

兰科植物花色相关基因研究进展

郑清冬, 王 艺, 欧 悦, 柯玉洁, 姚亚合, 王梦洁, 陈嘉忆, 艾 叶*

(福建农林大学园林学院, 兰科植物保护与利用国家林业和草原局重点实验室, 福州 350002)

摘 要: 对兰科植物的花色素种类、花青素苷和类胡萝卜素合成途径相关基因的研究进展进行了综述, 并对今后的研究方向进行展望, 以期对兰科植物花色相关分子机制的研究及花色品种培育提供参考信息。

关键词: 兰科植物; 花色; 花青素苷; 类胡萝卜素

中图分类号: S 682.31

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2021) 10-2057-16

Research Advances of Genes Responsible for Flower Colors in Orchidaceae

ZHENG Qingdong, WANG Yi, OU Yue, KE Yujie, YAO Yahe, WANG Mengjie, CHEN Jiayi, and AI Ye*

(Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Orchid Conservation and Utilization at College of Landscape Architecture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Herein, the research progress of flower pigment types, anthocyanin and carotenoid biosynthesis pathways related genes in orchids were reviewed, and future research directions were prospected. We aimed to provide important references to shed light on the molecular mechanism of flower colors formation and the breeding of colorful flower varieties of orchids.

Keywords: Orchidaceae; flower color; anthocyanin; carotenoid

兰科是植物界中最大的科之一, 约有 880 个属和 27 800 种 (Givnish et al., 2016)。兰科植物俗称兰花, 花形奇特, 花色繁多, 花香浓郁, 已成为全球范围内广泛栽培的重要观赏植物, 具有较高的观赏价值、经济价值和文化价值 (Lin et al., 2016; Zhang et al., 2018)。花色是兰科植物重要的观赏性状之一, 受到多种因素的影响, 如表皮细胞形状、环境因素等, 其中最重要的因素是色素的种类和含量。色素作为植物的次级代谢产物, 广泛分布在植物花朵、叶片等组织的细胞中, 使植物呈现出各种各样的颜色 (Zhao & Tao, 2015)。

本文综述了自 1998 年以来有关兰科植物花色素种类以及花青素苷和类胡萝卜素生物合成途径相关基因的研究进展, 重点对花青素苷合成途径中结构基因和转录因子的相关研究进展进行概述, 并对今后兰科植物花色研究方向进行展望, 以期对兰科植物花色研究和花色育种提供理论参考。

收稿日期: 2021-06-23; **修回日期:** 2021-08-26

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2020J01585); 国家重点研发计划项目 (2019YFD1000400); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201910)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: aiyeafu@163.com)

1 兰花花色素种类

兰科植物中的色素主要有 3 个类群, 分别是类黄酮、类胡萝卜素和叶绿素 (Hsiao et al., 2011; 李崇晖 等, 2013), 以类黄酮 (flavonoids) 和类胡萝卜素 (carotenoids) 为主。其中, 类黄酮是一类具有苯基苯并吡喃 (phenylbenzopyran) 基本结构的植物次生代谢产物, 广泛存在于植物各个器官中。花青素 (又称为花青素苷元或花色苷元) 是类黄酮中最主要的显色物质, 常见的有 6 种 (Tanaka et al., 1998; Zhang et al., 2014; 史倩倩, 2015; Liu et al., 2018; Fu et al., 2020), 以天竺葵素 (pelargonidin)、矢车菊素 (cyanidin)、飞燕草素 (delphinidin) 为主, 由此衍生出芍药花素 (peonidin)、矮牵牛素 (petunidin) 和锦葵素 (malvidin)。在 3 种主要的花青素中, 天竺葵素显橘红色, 矢车菊素显红色到粉色, 飞燕草素显蓝色到紫色 (Hanumappa et al., 2007)。研究表明, 兰科植物中的花色素主要是矢车菊素、天竺葵素和芍药花素 (Fossen & Øvstedal, 2003; Tatsuzawa et al., 2010; Zhang et al., 2020)。类胡萝卜素是另外一类常见的植物色素, 包括胡萝卜素和叶黄素, 可使植物的花器官、果肉等呈现出黄色、红色和紫色等 (孙叶 等, 2015; Zhao & Tao, 2015; Hermanns et al., 2020)。从鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum*) 绿色透色期和黄色盛开期的花瓣中一共检测到了 8 种类胡萝卜素成分, 包括隐黄质 (cryptoxanthin)、紫黄质 (violaxanthin)、叶黄素 (lutein) 等 (黄昕蕾, 2018)。文心兰 (*Oncidium Gower Ramsey*) 唇瓣色素的主要成分为紫黄质、新黄质和叶黄素 (Chiou et al., 2010)。当花瓣中的叶绿素 (chlorophyll) 含量高于花青素时, 花朵颜色会呈现为绿色 (朱安超, 2014), 大花蕙兰 (*Cymbidium* ‘Vanguard Mas Beauty’) 的花瓣组织呈现暗绿色, 这与叶绿素含量较高有关 (Wang et al., 2014)。

2 兰花花青素苷生物合成途径相关基因

2.1 花青素苷合成途径的结构基因

自然状态下的花青素都以糖苷形式存在, 称为花青素苷, 很少有游离的花青素存在。在花青素苷生物合成途径 (anthocyanin biosynthesis pathway, ABP) 中 (图 1), 结构基因主要包括 *CHS*、*CHI*、*F3H*、*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR*、*ANS*、*UFGT* 等 (表 1)。这些基因的表达丰度可以影响植物花青素苷的合成与积累, 进而影响植物组织的颜色表型 (Zhao & Tao, 2015; 张加强 等, 2018)。

查尔酮合成酶 (chalcone synthase, *CHS*) 催化花青素苷合成途径的第一酶促反应 (戴思兰和洪艳, 2016)。*CHS* 的催化产物可被进一步转化为各种类黄酮化合物, 这些化合物使植物呈现各种颜色。随着研究范围的不断拓展, 兰科植物中的 *CHS* 基因陆续被分离和鉴定, 如白芨 (田爱梅 等, 2014)、香水文心兰 (樊荣辉 等, 2012)、蝴蝶兰 (许华欣和黄鹏林, 1999) 等。孟衡玲等 (2016) 从铁皮石斛 (*D. officinale*) 中分离得到 *CHS* 基因, 发现其参与了类黄酮合成。在文心兰 (*O. 'Honey Dollp'*) 中没有检测到任何花青素或花青素苷, 推测是由于 *OgCHS* 的 5'端上游启动子区域受到了甲基化作用, 导致花青素苷生物合成基因处于失活状态, 而瞬时表达 *OgCHS* 后产生了花青素苷 (Liu et al., 2012), 这表明兰科植物中的 *CHS* 基因与其他植物一样, 参与花青素苷的合成。在大花蕙兰 (*C. hybrida*) 中, 红色品种中的 *ChCHS* 表达量高于其他色系的品种 (Wang et al., 2014)。兜兰 (*Paphiopedilum concolor* Pfitz.) 中 *PcCHS* 可能参与调控红色花或紫红色花的色素生成 (李冬梅 等, 2012a)。*CHS* 基因在建兰 (*C. ensifolium* ‘Longfuxingdie’) 黄绿色花瓣中几乎不表达, 而在红色

花瓣中高表达, 再次证实了该基因的功能 (李文建 等, 2018)。由此可见, CHS 基因在红色系、紫红色系的兰花着色过程中扮演着重要的角色。除此之外, CHS 基因的表达具有组织特异性, 例如 CHS 基因在蝴蝶兰 (*P. hybrida*) 花瓣中表达量较高, 而在相同颜色和形状的萼片中并未检测到该基因的表达 (Han et al., 2006a)。因此, 有必要对 CHS 基因进行更深入的研究。

查尔酮异构酶 (chalcone isomerase, CHI) 催化四羟基查尔酮生成无色的黄烷酮, 是类黄酮代谢途径中的关键酶之一 (刘洪峰, 2015)。CHI 基因在植物中表达与否及表达量高低都会影响类黄酮的含量, 进而影响植物器官色泽的形成。Chiou 和 Yeh (2008) 通过激活文心兰 (*O. Gower Ramsey*) 中沉默的 *OgCHI*, 发现黄色唇瓣中产生了花青素苷。随后研究者还发现桃红色杂交石斛兰 (*D. 'Sirin*

