 *DEF/AP3* 研究较多,经过 Mondragon-Palomino 等^[42]对兰花的系统进化分析研究,认为兰花 *DEF* 类基因在早期经过了 2 轮的复制形成了 4 类基因,并提出了兰花发育的“orchid code”假说,认为第一和第二类基因控制着花瓣状的萼片;第一、第二和第三类基因控制着侧瓣的形成;4 类基因一起控制着唇瓣的形成,并推测萼片与侧瓣的区别是由第三类基因的差异表达引起,侧瓣与唇瓣的差别是由第四类基因的差异表达引起的。后来,Mondragon-Palomino 等^[43]又对该假说进行了修订,认为第一和第二类基因的高水平表达及第三、第四类基因的低水平表达决定了内部横向花被的发育;第一和第二类基因的低水平表达及第三、第四类基因的高水平表达决定了唇瓣的发育。Pan 等^[44]对 4 个兰花亚科的 B 功能基因进行了研究,提出了兰花花被形态发生的 HOT(Homeotic Orchid Tepal)模型,并认为兰花萼片的发育由 *PI* 和 *AP3B* 分化支决定;侧瓣的发育由 *PI*、*AP3A1* 和 *AP3B* 分化支共同决定;唇瓣的发育由 *PI*、*AP3A1*、*AP3A2* 分化支和其它的 *MADS-box* 基因共同决定。当然,兰科植物的种类很多,而这些“orchid code”假说或者 HOT 模型是否适合于所有的兰科植物,仍需进一步的研究。除了在兰花中分离到了 B 功能基因以外,还克隆到了与 A、C、D 和 E 相应的功能基因,这些大部分功能基因的表达呈现了功能基因的多样性,表现出了较为复杂的 ABCDE 模型。除了兰花以外,在玉米、水稻等单子叶植物禾本科中也分离到了 *MADS-box* 基因,并取得了相应的进展。Theissen 等^[45-46]在玉米中克隆到了拟南芥 *AG* 基因的同源基因 *ZAG1/ZMM2* 和 *ZAG2/ZMM1*,并认为这 2 类基因是经过基因重复事件而产生的。其中 *ZAG1* 在雌、雄蕊原基中表达,*ZMM2* 与 *ZAG1* 具有很高的序列相似性,是 *AGL1* 型基因^[47]。经过表达分析表明 *ZAG1* 对心皮的发育尤为重要。而 *ZMM2* 经过系统发生重建说明,它与

水稻的 *OsMADS3* 形成了一个基因亚族,除了 *ZAG1* 外, *ZMM2*、*OsMADS3* 和它们的复制位点具有禾本科植物 C 基因功能^[29]。*ZAG2* 是玉米 *MADS-box* 中的 D 功能基因,控制着胚珠的发育,在胚珠和心皮的内表面特异表达^[48]。此外,还从玉米中得到了 *AGL6* 的直系同源基因和 *AP1* 的同源基因,它们分别是 *ZAG3*、*ZAG* 和 *ZAP15*^[49]。水稻基因组约有 70 多个 *MADS-box* 基因,现分离到的 34 个 *MADS-box* 基因中,控制着花发育的基因有 15 个,除了 A 类基因的 *OsmADS20* 和 C/D 功能基因的 *OsmADS21* 以外,其它均有相关功能的报道^[50]。E 类基因系统进化分析表明,E 类基因分为 3 个分支;*OsmADS1* 和 *OsmADS5* 为一个分支;*OsmADS7* 和 *OsmADS8* 为一个分支;*OsmADS34* 为单独一支^[33,50-51]。百合科植物具有花大而简单的结构^[21]。为解释百合科植物花器官发育的形态, van Tunen 等^[52] 在原来的“ABC 模型”上提出了修正的“ABC 模型”。该模型认为 B 功能基因不仅仅只在花器官的第二和第三轮中表达,还在第一轮中表达。所以百合的第一和第二轮花器官具有相同的花瓣状结构。人们对岷山百合(*Lilium regale*)^[53]、郁金香(*Tulipa gesneriana*)^[54] 以及天门冬目洋葱(*Allium cepa*)^[55] 等的 B 功能基因进行了研究,支持了 van Tunen 修正后的“ABC 模型”。但是在对百合科单子叶植物芦笋的花器官研究时发现,芦笋的 B 功能基因 *AODEF* 和 *AOGLOA/AOGLOB* 只在第二和第三轮的花器官中表达,在第一轮中无表达,不支持修正后的“ABC 模型”^[55]。为此,像百合科这样的单子叶植物,似乎可以用简单的 ABCDE 模型来解释,但是由于 B 功能基因的特例,而使这些模型变得更加复杂,仍需进一步的研究和完善。除此之外,人们还对竹类^[56]、草类^[57] 等一些单子叶植物的 *MADS-box* 基因进行了研究,在不断完善着生物发育的分子机理及进化遗传背景。

2.4.3 真双子叶植物 *MADS-box* 基因 基部真双子叶植物具有复杂多样的花部形态,如毛茛科(Ranunculaceae)植物^[21]。Kramer 等^[58] 对毛茛科植物的 *AP3/PI* 类基因进行了研究,发现 *AP3* 类基因发生过基因重复,并且在毛茛科植物中产生了 *AP3-1*、*AP3-2* 和 *AP3-3* 三个基因谱系,说明 *AP3* 类基因的重复事件增加了 B 功能基因的数量和种类,并出现功能分化,促进了毛茛科植物花被器官的多样性^[21]。Zahn 等^[59-60] 在加州罂粟(*Eschscholzia californica*)中分离到了 3 个 AG 类的同源基因和 *SEP* 类基因,分别为: *EScaAG1*、*EScaAG2*、*EScaAGL11* 和 *EScaAGL9*。经过原位杂交和表达样式分析表明, *EScaAG1* 和 *EScaAG2* 基因可能调控分生组织和花器官的特征,在花发育过程中可能比 AG 基因更早。经过对 *SEP* 类基因的系统发育分析认为 *SEP* 类基因发生过多 次基因重复事件,其中一次发生在现存的被子植物起源

之前,并产生了 *AGL2/3/4* 和 *AGL9* 两大基因谱系;而 *AGL2/3/4* 则在核心真双子叶植物分化之前,在真双子叶植物起源以后发生了 2 次基因重复事件,产生了 *AGL2*、*AGL3* 和 *FBP9* 三个谱系。Shan 等^[61] 在木通科的三叶木通中克隆到了 3 个 *AP3* 类基因: *AktAP3-1*、*AktAP3-2*、*AktAP3-3*。经研究表明,这 3 个 *AP3* 类基因是发生过 2 次基因重复事件;其中一次发生在木通属起源之前,通过基因重复分别产生了 2 个 *AktAP3-2* 和 *AktAP3-3* 旁系同源基因。核心真双子叶植物 *MADS-box* 基因最早在金鱼草、矮牵牛和拟南芥等植物中得到了研究。随后,在其它物种中也得到了大量的 *MADS-box* 基因。对于核心真双子叶而言,与花器官发育有关的 *MADS-box* 基因大多数都比较保守,遵循花器官发育的“ABCDE 模型”,但是也有部分功能基因的表达具有多样性,如金鱼草的 A 功能基因 *SQUA*,它不仅在萼片和花瓣中表达,也在其它分生组织中表达;拟南芥的 *API* 基因却控制着萼片、花瓣的特征乃至分生组织的特性。经系统发育分析表明 *API/SQUA* 亚家族在核心真双子叶中发生过基因重复并产生 *euAP1*、*euFUL* 和 *FUL-like* 3 个进化体系。在拟南芥和金鱼草中, B 功能基因分别为 *AP3*、*PI* 和 *DEF/GLO*,它们决定着花瓣或雄蕊的表达。系统发育分析表明,这类 *AP3/PI(DEF/GLO)* 亚家族基因在现存被子植物产生之前发生了基因重复事件,产生了 *DEF/AP3* 和 *GLO/PI* 2 个进化体系^[62-63]。同样,对于 C 功能的 AG 亚族基因而言,在核心双子叶植物基部 AG 谱系中发生了一次基因重复事件产生了 *euAG* 和 *PLE* 2 个谱系,还有一次更早的基因重复发生在被子植物早期,裸子植物和被子植物分化以后,重复产生了 AG 和 *AGL11* 2 个谱系^[21]。除此之外, E 功能 *SEP* 类基因也多次发生了基因的重复事件。基因的多样性使花发育调控变得复杂,花器官变得多样。基因的重复可能有助于阐明 *MADS-box* 基因家族的起源与进化,同时也为新性状的形成、新物种的产生提供了可能。