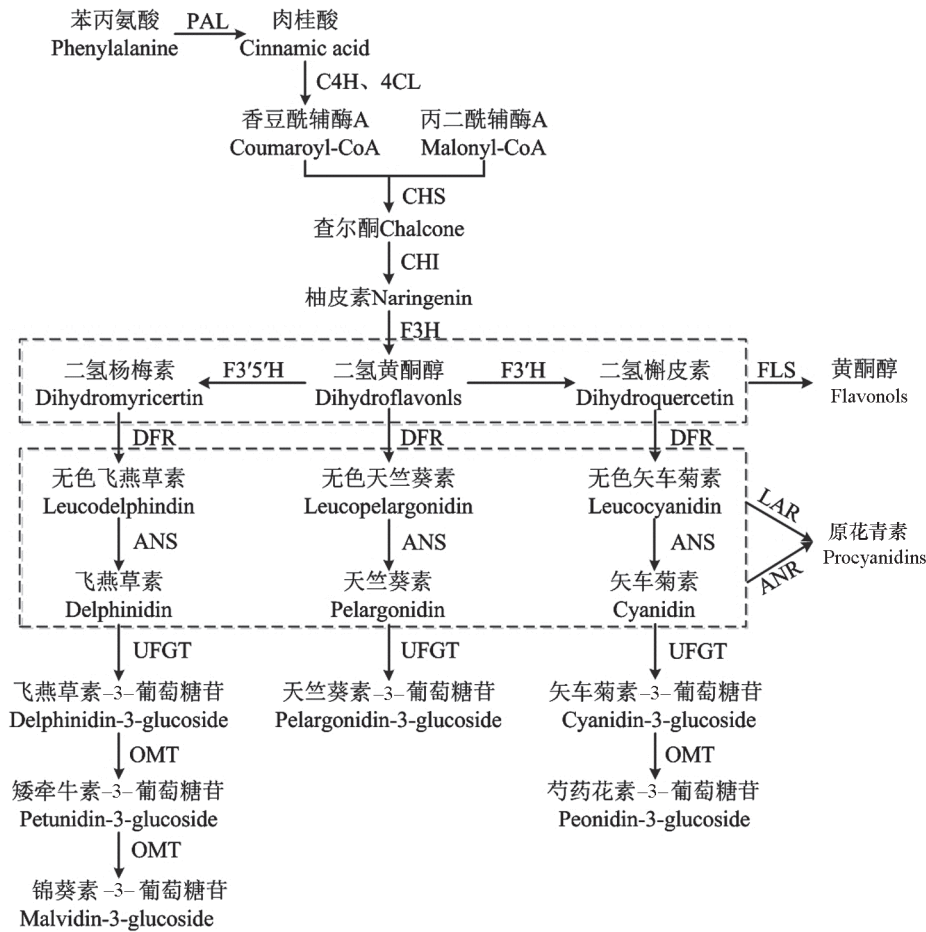


图 1 花青素苷合成途径

PAL: 苯丙氨酸解氨酶; C4H: 肉桂酸 4-羟化酶; 4CL: 4-香豆酰辅酶 A 连接酶; CHS: 查尔酮合成酶; CHI: 查尔酮异构酶; F3H: 黄烷酮-3-羟化酶; F3'5'H: 类黄酮-3',5'-羟化酶; F3'H: 类黄酮-3'-羟化酶; FLS: 黄酮醇合成酶; DFR: 二氢黄酮醇还原酶; ANS: 花青素合成酶; LAR: 无色花青素还原酶; ANR: 花青素还原酶; UFGT: 类黄酮糖基转移酶; OMT: O-甲基转移酶。

Fig. 1 Biosynthesis pathway of anthocyanins

PAL: Phenylalanin ammonialyase; C4H: Cinnamate 4-hydroxylase; 4CL: 4-coumarate; coenzyme ligase; CHS: Chalcone synthase; CHI: Chalcone synthase; F3H: Flavanone-3-hydroxylase; F3'5'H: Dihydroflavonoid-3',5'-hydroxylase; F3'H: Dihydroflavonoid-3'-hydroxylase; FLS: Flavonol synthase; DFR: Dihydroflavonol reductase; ANS: Anthocyanin synthase; LAR: Leucoanthocyanidin reductase; ANR: Anthocyanidin reductase; UFGT: UDP-glucose flavonoid3-glucosyltransferase; OMT: O-methyltransferases.

classic') 颜色强度低的原因可能是 ABP 上游 *CHI1*、*CHI2* 的低表达导致柚皮素的低产量, 最终影响下游色素产量和颜色强度 (Kriangphan et al., 2015)。综上表明, 与 *CHS* 基因相似, 兰科植物中 *CHI* 基因的低表达也会阻断红色色素的生成。

黄烷酮-3-羟化酶 (flavanone-3-hydroxylase) 基因 *F3H* 参与黄酮合成途径和花青素苷合成途径, 是类黄酮代谢途径的关键位点。在万代兰 (*Vanda hybrid*) 中, *Va-F3H1* 在白色品种中表达量非常低, 而在浅紫红色品种中表达量较高, 说明该基因在花青素苷合成过程中起着非常重要的作用 (Junka et al., 2011)。Sahagun 和 Ratanasut (2016) 发现石斛兰 (*D. 'Sonia Earsakul'*) *DseF3H* 从花蕾早期到花期表达量逐渐增加, 通过 hpRNA 诱导的沉默系统抑制 *DseF3H* 可以阻断内源花青素苷的产生。在铁皮石斛 (*D. officinale*) 中 *F3H* 基因表达影响了二氢黄酮醇的含量, 进而影响了花青素苷的积累 (Zhan et al., 2020)。

类黄酮-3',5'-羟化酶 (flavonoid-3',5'-hydroxylase, *F3'5'H*) 属于细胞色素 P450 超家族 (Holton et al., 1993), 是催化形成二氢黄酮醇生成蓝紫色飞燕草素的前体物质。用基因枪法向蝴蝶兰 *Phalaenopsis* TS444 [(*New Eagle* × *Pinlong Cinderella*) × *Dtps. Taisuco Red*] 花瓣中导入 *F3'5'H* 基因, 发现转基因植株花瓣颜色由粉红色变成了红紫色 (Su & Hsu, 2003)。从念珠石斛 (*D. moniliforme*) 带有紫红色斑点的合蕊柱中分离得到 *DmF3'5'H* 基因, 在白色花被片上瞬时表达该基因, 出现了红紫色斑点, 证明了 *F3'5'H* 的转录激活对花被片的着色非常重要 (Whang et al., 2011)。

类黄酮-3'-羟化酶 (flavanone-3'-hydroxylase) *F3'H* 的存在可以消耗产生天竺葵素的底物——二氢黄酮醇, 从而促进矢车菊素和芍药素的生成。通过荧光定量 PCR 分析发现 *PhF3'H* 在红色蝴蝶兰品种中的表达量远高于黄色蝴蝶兰, 验证了 *PhF3'H* 为蝴蝶兰 ABP 过程中的关键基因 (杨玉霞 等, 2013)。Mudalige 等 (2005) 发现桃红色石斛 (*Dendrobium* × *Icy Pink 'Sakura'*) 中的花青素类型主要为天竺葵素, 推测可能是 *F3'H* 发生突变导致 *DFR* 基因高表达形成了更多的天竺葵素。对紫色、桃红色、白色、绿白色的杂交石斛兰 (*D. hybrids*) 分别进行研究, 发现桃红色花色形成的原因可能是 *F3'H* 突变导致 ABP 途径中矢车菊素合成通路受阻, 而天竺葵素增多; 且发现 *CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR* 和 *ANS* 在紫花中普遍表达, 推测绿白色品种的形成是 *F3H*、*DFR* 和 *ANS* 表达缺失而 *FLS* 高表达所导致 (Kriangphan et al., 2015)。由此可以看出, *F3'H* 在转录水平上的表达丰度也会影响花色苷的合成与积累。

二氢黄酮醇还原酶 (dihydroflavonol reductase, *DFR*) 基因是类黄酮合成途径 1 个关键基因, 可催化 3 种二氢黄酮醇生成不同的花青素前体, 使植物呈现不同的颜色 (Petit et al., 2007)。Liew 等 (1998) 在白芨兰 (*Bromheadia finlaysonianana*) 中发现 *DFR* 在花器官紫色区域均有表达。且有研究证实 *DFR* 是蝴蝶兰 (*P. 'Everspring Fairy'*) 紫色斑点形成的主要酶基因 (Ma et al., 2009)。然而在蝴蝶兰另一品种 'Panda' 的萼片中, *DFR* 在有斑点区域和无斑点区域中的表达并没有显著差异 (Zhao et al., 2019)。这些结果表明同一花色表型也可能是由不同花色素合成酶基因所导致的。目前该基因已从石斛兰 'Geeting Fragrance' (潘丽晶 等, 2010)、朵丽蝶兰 (*Doritaenopsis hybrid*) 'Red Sky' (钟淮钦 等, 2014)、兜兰 (李冬梅 等, 2012b) 等兰科植物中克隆得到。

花青素合成酶 *ANS* (anthocyanin synthase) 将无色花青素转化为有色花青素, 抑制 *ANS* 的表达可以使植物花色变淡或者变白 (刘恺媛 等, 2021)。Junka 等 (2011) 发现万代兰中白色花的形成可能与 *ANS* 缺失有关。许传俊等 (2015) 通过对不同花色品种的蝴蝶兰进行分析发现, *CHS*、*F3'5'H*、*DFR*、*ANS* 在不同颜色的花中表达差异显著, 而 *ANS* 在红色和粉红色品种中的表达量较高。孔兰等

(2021) 通过对杂交兰‘福韵丹霞’进行转录组分析, 推测 *ANS* 的高表达是花朵呈现紫红色的原因, 说明 *ANS* 在植物花色形成过程中具有重要作用。

类黄酮糖基转移酶 (UDP-glucose: flavonoid glycosyltransferase), 简称 UFGT, 它位于 ABP 下游的分支末端, 是形成稳定的花青素苷所必需的一种酶。研究发现, *CHS*、*CHI* 等在白色和红色蝴蝶兰中的表达没有太大差异, 而 UFGT 却在红色花中有着强烈表达, 推测 UFGT 是形成红色花色的重要基因; 通过病毒诱导基因沉默特异性敲除 *PeUFGT3*, 花色呈现出不同程度的褪色, 进一步证实了 *PeUFGT3* 的下调可以调控花颜色发育 (Chen et al., 2011)。Hsieh 等 (2013) 沉默蝴蝶兰 (*D. Taida Salu* ‘Sunset Fire’) *PeUFGT3* 后, 其花色变浅, 唇瓣出现白色斑点。因此, UFGT 基因对植物花色的形成以及花青素苷的积累具有重要作用, 该基因的下调可以调控兰花花色的发育。

2.2 参与调控花青素合成途径的转录因子

2.2.1 MYB

在参与调控 ABP 的转录因子中, 目前研究最多的是 MYB、bHLH 和 WD40, 这些转录因子通过激活或抑制结构基因的表达水平来影响花色的呈现。

MYB 是植物中最大的转录因子家族, 可分成 1R-MYB、R2R3-MYB、R1R2R3-MYB 和 4R-MYB4 大类 (Li et al., 2015; Liu et al., 2015), 其中参与调控 ABP 的最主要一类是有 2 个 R 的 R2R3-MYB (宋建辉 等, 2021)。MYB 转录因子对植物组织中花青素的积累具有非常重要的意义, 其参与类黄酮生物合成调控, 包括黄酮烷、花青素苷等 (曹雨薇 等, 2019; 靳亚忠 等, 2021)。