3 展望

随着植物进化发育生物学的发展,花器官发育的 *MADS-box* 基因取得了一定的成就,但还存在许多不足之处。目前,植物的 *MADS-box* 基因的研究主要集中在高等双子叶植物、基部植物和模式植物上,研究范围局限。如在低等植物中只对部分藻类和几种苔藓植物的 *MADS-box* 基因进行了研究,地衣类的更是知之甚少。在单子叶植物中着重对水稻和玉米等作物进行了研究,而对于兰花、百合等其它单子叶植物研究较少。此外,就 *MADS-box* 基因而言,对克隆的基因功能研究,一般都是在拟南芥上进行转化表达,来验证其功能表型,这可能会限制功能基因的研究,因为同一类基因在不同的植物上可能有不同的表达。另外还应当加大对

MDAS-box 基因的广泛性和多样性研究,因为植物的 *MADS-box* 基因家族存在着大量的基因重复,而基因重复又会增加新基因的种类和数量。

随着现代分子生物学手段的应用和基因组计划的开展,越来越多植物的 *MADS-box* 基因将会被发现。花器官系统发育的分子机制将会愈加清楚,将会揭开植物的起源和演化。同时,人们还可以利用已知的 *MADS-box* 基因在不同花器官中特异表达的特点来改造一些植物性状,如改变园艺中观赏花卉的花型、花色等,对于经济作物还可以提高产量,培育优良品种等。在未来, *MADS-box* 基因可能会体现出更多的应用价值。