MYB 转录因子在蝴蝶兰中的研究已有较大进展 (表 1)。Ma 等 (2009) 在蝴蝶兰 (*P. ‘Everspring Fairy’*) 中发现 MYB 基因仅在花瓣和萼片的紫色区域中高表达, 而在白色区域未表达。在小兰屿蝴蝶兰 (*P. equestri*) 中鉴定出了 3 种 R2R3-MYB 转录因子基因, 发现 *PeMYB2*、*PeMYB11* 和 *PeMYB12* 能够激活花青素合成基因 *PeF3H5*、*PeDFR1* 和 *PeANS3* 的表达, 且分别参与了萼片和花瓣红色色素积累、红色斑点以及脉序图案的形成, 而唇瓣中底色和斑点的着色则由 *PeMYB12* 和 *PeMYB11* 决定, 据此可以推测, MYB 表达的时空特异性可能与蝴蝶兰花被片复杂多样着色模式的形成密不可分 (Hsu et al., 2015a)。随后, 研究人员还证明了蝴蝶兰 (*P. ‘Yushan Little Pearl’*) 黑色花朵所含有的深紫色斑点和各种色素积累所形成的图案是 R2R3-MYB 中 *PeMYB11* 基因的高表达产生的 (Hsu et al., 2019)。此外, 通过对蝴蝶兰 *P. ‘Panda’* 的研究, 发现 *PeMYB7* 与 *PeMYB11* 的表达是花瓣中独特斑点形成的重要原因, 对 *PeF3H*、*PeF3'H* 和 *PeANS* 具有调控作用, 充当花青素生物合成的正向调节因子 (Zhao et al., 2019), 再次验证了 *PeMYB11* 的功能。在石斛杂交兰 (*D. ‘Bobby Messina’* × *D. ‘Chao Phraya’*) 的研究中发现, *DhMYB1* 参与了花颜色和形态的调控 (Lau et al., 2015)。赵安瑾 (2018) 利用蝴蝶兰全基因组数据成功构建了 *PeMYB7*、*PeMYB11* 的 VIGS 重组载体, 浸染模式植物矮牵牛之后, 部分花瓣出现了白色斑点和条纹, 这表明其可能与蝴蝶兰花青素苷有关。综上, MYB 在花色素积累调控中起着非常重要的作用, 可以激活 ABP 中的结构基因的表达, 从而促进花青素苷积累。

此外, 研究者还发现来自异源物种的转录因子基因也能够调节兰科植物中花青素苷的产生。通过基因枪技术向花瓣和萼片都是白色的大花蕙兰 (*C. hybrid ‘Jung Frau dos Pueblos’*) 花瓣中导入红掌 (*Anthurium andraeanum*) *AaMYB1*, 可激活花瓣中花青素苷的产生 (Albert et al., 2010)。从卡特兰 (*Cattleya hybrid ‘KOVA’*) 中克隆出 R2R3-MYB 基因 *RcPAP1* 和 *RcPAP2*, 将其在蝴蝶兰花被片中瞬时过表达, 发现结构基因 *PeF3H*、*PeANS* 显著上调, 白色花被片变成了紫红色 (Li et al.,

2020a), 说明 *RcPAP1/2* 可以促进蝴蝶兰红色色素的积累。由此可见, MYB 基因的异源表达也能发挥作用。

植物体内既存在 MYB 正调控因子, 也存在 MYB 负调控因子。MYB 转录因子的系统进化分析表明, MYB 负调控因子主要有 R2R3-MYB 型和 R3MYB 型 (Albert et al., 2014)。从蝴蝶兰品种 ‘大辣椒’ (*P. ‘Big Chili’*) 中分离出了一个花青素抑制因子 *MYBx1*, 其不仅能够编码 R3-MYB 蛋白, 还能通过调控 ABP 结构基因的表达水平来减少花青素的积累 (Fu et al., 2019)。近来, 对 3 种不同颜色独蒜兰 (*Pleione limprichtii*) 的系统发育和共表达进行分析, 发现 R2R3-MYB 分支中的一个抑制因子 P1MYB10, 推测 P1MYB10 与 PlbHLH20/PlbHLH26 以及 PIWD40-1 结合形成 MBW 蛋白复合物, 调控 *PIFLS* 的表达, 抑制花青素苷积累 (Zhang et al., 2020)。另外, 通过对蝴蝶石斛兰 (*D. phalaenopsis*) 花色基因的共表达分析, 同样发现了 *MYB10* 与 *DFR*、*ANS*、*F3H*、*F3'H* 的表达量呈现负相关关系 (丁灵, 2016)。综上所述, MYB 转录因子在调控兰科植物花着色方面起着重要的作用, 既可以正调控花色, 也可以负调控花色。

2.2.2 bHLH 和 WD40

bHLH (basic Helix-Loop-Helix) 参与多种生理途径的调控, 尤其是在调节类黄酮和花青素合成中发挥了重要的作用 (李卫星 等, 2017)。Nakatsuka 等 (2019) 从兰属 *C. ‘Mystique’* 中鉴定出了 3 个调控基因 *CyMYB1*、*CybHLH1* 和 *CybHLH2* (表 1), 并揭示了 *CyMYB1* 与 *CybHLH1/2* 相互作用形成复合物, 从而控制花青素苷的积累。从石斛杂交种 (*D. hybrids*) 中克隆得到 *DhMYB2* 和 *DhbHLH1*, 其中 *DhbHLH1* 与唇瓣花青素苷的合成密切相关, 且 *DhMYB2* 或 *DhbHLH1* 在白花瓣上共同表达可直接激活 *DhF3H*、*DhDFR* 和 *DhANS* 的转录, 在白色花瓣上生成紫色斑点 (Li et al., 2017)。在大花蕙兰 (*C. hybrid ‘Jung Frau dos Pueblos’*) 花瓣中单独过表达 *Lc (bHLH) /CI (MYB)* 时只产生了少数的猩红斑点, 而同时过表达这两个因子时产生了数百个强烈的红色斑点 (Albert et al., 2010)。与大花蕙兰研究结果相似, 丁灵 (2016) 用基因枪向石斛兰分别引入 *MYB4* 和 *bHLH1* 的过表达载体, 均可以使白色花瓣产生紫红色斑点, 但是通过酵母表达系统中的自激活活性检测法检测到 *bHLH1* 自身不能够独立起作用, 而是与 *MYB4* 形成互作关系从而促进目标结构基因的表达。由此可见, 转录因子 bHLH 和 MYB 通常协同工作激活花青素苷的合成。

WD40 类转录因子通过与 MYB、bHLH 相互作用形成复合体来参与植物中花青素的积累及颜色的形成。随着研究的进展, 参与调控花青素生物合成的 WD40 逐渐在苹果 (An et al., 2012)、草莓 (Schaart et al., 2013) 等物种中被发现, 而在兰科植物中的研究较少。

2.2.3 MBW 复合体

值得关注的是, 有越来越多的研究表明植物 ABP 上结构基因受到 MYB、bHLH 和 WD40 相互作用形成的 MBW 复合体的调控。MBW 复合体主要通过调节 ABP 下游结构基因的转录丰度来实现对花青素苷的生物合成调控 (Xu et al., 2015)。研究显示, MBW 复合体既参与了双子叶植物的花色合成调控, 也参与了单子叶植物的花色合成调控 (Feller et al., 2011; Li et al., 2020b)。在其他物种中发现了 WRKY 可以与 MBW 复合物一起调控花青素苷合成途径 (Lloyd et al., 2017)。迄今为止, 关于 MBW 转录复合体在兰科植物花色方面的调控研究还尚未涉及, 未来需要利用各种分子生物学技术, 如 RNA 干扰、蛋白互作技术等对转录因子及其复合体进行深入探索。

2.2.4 其他转录因子

据报道, 通过对蝴蝶兰 (*P. amabilis*) 白色和紫色两个品种花瓣的研究, 发现 *PaWRKY*、*PaMADS* 和 *PabZIP* 等转录因子均与花色形成有关, 检测到 4 个 *PaWRKY* 在紫色花瓣中的表达量均显著高于

白色花瓣, 推测其在蝴蝶兰花青素苷积累中起着重要作用 (Meng et al., 2020)。MADS-box 是参与植物花器官发育调控的一类转录因子 (Teo et al., 2019; 李成儒 等, 2020)。相关研究表明, MADS-box 基因除了可以控制花形之外, 其转录水平可能还会影响植物的花色。Hsu 等 (2015b) 利用 VIGS 技术沉默文心兰 (*O. orchid*) 中 *OAGL6-2* 后, 其唇瓣部分区域显现为绿色。Hsieh 等 (2013) 沉默了蝴蝶兰 *PeMADS6* 后, 沉默的花被片均出现变色或斑点。Pan 等 (2014) 通过沉默蝴蝶兰 (*P. ‘OX Red Shoes’*) *PeSEP2* 和 *PeSEP3* 后, 萼片和花瓣出现了绿色区域, 且顶端出现了深紫红色, 该研究提出的蝴蝶兰花发育调控网络模型中认为 *PeSEP3* 可以调控花色素积累。Li 等 (2020a) 通过对卡特兰 (*C. hybrid ‘KOVA’*) 的研究认为 *AP3-like* 和 *AGL6-like* 基因不同组合的时空表达可能参与了花色图案的形成。

表 1 兰科植物花青素苷合成相关基因及其功能
Table 1 Anthocyanin biosynthesis related genes and their functions in orchids