参考文献

- [1] Schwarz Z S, Huijser P, Nacken W, et al. Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus*[J]. Science, 1990, 250 (4983): 931-936.
- [2] Alvarez-Buylla E R. *MADS-box* gene evolution beyond flowers: expression in pollen, endosperm, guard cell, and trichomes[J]. Plant, 2000, 24: 1-11.
- [3] de Bodt. Genome-wide structural annotation and evolutionary analysis of the type I *MADS-box* genes in plants[J]. Mol Evol, 2003, 56: 573-586.
- [4] Elena R A, Soraya P, Sarah J L, et al. An ancestral *MADS-box* gene duplication occurred before the divergence of plants and animals[J]. PNAS, 2000, 97(10): 5328-5333.
- [5] Becker A, Theissen G. The major clades of *MADS-box* genes and their role in the development and evolution of flowering plants[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 29(3): 464-489.
- [6] Parenicova L, de Folter S, Kieffer M, et al. Molecular and phylogenetic analyses of the complete *MADS-box* transcription factor family in *Arabidopsis*: new openings to the MADS word[J]. Plant Cell, 2003, 15(7): 1358-1551.
- [7] Adamczyk B J, Fernandez D E. *MIKC** *MADS* domain heterodimers are required for pollen maturation and tube growth in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol, 2009, 149: 1713-1723.
- [8] Purugganan M D, Rounsley S D, Schmid T R, et al. Molecular evolution of flower development: diversification of the plant *MADS-box* regulatory gene family[J]. Genetics, 1995, 140(1): 345-356.
- [9] 蔡小钊, 王金发. 植物 *MADS* 盒基因的功能和调节机理[J]. 植物生理学报, 2000, 36(3): 277-281.
- [10] Yang Y, Fanning L, Jack T. The K domain mediates heterodimerization of the *Arabidopsis* floral organ identity proteins *APETALA3* and *PISTILLATA* [J]. Plant, 2003, 33: 47-59.
- [11] Heck G R, Perry S E, Nichols K W, et al. *AGL15*, a *MADS* domain protein expressed in developing embryos[J]. The Plant Cell, 1995, 7(8): 1271-1282.
- [12] 王光清, 胡建广, 赵相山, 等. 水稻愈伤组织形态发生中的 *MADS* 盒基因的差异表达[J]. 植物学报, 1997, 39(11): 1035-1041.
- [13] Kou M H, Nadeau E T, Grayhack E J. Multiple phosphorylated forms of the *Saccaromyces Cerevisiae* *Mcm1* protein include an isoform induced in response to high salt concentrations[J]. Molec Cell Biol, 1997, 17: 819-832.
- [14] Lozano R, Angost O T, Gome Z P, et al. Tomato flowers abnormalities induced by low temperatures are associated with changes of expression of *MADS-box* genes[J]. Plant Physiol, 1998, 117: 91-100.
- [15] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development[J]. Nature, 1991, 353(5): 31-37.
- [16] Schneitz K. The molecular and genetic control of ovule development[J]. Curr Opin in Plant Biol, 1999, 2(1): 13-17.
- [17] Angenent G C, Fanken J, Busscher M, et al. A novel class of *MADS-box* gene is involved in ovule development in *petunia*[J]. The Plant Cell, 1995, 7: 1569-1582.
- [18] Eckardt N A. *MADS* Monsters: Controlling floral organ identity[J]. The Plant Cell, 2003, 15(4): 803-805.
- [19] Ferrario S, Immink R G H, Shchennikova A, et al. The *MADS-box* gene *FBP2* is required for *SEPALLATA* function in *petunia*[J]. The Plant Cell, 2003, 15(4): 914-925.