类型 Type	基因名称 Gene name	来源植物 Original plant	基因功能 Gene function	参考文献 Reference
结构基因 Structural gene	<i>CHS</i>	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	参与类黄酮的合成 Participate in the synthesis of flavonoids	孟衡玲 等, 2016
	<i>OgCHS</i>	文心兰 <i>Oncidium ‘Honey Dollp’</i>	瞬时表达产生花青素苷 Transient expression to produce anthocyanins	Liu et al., 2012
	<i>PcCHS</i>	兜兰 <i>Paphiopedilum concolor</i> Pfitz	对花瓣中的紫色斑点起着调控作用 It can regulate the purple spots in petals	李冬梅 等, 2012a
	<i>CHS</i>	建兰 ‘龙福星蝶’ <i>Cymbidium ensifolium ‘Longfuxingdie’</i>	在红色区域表达, 在黄绿色区域不表达 It is expressed in red area, but not in yellow green area	李文建 等, 2018
	<i>OgCHI</i>	文心兰 <i>Oncidium</i> Gower Ramsey	使黄色唇瓣产生花青素苷 It makes the yellow lips produce anthocyanins	Chiou & Yeh, 2008
	<i>CHI1, CHI2</i>	杂交石斛兰 <i>Dendrobium Sirin classic</i>	低表达导致颜色强度很低 Low expression leads to faded color	Kriangphan et al., 2015
	<i>Va-F3H1</i>	万代兰 <i>Vanda hybrid</i>	在白色品种中表达量非常低, 在淡紫色品种中表达量较高 The expression is very low in white varieties, but high in light purple varieties	Junka et al., 2011
	<i>F3H</i>	石斛兰 <i>Dendrobium officinale</i>	其表达影响二氢黄酮醇含量, 进而影响花青素苷的积累 The expression affected the content of dihydroflavonol, and then affect the accumulation of anthocyanins	Zhan et al., 2020
	<i>DmF3'5'H</i>	念珠石斛 <i>Dendrobium moniliforme</i>	使白色花被片产生了紫红色斑点 The white perianth produces purplish red spots	Whang et al., 2011
	<i>F3'5'H</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis hybrid</i>	转基因植株花瓣颜色由粉红色变为红紫色 The petal color of transgenic plants changed from pink to red purple	Su & Hsu, 2003
	<i>PhF3'H</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis</i>	在红色蝴蝶兰中的表达量远高于黄色蝴蝶兰 The expression level in red <i>Phalaenopsis</i> is much higher than that in yellow <i>Phalaenopsis</i>	杨玉霞 等, 2013
	<i>PsDFR</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis ‘Everspring Fairy’</i>	低表达导致花瓣和萼片 ABP 受阻, 没有花色素合成 Low expression of ABP in petals and sepals resulted in inhibition of anthocyanin synthesis	Ma et al., 2009
	<i>PeUFGT3</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis</i>	在红色花色形成过程中起重要作用 It plays an important role in the formation of red flower	Chen et al., 2011
	<i>CHS, DFR, ANS</i>	大花蕙兰 <i>Cymbidium hybrida</i>	粉红色品种中的表达高于黄色、绿色品种 The expression in pink was higher than that in yellow and green	Wang et al., 2014
	<i>ANS</i>	万代兰 <i>Vanda hybrid</i>	白色的形成可能与其缺失有关 The formation of white may be related to the absence of <i>ANS</i>	Junka et al., 2011
	<i>OgMYB1</i>	文心兰 <i>Oncidium</i> Gower Ramsey	激活 <i>OgCHI</i> 和 <i>OgDFR</i> 转录诱导红色色素的形成 Activation of <i>OgCHI</i> and <i>OgDFR</i> transcription induces red pigment formation	Chiou & Yeh, 2008
	<i>MYB</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis ‘Everspring Fairy’</i>	仅在紫色区域具有高表达, 在白色区域没有表达 It is highly express only in the purple region, but not in the white region	Ma et al., 2009

续表 2

类型 Type	基因名称 Gene name	来源植物 Original plant	基因功能 Gene function	参考文献 Reference
	<i>PeMYB2</i> , <i>PeMYB11</i> , <i>PeMYB12</i> <i>PeMYB11</i>	小兰屿蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis equestris</i> 蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis</i> Yushan Little Pearl	控制萼片和花瓣的底色、斑点和网纹 The color patterns of sepals and petals were controlled by the background, spots and reticulation 高表达产生紫黑色斑点 Purple black spots were produced by overexpression of <i>PeMYB11</i>	Hsu et al., 2015a Hsu et al., 2019
	<i>PeMYB7</i> , <i>PeMYB11</i> <i>RcPAP1</i> , <i>RcPAP2</i> <i>MYBx1</i>	蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis</i> ‘Panda’ 卡特兰 <i>Cattleya</i> hybrid ‘KOVA’ 蝴蝶兰 <i>Phalaenopsis</i> ‘Big Chili.’	正向调控 <i>PeF3H</i> 、 <i>PeF3'H</i> 和 <i>PeANS</i> 的表达 It promotes the expression of <i>PeF3H</i> , <i>PeF3'H</i> and <i>PeANS</i> 使蝴蝶兰白色花被片变成了紫红色 It turns white perianth of <i>Phalaenopsis</i> to purplish red 编码 R3-MYB 蛋白, 抑制花青素苷的积累 It encodes R3-MYB protein and inhibits anthocyanin accumulation	Zhao et al., 2019 Li et al., 2020a Fu et al., 2019
	<i>MYB10</i>	四川独蒜兰 <i>Pleione limprichtii</i>	调节 <i>PIFLS</i> 的表达, 作为抑制花青素苷形成的阻遏物 It can regulate the expression of <i>PIFLS</i> as a repressor of anthocyanin formation	Zhang et al., 2020
	<i>MYB10</i>	蝴蝶石斛兰 <i>Dendrobium phalaenopsis</i>	负调控 <i>DFR</i> 、 <i>ANS</i> 、 <i>F3H</i> 、 <i>F3'H</i> 的表达 It inhibits the expression of <i>DFR</i> , <i>ANS</i> , <i>F3H</i> and <i>F3'H</i>	丁灵, 2016
	<i>CyMYB1</i> , <i>CybHLH1</i> , <i>CybHLH2</i>	兰属 <i>Cymbidium</i> ‘Mystique’	形成复合物可以激活 <i>CyDFR</i> 和 <i>CyANS</i> The formation of complexes can activate <i>CyDFR</i> and <i>CyANS</i>	Nakatsuka et al., 2019
	<i>DhMYB2</i> , <i>DhbHLH1</i>	石斛杂交种 <i>Dendrobium</i> hybrids orchid	调节 <i>DhF3H</i> 、 <i>DhDFR</i> 和 <i>DhANS</i> , 导致白色花瓣产生紫色斑点 Regulation of <i>DhF3H</i> , <i>DhDFR</i> and <i>DhANS</i> genes resulted in purple spots on white petals	Li et al., 2017
	<i>bHLH</i> , <i>MYB</i>	大花蕙兰 <i>Cymbidium</i> hybrid ‘Jung Frau dos Pueblos’	同时过表达可产生大量花青素苷 Overexpression of these two genes at the same time can produce a large amount of anthocyanins	Albert et al., 2010
	<i>MYB4</i> , <i>bHLH1</i>	蝴蝶石斛兰 <i>Dendrobium phalaenopsis</i>	<i>bHLH1</i> 与 <i>MYB4</i> 形成互作的关系调控花青素苷生成 The interaction between <i>bHLH1</i> and <i>MYB4</i> formation regulates anthocyanin production	丁灵, 2016

3 兰花类胡萝卜素合成途径相关基因

目前, 有关类胡萝卜素代谢途径 (carotenoid biosynthesis pathway, CBP) 及参与代谢通路上的酶和基因都比较明确 (图 2) (陶俊 等, 2002; 刁卫楠 等, 2021; 王紫璇 等, 2021), 与类胡萝卜素合成相关的主要基因有 *PSY*、*PDS*、*ZDS*、*LYCE*、*LYCB* 等。

类胡萝卜素代谢途径中结构基因的研究在兰科植物中已有报道。黄昕蕾 (2018) 从鼓槌石斛 (*D. chrvsotoxum*) 中分离出了 13 个类胡萝卜素合成相关基因, 并对其进行表达量分析。Hieber 等 (2006) 在文心兰 (*O. Gower Ramsey*) 中分离出了 *oPSY*、*oPDS*、*ocrISO* 和 *oNCED* 基因。类胡萝卜素合成途径上的基因在文心兰黄色品种 ‘Gower Ramsey’、橙色品种 ‘Sunkist’ 以及白色品种 ‘White Jade’ 中的表达模式和水平有显著差异。如 *HYB* 和 *ZEP* 基因在黄色品种中有高表达, 而白色品种中没有检测到类胡萝卜素, 而且还发现白色品种是由于 *OgCCD1* 表达水平的升高而导致其花瓣为白色, 在黄色品种中过量表达 *OgCCD1* 导致其黄唇产生白斑, 而橙色品种由于 *OgHYB* 和 *OgZEP* 的下调导致 β -胡萝卜素积累从而表现为无光泽的深褐色小花 (Chiou et al., 2010)。Liu 等 (2019) 利用 RNA 干扰技术沉默文心兰 (*Oncidium orchid*) 中 *OgPSY* 后降低了花瓣中类胡萝卜素的含量, 花瓣由黄色转变为白色。类胡萝卜素合成途径上的 *BCH2* 可以调控文心兰 ‘Gower Ramsey’ 中黄色素的积累, *BCH-A2* 和 *BCH-B2* 的下调可以减少叶黄素的含量从而使花的颜色从亮黄色变为淡黄色和白黄色

(Wang et al., 2016)。通过对铁皮石斛早期花蕾（绿色）、中期花蕾（绿色）以及完全开放的花（黄色）进行转录组测序和代谢物分析，发现类胡萝卜素合成途径上的 *PSY*、*ZDS*、*CRTISO* 都在开放的花朵中表达，说明在开放花朵中出现黄色的原因可能是由于类胡萝卜素的积累；此外，还证明了花从绿色到黄色的变化是叶绿素减少和类胡萝卜素增加共同变化所导致（He et al., 2020）。以上研究结果均说明了类胡萝卜素与黄色花的形成高度相关。

相对于结构基因，类胡萝卜素合成途径上的转录因子研究较少，目前仅在卡特兰中发现有调控 *CBP* 结构基因的 *R2R3-MYB* 转录因子基因 *RcRCPI*，将该基因过表达达到蝴蝶兰中，白色花被片变成了微黄色，并且 *PePSY*、*PeLCYE* 和 *PeBCH1* 的转录水平上调，证实 *R2R3-MYB* 转录因子不仅可以激活 *ABP* 中的结构基因促进花青素积累，还可以激活类胡萝卜素生物合成途径的结构基因，促进类胡萝卜素的积累（Li et al., 2020a）。今后应加强 *CBP* 途径中转录因子的研究。

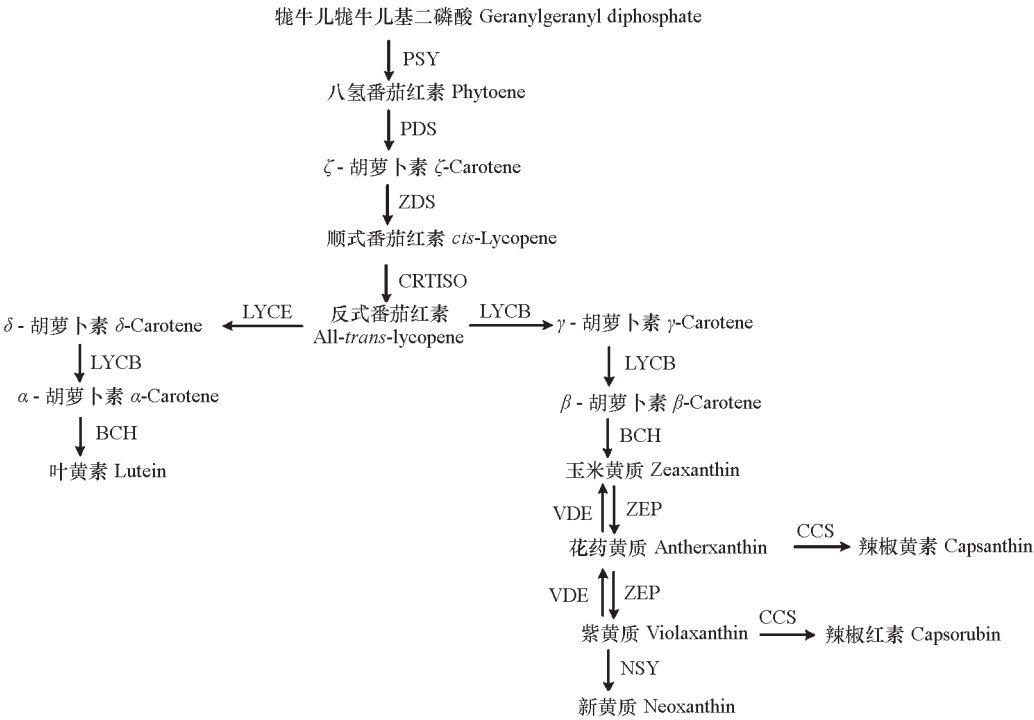


图 2 类胡萝卜素生物合成途径

PSY: 八氢番茄红素合成酶; PDS: 八氢番茄红素脱氢酶; ZDS: ζ-胡萝卜素脱氢酶; CRTISO: 类胡萝卜素异构酶;
LYCE: 番茄红素 ε-环化酶; LYCB: 番茄红素 β-环化酶; BCH: β-胡萝卜素羟化酶; VDE: 紫黄质脱环氧化酶;
ZEP: 玉米黄质环氧化酶; CCS: 辣椒红素合成酶; NSY: 新黄质合成酶。

Fig. 2 Carotenoid biosynthesis pathway

PSY: Phytoene synthase; PDS: Phytoene desaturase; ZDS: ζ-carotene desaturase; CRTISO: Carotenoid isomerase; LYCE: Lycopene ε-cyclase;
LYCB: Lycopene β-cyclase; BCH: β-carotene hydroxylase; VDE: Violaxanthin de-epoxidase; ZEP: Zeaxanthin epoxidase;
CCS: Capsanthin/Capsorubin synthase; NSY: Neoxanthin synthase.

4 展望

花青素生物合成途径非常复杂，尚未完全了解，其复杂的调控网络需要进一步深化研究。在结构基因方面，*CHS* 基因在文心兰属（Liu et al., 2012）、蝴蝶兰属（Han et al., 2006b）中都是由

3~5 个拷贝的小基因家族组成,但是对其家族的研究还相对有限,目前仅在蝴蝶兰 (*P. aphrodite*) 中有对其进行染色体水平上的研究 (Kuo et al., 2019)。因此,今后应对花色合成途径上的结构基因进行更深入的研究,为兰科植物新奇花色品种的培育奠定基础。

在转录因子方面,目前仅在蝴蝶兰、文心兰、石斛兰等少数兰科植物中分离鉴定出能够促进花青素合成的 R2R3-MYB 转录因子,负向调节的 R2R3-MYB 转录因子的相关报道则较少。此外,关于兰科植物 WD40 转录因子的研究也鲜有报道。调控花色的转录因子并不只有 MYB、bHLH 和 WD40,随着研究的深入,越来越多的转录因子在兰科植物中被鉴定出来。WRKY 和 ZIP 类蛋白也可能会与 MBW 复合体相互作用或作用于其上下游,参与花青素调控网络 (高国应 等, 2020)。研究表明 MADS-box 基因也可能参与调控花青素苷的合成,但该类基因如何影响花色形成,以及其是否真正参与花色的形成还有待验证和探索。在后续相关研究中还应该深入挖掘其他与兰科植物花色形成相关的转录因子,为花色分子育种提供更多的基因资源。另外,探明转录因子相互之间、转录因子与结构基因之间的表达模式,也可以为进一步探究花色形成和变化提供科学依据。

类胡萝卜素使植物呈现黄色到红色,在花色多样性中起着重要作用。然而与花青素代谢途径相比,兰科植物中对于类胡萝卜素途径合成和调控的研究很少,相关研究主要集中在文心兰属和石斛属中的少数物种;调控类胡萝卜素合成途径上的 R2R3-MYB 转录因子也鲜为人知,胡萝卜素合成相关基因表达机理的研究也不够深入。随着高通量测序技术的迅速发展,应加强兰科植物类胡萝卜素合成途径方面的研究,进一步探究类胡萝卜素在多种兰科植物中的代谢调控机制,为其花色改良提供参考价值。

环境因子可以通过调控结构基因和转录因子从而影响花青素的合成,包括光照、温度等。研究发现,高温会抑制大花蕙兰 ‘Champion’ 花被片中 *CyMYB1* 的转录, *CyDFR* 和 *CyANS* 表达量显著降低,花青素苷合成减少 (Nakatsuka et al., 2019)。植物激素也可以通过影响结构基因和转录因子的表达参与花青素生物合成途径。Villalobos-González 等 (2016) 发现脱落酸 (ABA) 可以诱导 *DFR*、*ANS* 上调从而导致花青素的积累。An 等 (2015) 发现茉莉酸酯能与 bHLH3 结合调控花青素。这为后续研究兰科植物花色提供了一个新思路,因此,今后应重点研究环境因子对结构基因和转录因子表达产生的影响,从而进一步探究兰花花色变异的分子机理。

兰科植物花色研究在花色素组成、功能基因等方面均取得了一定的进展,但仍存在不足之处。随着基因组、转录组、代谢组、蛋白组等多组学时代的到来,花色相关功能基因的挖掘将是未来兰花研究的热点,人们对兰科植物花色形成机制的认识不断加强,将有力推进兰科植物花色改良,为育种工作奠定基础。

References

- Albert N W, Arathoon S, Collette V E, Schwinn K E, Jameson P E, Lewis D H, Zhang H B, Davies K M. 2010. Activation of anthocyanin synthesis in *Cymbidium* orchids: variability between known regulators. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 100: 355 – 360.
- Albert N W, Davies K M, Lewis D H, Zhang H B, Montefiori M, Brendolise C, Boase M R, Ngo H, Jameson P E, Schwinn K E. 2014. A conserved network of transcriptional activators and repressors regulates anthocyanin pigmentation in eudicots. *The Plant Cell*, 26 (3): 962 – 980.
- An X H, Tian Y, Chen K Q, Liu X J, Liu D D, Xie X B, Cheng C G, Cong P H, Hao Y J. 2015. *MdMYB9* and *MdMYB11* are involved in the regulation of the JA-induced biosynthesis of anthocyanin and proanthocyanidin in apples. *Plant & Cell Physiology*, 56 (4): 650 – 662.
- An X H, Tian Y, Chen K Q, Wang X F, Hao Y J. 2012. The apple WD40 protein MdTTG1 interacts with bHLH but not MYB proteins to regulate