- [20] Honma T, Goto K. Complexes of *MADS-box* proteins are sufficient to convert leaves into floral organs[J]. Nature, 2001, 409(6819): 525-529.
- [21] 张剑, 徐桂霞, 薛皓月, 等. 植物进化发育生物学的形成与研究进展[J]. 植物学通报, 2007, 24(1): 1-30.
- [22] Henschel K, Kofuji R, Hasebe M, et al. Two ancient classes of *MIKC*-type *MADS-box* genes are present in the moss *Physcomitrella patens*[J]. Mol Biol Evol, 2002, 19(6): 801-814.
- [23] Graham L E, Cook M E, Busse J S. The origin of plants: body plan changes contributing to a major evolutionary radiation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(9): 4535-4540.
- [24] Tanabe Y, Hasebe M, Sekimoto H, et al. Characterization of *MADS-box* genes in charophycean green algae and its implication for the evolution of *MADS-box* genes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(7): 2436-2441.
- [25] Liu Y, Cui S J, Wu F, et al. Functional conservation of *MIKC**-type *MADS-box* genes in *Arabidopsis* and rice pollen maturation[J]. The Plant Cell, 2013, 25(4): 1288.
- [26] Munster T, Pahnke J, Di Rosa A, et al. Floral homeotic genes were recruited from homologous *MADS-box* genes preexisting in the common ancestor of ferns and seed plants[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(6): 2415-2420.
- [27] Hasbe M, Wen C K, Kato M, et al. Characterization of *MADS* homeotic genes in the fern *Ceratopteris richardii*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95 (11): 6222-6227.
- [28] Svensson M J, Johannesson H, Engstrom P. The *LAMB1* gene from the clubmoss, *Lycopodium annotinum*, is a divergent *MADS-box* gene, expressed specifically in sporogenic structures[J]. Gene, 2000, 253(1): 31-43.
- [29] Theissen G, Becker A, Dirosa A, et al. A short history of *MADS-box* genes in plant[J]. Plant Mol Biol, 2000, 42(1): 115-149.
- [30] Irish V F, Litt A. Flower development and evolution: Gene duplication, diversification and redeployment [J]. Curr Opin Genet Dev, 2005, 15(4): 454-460.
- [31] Rutledge R, Regan S, Nicolas O, et al. Characterization of an *AGAMOUS* homologue from the conifer black spruce (*Picea mariana*) that produces floral homeotic conversions when expressed in *Arabidopsis*[J]. Plant, 1998, 15(5): 625-634.
- [32] Mouradov A, Glassick T V, Hamdorf B A, et al. Family of *MADS-box* genes expressed early in male and female reproductive structures of Monterey pine[J]. Plant Physiol, 1998, 117: 55-61.
- [33] Becker A, Theissen G. The major clades of *MADS-box* genes and their role in the development and evolution of flowering plant[J]. Mol Phylogenet Evol, 2003, 29: 464-489.
- [34] Winter K U, Becker A, Munster T, et al. *MADS-box* genes reveal that gnetophytes are more closely related to conifers than to flowering plants[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(13): 7342-7347.
- [35] Winter K U, Saedler H, Theissen G. 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*[J]. Plant, 2002a, 31:

457-475.

- [36] Kramer E M, Dorit R L, Irish V F. Molecular evolution of genes controlling petal and stamen development; duplication and divergence within the *APETALA3* and *PISTILLATA* *MADS-box* gene lineages[J]. *Genes*, 1998, 149: 765-783.
- [37] Kim S, Koh J, Yoo M J, et al. Expression of floral *MADS-box* genes in *basa* langiosperms; implications for the evolution of floral regulators[J]. *Plant*, 2005, 43: 724-744.
- [38] Li G S, Meng Z, Kong H Z, et al. Characterization of candidate class A, B and E floral homeotic genes from the perianthless basal angiosperm *Chloranthus spicatus*[J]. *Dev Genes Evol*, 2005, 215: 437-449.
- [39] 胡金勇. 被子植物基部类群细辛和三白草 *MADS-box* 基因研究[D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2003.
- [40] Lu Z X, Wu M, Loh C S, et al. Nucleotide sequence of a flower-specific *MADS-box* cDNA clone from orchid[J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 23(4): 901-904.
- [41] 陈小强, 孙宁, 刘玉芹, 等. 兰花发育的分子生物学研究[J]. 天津农学院学报, 2011, 18(1): 27-31.
- [42] Mondragon-Palomino M, Theissen G. *MADS* about the evolution of orchid flowers[J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(2): 51-59.
- [43] Mondragon-Palomino M, Theissen G. Conserved differential expression of paralogous *DEFICIENS-like* and *GLOBOSA-like* *MADS-box* genes in the flowers of Orchidaceae; refining the 'orchid code' [J]. *The Plant Journal*, 2011, 66(6): 1008-1019.
- [44] Pan Z J, Cheng C C, Tsai W C, et al. The duplicated B-class *MADS-box* genes display dualistic characters in orchid floral organ identity and growth [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2011, 52(9): 1515-1531.
- [45] Theissen G, Saedler H. *MADS-box* genes in plant ontogeny and phylogeny; Haeckel's 'Biogenetic law' revisited[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1995, 5(5): 628-639.
- [46] Theissen G, Strater T, Fischer A, et al. Structural characterization, chromosomal localization and phylogenetic evaluation of two pairs of *AGAMOUS-like* *MADS-box* genes from maize[J]. *Gene*, 1995, 156: 155-166.
- [47] Ma H, Yanofsky M F, Meyerowitz E M. *AGL1-AGL6*, an *Arabidopsis* gene family with similarity to floral homeotic and transcription factor genes [J]. *Genes Dev*, 1991, 5(3): 484-495.
- [48] Schmidt R J, Veit B, Mandel M A, et al. Identification and molecular characterization of *ZAG1*, the maize homolog of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *AGAMOUS*[J]. *The Plant Cell*, 1993, 5(7): 729-737.
- [49] Mena M, Ambrose B A, Meeley R B, et al. Diversification of C-function activity in maize flower development[J]. *Science*, 1996, 274: 1537-1540.
- [50] 赵素珍. *MADS-box* 基因在单子叶植物花发育中的功能研究[D]. 北京: 中科院植物研究所, 2005.
- [51] Pelucchi N, Fornara F, Favalli C, et al. Comparative analysis of rice *MADS-box* genes expressed during flower development[J]. *Sexual Plant Reproduction*, 2002, 15(3): 113-122.
- [52] van Tunen A J, Eikelboom W, Angenent G C. Floral organogenesis in *Tulipa*[J]. *Flowering Newsletter*, 1993, 16: 33-38.
- [53] Winter K U, Weiser C, Kaufmann K, et al. Evolution of class B floral homeotic proteins; Obligate heterodimerization originated from homodimerization [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19: 587-596.
- [54] Kanno A, Saeki H, Kameya T, et al. Heterotopic expression of class B floral homeotic genes supports a modified ABC model for tulip (*Tulip gesneriana*) [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52: 831-841.
- [55] 李洪有, 王婵, 李丽林, 等. 洋葱花器官 B 类 *MADS-box* 基因 *AcPI* 的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(23): 4759-4769.
- [56] 田波, 陈永燕, 严远鑫, 等. 一个竹类植物 *MADS* 盒基因的克隆及其在拟南芥中的表达[J]. 科学通报, 2005, 50(2): 145-151.
- [57] 曹智. 短柄草 *MADS-box* 基因家族的生物信息学分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- [58] Kramer E M, di Stilio V S, Schluter P M. Complex patterns of gene duplication in the *APETALA3* and *PISTILLATA* lineages of the Ranunculaceae [J]. *Plant Sci*, 2003, 164: 1-11.
- [59] Zahn L M, Kong H Z, Leebens-Mack J H, et al. The evolution of the *SEPALLATA* subfamily of *MADS-box* genes; a preangiosperm origin with multiple duplications throughout angiosperm history[J]. *Genetics*, 2005, 169: 2209-2223.
- [60] Zahn L M, Leebens-Mack J H, Arrington J M, et al. Conservation and divergence in the *AGAMOUS* subfamily of *MADS-box* genes; evidence of independent sub- and neofunctionalization events [J]. *Evol Dev*, 2006, 8(1): 30-45.
- [61] Shan H Y, Su K M, Lu W L, et al. Conservation and divergence of candidate class B genes in *Akebia trifoliata* (Lardizabalaceae) [J]. *Dev Genes Evol*, 2006, 216(12): 785-795.
- [62] Aoki S, Uehara K, Imafuku M, et al. Phylogeny and divergence of basal angiosperms inferred from *APETALA3*- and *PISTILLATA-like* *MADS-box* genes[J]. *Journal of Plant Research*, 2004, 117(3): 229-244.
- [63] Kim S, Yoo M J, Albert V A, et al. Phylogeny and diversification of B-function *MADS-box* genes in angiosperms; Evolutionary and functional implications of a 260-million-year-old duplication[J]. *Am J Bot*, 2004, 91: 2102-2118.

Advances of *MADS-box* Genetic Diversity and Evolutionary Development in Plants

ZHAO Xing-fu¹, ZHU Yong-ping², XIAO Jing-yi¹, JIA Rong¹, JIANG Zhou¹, HE Feng-mei¹

(1. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201; 2. College of Agriculture and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract: *MADS-box* gene is a regulatory genes family. It plays an important role in plant growth regulation and signal transmission. The *MADS-box* gene features was summarized in this review, functions, as well as evolution. The *MADS-box* gene family had highlighted the dynamic fates of the duplicate genes and could provide evidence to better understand the mechanisms behind the evolution of plant morphology. To explain the origin of species, hereditary, evolution, the protection and utilization of important theoretical significance. At the same time, *MADS-box* genes was also discussed development trend in the future.

Keywords: *MADS-box* gene; floral organ; ABCDE model