- anthocyanin accumulation. *Journal of Plant Physiology*, 169 (7): 710 - 717.
- Cao Yuwei, Xu Leifeng, Yang Panpan, Xu Hua, He Guoren, Tang Yuchao, Ren Junfang, Ming Jun. 2019. Differential expression of three R2R3-MYBs genes regulating anthocyanin pigmentation patterns in *Lilium* spp. *Acta Horticulturae Sinica*, 46 (5): 955 - 963. (in Chinese)
- 曹雨薇, 徐雷锋, 杨盼盼, 徐 华, 何国仁, 唐玉超, 任君芳, 明 军. 2019. 百合花青素苷呈色类型中 3 种 R2R3-MYBs 基因的差异表达. *园艺学报*, 46 (5): 955 - 963.
- Chen W H, Hsu C Y, Cheng H Y, Chang H, Chen H H, Ger M J. 2011. Downregulation of putative UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase gene alters flower coloring in *Phalaenopsis*. *Plant Cell Reports*, 30: 1007 - 1017.
- Chiou C Y, Pan H A, Chuang Y N, Yeh K W. 2010. Differential expression of carotenoid-related genes determines diversified carotenoid coloration in floral tissues of *Oncidium* cultivars. *Planta*, 232: 937 - 948.
- Chiou C Y, Yeh K W. 2008. Differential expression of *MYB* gene (*OgMYB1*) determines color patterning in floral tissue of *Oncidium* Gower Ramsey. *Plant Molecular Biology*, 66: 379 - 388.
- Dai Si-lan, Hong Yan. 2016. Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of anthocyanins biosynthesis and coloration. *Scientia Agricultura Sinica*, 49 (3): 529 - 542. (in Chinese)
- 戴思兰, 洪 艳. 2016. 基于花青素苷合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种. *中国农业科学*, 49 (3): 529 - 542.
- Diao Wei-nan, Zhu Hong-ju, Liu Wen-ge. 2021. Research progress on carotenoids in vegetable crops. *China Cucurbits and Vegetables*, 34 (1): 1 - 8. (in Chinese)
- 刁卫楠, 朱红菊, 刘文革. 2021. 蔬菜作物中类胡萝卜素研究进展. *中国瓜菜*, 34 (1): 1 - 8.
- Ding Ling. 2016. The relative expression and the analysis of key genes associated with the formation of floral color and scent in phalaenopsis type dendrobium[M. D. Dissertation]. Hainan: Hainan University. (in Chinese)
- 丁 灵. 2016. 蝴蝶石斛兰花色和花香形成相关基因的表达与分析[硕士论文]. 海南: 海南大学.
- Fan Rong-hui, Huang Min-ling, Zhong Huai-qin, Wu Jian-she. 2012. Cloning and expression analysis for color related genes in flower of *Oncidium* Sharry Baby. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 27 (7): 707 - 710. (in Chinese)
- 樊荣辉, 黄敏玲, 钟淮钦, 吴建设. 2012. 香水文心兰花色相关基因的克隆及表达分析. *福建农业学报*, 27 (7): 707 - 710.
- Feller A, Machemer K, Braun E L, Grotewold E. 2011. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors. *The Plant Journal*, 66 (1): 94 - 116.
- Fossen T, Øvstedal D O. 2003. Anthocyanins from flowers of the orchids *Dracula chimaera* and *D. cordobae*. *Phytochemistry*, 63 (7): 783 - 787.
- Fu Z Z, Shang H Q, Jiang H, Gao J, Dong X Y, Wang H J, Li Y M, Wang L M, Zhang J, Shu Q Y, Chao Y C, Xu M L, Wang R, Wang L S, Zhang H C. 2020. Systematic identification of the light-quality responding anthocyanin synthesis-related transcripts in petunia petals. *Horticultural Plant Journal*, 6 (6): 428 - 438.
- Fu Z Z, Wang L M, Shang H Q, Dong X Y, Jiang H, Zhang J, Wang H J, Li Y M, Yuan X, Meng S Y, Gao J, Feng N X, Zhang H C. 2019. An R3-MYB gene of *Phalaenopsis*, *MYBx1*, represses anthocyanin accumulation. *Plant Growth Regulation*, 88: 129 - 138.
- Gao Guo-ying, Wu Xiao-fang, Zhang Da-wei, Zhou Ding-gang, Zhang Kai-xuan, Yan Ming-li. 2020. Research progress on the MBW complexes in plant anthocyanin biosynthesis pathway. *Biotechnology Bulletin*, 36 (1): 126 - 134. (in Chinese)
- 高国应, 伍小方, 张大为, 周定港, 张凯旋, 严明理. 2020. MBW 复合体在植物花青素合成途径中的研究进展. *生物技术通报*, 36 (1): 126 - 134.
- Givnish T J, Spalink D, Ames M, Lyon S P, Hunter S J, Zuluaga A, Doucette A, Caro G G, McDaniel J, Clements M A, Arroyo M T K, Endara L, Kriebel R, Williams N H, Cameron K M. 2016. Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*, 43 (10): 1905 - 1916.
- Han Y Y, Ming F, Wang J W, Wen J G, Ye M M, Shen D L. 2006b. Cloning and characterization of a novel chalcone synthase gene from *Phalaenopsis*

- hybrida* orchid flowers. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53 (2): 223 – 230.
- Han Y Y, Ming F, Wang W, Wang J W, Ye M M, Shen D L. 2006a. Molecular evolution and functional specialization of chalcone synthase superfamily from *Phalaenopsis* orchid. *Genetica*, 128: 429 – 438.
- Hanumappa M, Choi G, Ryu S, Choi G. 2007. Modulation of flower colour by rationally designed dominant-negative chalcone synthase. *Journal of Experimental Botany*, 58 (10): 2471 – 2478.
- He C M, Liu X C, Teixeira da Silva J A, Liu N, Zhang M Z, Duan J. 2020. Transcriptome sequencing and metabolite profiling analyses provide comprehensive insight into molecular mechanisms of flower development in *Dendrobium officinale* (Orchidaceae). *Plant Molecular Biology*, 104: 529 – 548.
- Hermanns A S, Zhou X S, Xu Q, Tadmor Y, Li L. 2020. Carotenoid pigment accumulation in horticultural plants. *Horticultural Plant Journal*, 6 (6): 343 – 360.
- Hieber A D, Mudalige-Jayawickrama R G, Kuehnle A R. 2006. Color genes in the orchid *Oncidium* Gower Ramsey: identification, expression, and potential genetic instability in an interspecific cross. *Planta*, 223: 521 – 531.
- Holton T A, Brugliera F, Lester D R, Tanaka Y, Hyland C D, Menting J G T, Lu C Y, Farcy E, Stevenson T W, Cornish E C. 1993. Cloning and expression of cytochrome P450 genes controlling flower colour. *Nature*, 366: 276 – 279.
- Hsiao Y Y, Pan Z J, Hsu C C, Yang Y P, Hsu Y C, Chuang Y C, Shih H H, Chen W H, Tsai W C, Chen H H. 2011. Research on orchid biology and biotechnology. *Plant and Cell Physiology*, 52 (9): 1467 – 1486.
- Hsieh M H, Lu H C, Pan Z J, Yeh H H, Wang S S, Chen W H, Chen H H. 2013. Optimizing virus-induced gene silencing efficiency with *Cymbidium* mosaic virus in *Phalaenopsis* flower. *Plant Science*, (201-202): 25 – 41.
- Hsu C C, Chen Y Y, Tsai W C, Chen W H, Chen H H. 2015a. Three R2R3-MYB transcription factors regulate distinct floral pigmentation patterning in *Phalaenopsis* spp. *Plant Physiology*, 168 (1): 175 – 191.
- Hsu C C, Su C J, Jeng M F, Chen W H, Chen H H. 2019. A *HORT1* retrotransposon insertion in the *PeMYB11* promoter causes harlequin/black flowers in *Phalaenopsis* orchids. *Plant Physiology*, 180 (3): 1535 – 1548.
- Hsu H F, Hsu W H, Lee Y I, Mao W T, Yang J Y, Li J Y, Yang C H. 2015b. Model for perianth formation in orchids. *Nature Plants*, 1: 15046.
- Huang Xin-lei. 2018. Research on molecular regulation mechanism of formation of floral color and floral fragrance of *Dendrobium chrysotoxum* based on transcriptome sequencing [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Chinese Academy of Forestry. (in Chinese)
- 黄昕蕾. 2018. 基于转录组测序的鼓槌石斛花色花香形成分子调控机理研究 [博士论文]. 北京: 中国林业科学研究院.
- Jin Ya-zhong, Qi Juan, He Shu-ping, Wu Xing-biao, Zhang Tian-yi, Wang Xue-jiao, Hu Wen-qu, Lu Zhao-hui, Zhang Peng. 2021. Recent advance of R2R3-MYB transcription factors regulating the formation of fruit and vegetable qualities. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 29 (2): 364 – 374. (in Chinese)
- 靳亚忠, 齐娟, 何淑平, 吴兴彪, 张天一, 王雪娇, 胡文曲, 卢朝晖, 张鹏. 2021. R2R3-MYB 转录因子调控果蔬品质形成的研究进展. *农业生物技术学报*, 29 (2): 364 – 374.
- Junka N, Kanlayanarat S, Buanong M, Wongchaochant S, Wongs-Aree C. 2011. Analysis of anthocyanins and the expression patterns of genes involved in biosynthesis in two *Vanda* hybrids. *International Journal of Agriculture & Biology*, 13 (6): 873 – 880.
- Kong Lan, Fan Rong-hui, Lin Rong-yan, Ye Xiu-xian, Lin Bing, Zhong Huai-qin. 2021. Transcriptome analysis of pigment biosynthesis and floral scent biosynthesis in *Cymbidium* hybrid. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 41 (1): 86 – 95. (in Chinese)
- 孔兰, 樊荣辉, 林榕燕, 叶秀仙, 林兵, 钟淮钦. 2021. 杂交兰花色花香生物合成途径的转录组分析. *西北植物学报*, 41 (1): 86 – 95.
- Kriangphan N, Vuttipongchaikij S, Kittiwongwattana C, Suttangkakul A, Pinmanee P, Sakulsathaporn A, Suwimon R, Suputtitada S, Chanvivattana Y, Apisitwanich S. 2015. Effects of sequence and expression of eight anthocyanin biosynthesis genes on floral coloration in four *Dendrobium* hybrids. *The Horticulture Journal*, 84 (1): 83 – 92.

- Kuo Y T, Chao Y T, Chen W C, Shih M C, Chang S B. 2019. Segmental and tandem chromosome duplications led to divergent evolution of the *chalcone synthase* gene family in *Phalaenopsis* orchids. *Annals of Botany*, 123 (1): 69 – 77.
- Lau S E, Schwarzacher T, Othman R Y, Harikrishna J A. 2015. dsRNA silencing of an R2R3-MYB transcription factor affects flower cell shape in a *Dendrobium* hybrid. *BMC Plant Biology*, 15: 194.
- Li B J, Zheng B Q, Wang J Y, Tsai W C, Lu H C, Zou L H, Wan X, Zhang D Y, Qiao H J, Liu Z J, Wang Y. 2020a. New insight into the molecular mechanism of colour differentiation among floral segments in orchids. *Communications Biology*, 3: 89.
- Li C H, Qiu J, Ding L, Huang M Z, Huang S R, Yang G S, Yin J M. 2017. Anthocyanin biosynthesis regulation of *DhMYB2* and *DhbHLH1* in *Dendrobium* hybrids petals. *Plant Physiology and Biochemistry*, 112: 335 – 345.
- Li C N, Ng C K Y, Fan L M. 2015. MYB transcription factors, active players in abiotic stress signaling. *Environmental & Experimental Botany*, 114: 80 – 91.
- Li Cheng-ru, Dong Na, Li Xiao-ping, Wu Sha-sha, Liu Zhong-jian, Zhai Jun-wen. 2020. A review of MADS-box genes, the molecular regulatory genes for floral organ development in Orchidaceae. *Acta Horticulturae Sinica*, 47 (10): 2047 – 2062. (in Chinese)
- 李成儒, 董 钠, 李笑平, 吴沙沙, 刘仲健, 翟俊文. 2020. 兰科植物花发育调控 MADS-box 基因家族研究进展. *园艺学报*, 47 (10): 2047 – 2062.
- Li Chong-hui, Qiu Jian, Yang Guang-sui, Wang Cun, Huang Su-rong. 2013. Research progress in chemical mechanism and functional genes associated with orchid floral color. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 33 (7): 45 – 53. (in Chinese)
- 李崇晖, 仇 键, 杨光穗, 王 存, 黄素荣. 2013. 兰花花色化学及相关功能基因研究进展. *热带农业科学*, 33 (7): 45 – 53.
- Li Dong-mei, Cao Jun-xi, Zhu Gen-fa, Lü Fu-bing, Sun Ying-bo, Wang Zhen. 2012b. Molecular cloning and expression analysis of a dihydroflavonol 4-reductase gene from *Paphiopedilum*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 28 (28): 203 – 210. (in Chinese)
- 李冬梅, 操君喜, 朱根发, 吕复兵, 孙映波, 王 真. 2012b. 兜兰二氢黄酮醇 - 4 - 还原酶基因的克隆及其表达特性. *中国农学通报*, 28 (28): 203 – 210.
- Li Dong-mei, Zhu Gen-fa, Cao Jun-xi, Lü Fu-bing, Liu Hai-lin, Sun Ying-bo. 2012a. Molecular cloning and expression analysis of a chalcone synthase gene from *Paphiopedilum* orchid. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 33 (4): 655 – 662. (in Chinese)
- 李冬梅, 朱根发, 操君喜, 吕复兵, 刘海林, 孙映波. 2012a. 兜兰查尔酮合成酶基因的克隆与表达分析. *热带作物学报*, 33 (4): 655 – 662.
- Li Wei-xing, Yang Shun-bo, He Zhi-chong, Jin Biao. 2017. Research advances in the regulatory mechanisms of leaf coloration. *Acta Horticulturae Sinica*, 44 (9): 1811 – 1824. (in Chinese)
- 李卫星, 杨舜博, 何智冲, 金 飏. 2017. 植物叶色变化机制研究进展. *园艺学报*, 44 (9): 1811 – 1824.
- Li Wen-jian, Feng Jing, Jia Wen-qing, Shen Yong-bao. 2018. Molecular regulation mechsism of floral color formation in *Cymbidium ensifolium*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 38 (4): 615 – 623. (in Chinese)
- 李文建, 冯 景, 贾文庆, 沈永宝. 2018. 建兰花色形成的分子调控机理研究. *西北植物学报*, 38 (4): 615 – 623.
- Li Y Q, Shan X T, Tong L N, Wei C, Lu K Y, Li S Y, Kimani S, Wang S C, Wang L, Gao X. 2020b. The conserved and particular roles of the R2R3-MYB regulator FhPAP1 from *Freesia hybrida* in flower anthocyanin biosynthesis. *Plant and Cell Physiology*, 61 (7): 1365 – 1380.
- Liew C F, Loh C S, Goh C J, Lim S H. 1998. The isolation, molecular characterization and expression of dihydroflavonol 4-reductase cDNA in the orchid, *Bromheadia finlaysonianana*. *Plant Science*, 135 (2): 161 – 169.
- Lin C S, Hsu C T, Liao D C, Chang W J, Chou M L, Huang Y T, Chen J J W, Ko S S, Chan M T, Shih M C. 2016. Transcriptome-wide analysis of the MADS-box gene family in the orchid *Erycina pusilla*. *Plant Biotechnology Journal*, 14 (1): 284 – 298.
- Liu Hong-feng. 2015. Anthocyanins constitution and expression analysis of color-related genes in *Paeonia ostii* with different flower color[M. D. Dissertation]. Beijing: Beijing Forestry University. (in Chinese)
- 刘洪峰. 2015. 凤丹不同颜色花瓣的色素及花色形成相关基因表达分析[硕士论文]. 北京: 北京林业大学.

- Liu J Y, Osbourn A, Ma P D. 2015. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. *Molecular Plant*, 8 (5): 689 – 708.
- Liu Kai-yuan, Wang Mao-liang, Xin Hai-bo, Zhang Hua, Cong Ri-chen, Huang Da-zhuang. 2021. Anthocyanin biosynthesis and regulate mechanisms in plants: a review. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 37 (14): 41 – 51. (in Chinese)
- 刘恺媛, 王茂良, 辛海波, 张 华, 丛日晨, 黄大庄. 2021. 植物花青素合成与调控研究进展. *中国农学通报*, 37 (14): 41 – 51.
- Liu X J, Chuang Y N, Chiou C Y, Chin D C, Shen F Q, Yeh K W. 2012. Methylation effect on chalcone synthase gene expression determines anthocyanin pigmentation in floral tissues of two *Oncidium* orchid cultivars. *Planta*, 236: 401 – 409.
- Liu Y C, Yeh C W, Chung J D, Tsai C Y, Chiou C Y, Yeh K W. 2019. Petal-specific RNAi-mediated silencing of the phytoene synthase gene reduces xanthophyll levels to generate new *Oncidium* orchid varieties with white-colour blooms. *Plant Biotechnology Journal*, 17: 2035 – 2037.
- Liu Y, Tikunov Y, Schouten R E, Marcelis L F M, Visser R G F, Bovy A. 2018. Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in *Solanaceous* vegetables: a review. *Frontiers in Chemistry*, 6: 52.
- Lloyd A, Brockman A, Aguirre L, Campbell A, Bean A, Cantero A, Gonzalez A. 2017. Advances in the MYB-bHLH-WD repeat (MBW) pigment regulatory model: addition of a WRKY factor and co-option of an anthocyanin MYB for betalain regulation. *Plant & Cell Physiology*, 58 (9): 1431 – 1441.
- Ma H M, Pooler M, Griesbach R. 2009. Anthocyanin regulatory/structural gene expression in *Phalaenopsis*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134 (1): 88 – 96.
- Meng Heng-ling, Zhang Wei, Lu Bing-yue, Su Yi-lan, Xue Chun-li. 2016. Cloning and expression of chalcone synthase gene from *Dendrobium officinale*. *Journal of Southern Agriculture*, 47 (12): 2015 – 2019. (in Chinese)
- 孟衡玲, 张 薇, 卢丙越, 苏一兰, 薛春丽. 2016. 铁皮石斛查尔酮合酶基因克隆与表达分析. *南方农业学报*, 47 (12): 2015 – 2019.
- Meng X Q, Li G, Gu L Y, Sun Y, Li Z Y, Liu J R, Wu X Q, Dong T T, Zhu M K. 2020. Comparative metabolomic and transcriptome analysis reveal distinct flavonoid biosynthesis regulation between petals of white and purple *Phalaenopsis amabilis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39: 823 – 840.
- Mudalige-Jayawickrama R G, Champagne M M, David Hieber A, Kuehnle A R. 2005. Cloning and characterization of two anthocyanin biosynthetic genes from *Dendrobium* orchid. *American Society for Horticultural Science*, 130 (4): 611 – 618.
- Nakatsuka T, Suzuki T, Harada K, Kobayashi Y, Dohra H, Ohno H. 2019. Floral organ-and temperature-dependent regulation of anthocyanin biosynthesis in *Cymbidium* hybrid flowers. *Plant Science*, 287: 110173.
- Pan Li-jing, Zhang Miao-bin, Fan Gan-qun, Chen Wei-ting, Cao You-pei. 2010. Cloning, sequencing and prokaryotic expression of *dfi* from *Dendrobium*. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (1): 129 – 134. (in Chinese)
- 潘丽晶, 张妙彬, 范干群, 陈伟庭, 曹友培. 2010. 石斛兰 *dfi* 基因的克隆、序列分析及原核表达. *园艺学报*, 37 (1): 129 – 134.
- Pan Z J, Chen Y Y, Du J S, Chen Y Y, Chung M C, Tsai W C, Wang C N, Chen H H. 2014. Flower development of *Phalaenopsis* orchid involves functionally divergent *SEPALLATA*-like genes. *New Phytologist*, 202: 1024 – 1042.
- Petit P, Granier T, D'Estaintot B L, Manigand C, Bathany K, Schmitter J M, Lauvergeat V, Hamdi S, Gallois B. 2007. Crystal structure of grape dihydroflavonol 4-reductase, a key enzyme in flavonoid biosynthesis. *Journal of Molecular Biology*, 368: 1345 – 1357.
- Sahagun J, Ratanasut K. 2016. Development of *flavanone-3-hydroxylase* (*F3H*) gene silencing system in *Dendrobium* Sonia 'Earsakul' flowers for engineering aurone biosynthetic pathway. The 5th International Biochemistry and Molecular Biology Conference. Songkhla: 266 – 269.
- Schaart J G, Dubos C, de La Fuente I R, van Houwelingen A M M L, de Vos R C H, Jonker H H, Xu W, Routaboul J, Lepiniec L, Bovy A G. 2013. Identification and characterization of MYB-bHLH-WD40 regulatory complexes controlling proanthocyanidin biosynthesis in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits. *New Phytologist*, 197 (2): 454 – 467.
- Shi Qian-qian. 2015. Studies on the molecular mechanism of *Paeonia delavayi* flower color formation [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Chinese

- Academy of Forestry. (in Chinese)
- 史倩倩. 2015. 基于转录组测序滇牡丹花色形成分子调控机理研究[博士学位]. 北京: 中国林业科学研究院.
- Song Jian-hui, Guo Chang-kui, Shi Min. 2021. Anthocyanin biosynthesis and transcriptional regulation in plant. *Molecular Plant Breeding*, 19 (11): 3612 – 3620. (in Chinese)
- 宋建辉, 郭长奎, 石 敏. 2021. 植物花青素生物合成及调控. *分子植物育种*, 19 (11): 3612 – 3620.
- Su V, Hsu B D. 2003. Cloning and expression of a putative cytochrome P450 gene that influences the colour of *Phalaenopsis* flowers. *Biotechnol Letters*, 25: 1933 – 1939.
- Sun Ye, Bao Jian-zhong, Liu Chun-gui, Li Feng-tong, Chen Xiu-lan. 2015. Progresses on genetic engineering in orchid floral color. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 29 (9): 1701 – 1710. (in Chinese)
- 孙 叶, 包建忠, 刘春贵, 李凤童, 陈秀兰. 2015. 兰花花色基因工程研究进展. *核农学报*, 29 (9): 1701 – 1710.
- Tanaka Y, Tsuda S, Kusumi T. 1998. Metabolic engineering to modify flower color. *Plant and Cell Physiology*, 39 (11): 1119 – 1126.
- Tao Jun, Zhang Shang-long, Xu Chang-jie, An Xin-min, Zhang Liang-cheng. 2002. Gene and gene engineering of carotenoid biosynthesis. *Chinese Journal of Biotechnology*, 18 (3): 276 – 281. (in Chinese)
- 陶 俊, 张上隆, 徐昌杰, 安新民, 张良诚. 2002. 类胡萝卜素合成的相关基因及其基因工程. *生物工程学报*, 18 (3): 276 – 281.
- Tatsuzawa F, Ichihara K, Shinoda K, Miyoshi K. 2010. Flower colours and pigments in *Disa* hybrid (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, 76 (1): 49 – 53.
- Teo Z W N, Zhou W, Shen L S. 2019. Dissecting the function of MADS-Box transcription factors in orchid reproductive development. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1474.
- Tian Ai-mei, Xu Zhong-min, Zhang En-hui. 2014. Isolation and molecular characterization of *BsCHS* gene from *Bletilla striata*. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 23 (7): 91 – 95. (in Chinese)
- 田爱梅, 许忠民, 张恩慧. 2014. 白芨查尔酮合成酶基因的克隆与分析. *西北农业学报*, 23 (7): 91 – 95.
- Villalobos-González L, Peña-Neira A, Ibáñez F, Pastenes C. 2016. Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: gene expression and metabolite content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105: 213 – 223.
- Wang H M, To K Y, Lai H M, Jeng S T. 2016. Modification of flower colour by suppressing β -ring carotene hydroxylase genes in *Oncidium*. *Plant Biology*, 18: 220 – 229.
- Wang L, Albert N W, Zhang H B, Arathoon S, Boase M R, Ngo H, Schwinn K E, Davies K M, Lewis D H. 2014. Temporal and spatial regulation of anthocyanin biosynthesis provide diverse flower colour intensities and patterning in *Cymbidium* orchid. *Planta*, 240: 983 – 1002.
- Wang Zi-xuan, Li Jia-jia, Yu Xu-dong, Cai Ze-ping, Luo Jia-jia, Xu Zhi-hui. 2021. An overview of carotenoids biosynthesis in higher plants. *Molecular Plant Breeding*, 19 (8): 2627 – 2637. (in Chinese)
- 王紫璇, 李佳佳, 于旭东, 蔡泽坪, 罗佳佳, 徐芷蕙. 2021. 高等植物类胡萝卜素生物合成研究进展. *分子植物育种*, 19 (8): 2627 – 2637.
- Whang S S, Um W S, Song I J, Li P O, Choi K, Park K W, Kang K W, Choi M S, Koo J C. 2011. Molecular analysis of anthocyanin biosynthetic genes and control of flower coloration by flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H) in *Dendrobium moniliforme*. *Journal of Plant Biology*, 54: 209 – 218.
- Xu Chuan-jun, Huang Jun-mei, Huang Wen, Zeng Bi-yu. 2015. Studies on the anthocyanin content and related gene expression in different floral colours cultivars of *Phalaenopsis*. *Journal of South China Normal University (Natural Science Edition)*, 47 (3): 93 – 99. (in Chinese)
- 许传俊, 黄珺梅, 黄 雯, 曾碧玉. 2015. 不同花色品种蝴蝶兰花色素苷含量分析及相关基因表达研究. *华南师范大学学报 (自然科学版)*, 47 (3): 93 – 99.
- Xu Hua-xin, Huang Peng-lin. 1999. Molecular cloning and analysis of the cDNA clones encoding chalcone synthase in *Phalaenopsis*. *J. Chinese Soc. Hort. Sci*, 45 (1): 19 – 35. (in Chinese)

- 許華欣, 黃鵬林. 1999. 蝴蝶蘭苯基苯乙烯酮合成酶 cDNA 之選殖及分析. *中國園藝*, 45 (1): 19 – 35.
- Xu W J, Dubos C, Lepiniec L. 2015. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. *Trends in Plant Science*, 20 (3): 176 – 185.
- Yang Yu-xia, Sun Fei-fei, Zhang Chang-wei. 2013. Construction of full-length cDNA library and the cDNA cloning of F3'H in *Phalaenopsis*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 33 (9): 1731 – 1738. (in Chinese)
- 楊玉霞, 孫菲菲, 張昌偉. 2013. 蝴蝶蘭全長 cDNA 文庫構建及 F3'H 基因克隆. *西北植物學報*, 33 (9): 1731 – 1738.
- Zhan X Q, Qi J F, Zhou B, Mao B Z. 2020. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal the regulation of pigmentation in the purple variety of *Dendrobium officinale*. *Scientific Reports*, 10: 17700.
- Zhang Jia-qiang, Shi Xiao-hua, Liu Hui-chun, Ma Guang-ying, Zou Qing-cheng, Zhu Kai-yuan, Zhou Jiang-hua, Mao Jun-ming. 2018. Study on the differential accumulation of anthocyanin in different-colored *Phalaenopsis* based on transcriptomics. *Molecular Plant Breeding*, 16 (14): 4530 – 4542. (in Chinese)
- 張加強, 史小華, 劉慧春, 馬廣瑩, 鄒清成, 朱開元, 周江華, 毛軍銘. 2018. 基於轉錄組學的不同色系蝴蝶蘭花色苷差異積累分析. *分子植物育種*, 16 (14): 4530 – 4542.
- Zhang S B, Yang Y J, Li J W, Qin J, Zhang W, Huang W, Hu H. 2018. Physiological diversity of orchids. *Plant Diversity*, 40: 196 – 208.
- Zhang Y Y, Zhou T H, Dai Z W, Dai X Y, Li W, Cao M X, Li C R, Tsai W C, Wu X Q, Zhai J W, Liu Z J, Wu S S. 2020. Comparative transcriptomics provides insight into floral color polymorphism in a *Pleione limprichtii* orchid population. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (1): 247.
- Zhang Y, Butelli E, Martin C. 2014. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 19: 81 – 90.
- Zhao A J, Cui Z, Li T G, Pei H Q, Sheng Y H, Li X Q, Zhao Y, Zhou Y, Huang W J, Song X Q, Peng T, Wang J. 2019. mRNA and miRNA expression analysis reveal the regulation for flower spot patterning in *Phalaenopsis* 'Panda'. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (17): 4250.
- Zhao An-jin. 2018. Mining and expression analysing of key gene for flower spot patterning in *Phalaenopsis aphrodite* Rchb. F. [M. D. Dissertation]. Haikou: Hainan University. (in Chinese)
- 趙安瑾. 2018. 蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis aphrodite* Rchb. F.) 花斑形成關鍵基因的挖掘與驗證[碩士論文]. 海口: 海南大學.
- Zhao D Q, Tao J. 2015. Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants. *Frontiers in Plant Science*, 6: 261.
- Zhong Huai-qin, Huang Min-ling, Wu Jian-she, Fan Rong-hui, Lin Bing. 2014. Cloning and expression analysis of dihydroflavonol-4-reductase gene *DtpsDFR* in *Doritaenopsis* hybrid. *Chinese Journal of Cell Biology*, 36 (10): 1375 – 1381. (in Chinese)
- 鍾淮欽, 黃敏玲, 吳建設, 樊榮輝, 林 兵. 2014. 朵麗蝶蘭二氫黃酮醇 4-還原酶基因 *DtpsDFR* 的克隆與表達分析. *中國細胞生物學學報*, 36 (10): 1375 – 1381.
- Zhu An-chao. 2014. Investigation on mechanism of green disk florets of spray cut chrysanthemum [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 朱安超. 2014. “綠心”切花小菊管狀花綠色形成机理研究[碩士論文]. 南京: 南京農業大學.