



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Evolution and development of orchid flowers and fruits

Dirks, A.

Citation

Dirks, A. (2020, February 5). *Evolution and development of orchid flowers and fruits*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/84583>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/84583>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/84583> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Dirks-Mulder, A.

Title: Evolution and development of orchid flowers and fruits

Issue Date: 2020-02-05

Curriculum Vitae

Anita Mulder was born in The Hague, the Netherlands, on November 10th, 1965. In 1983 she graduated from the Veurs College in Leidschendam and started her studies on Biotechnological Research at the Van Leeuwenhoek Instituut Delft. As part of this education she performed an internship in the group of Prof. dr. M. van der Ploeg, under supervision of Prof. dr. A.K. Raap, at the Laboratory of Cytochemistry and Cytometry (Leiden University). After receiving her Bachelor of Applied Sciences degree in 1987 she started as a research technician in the same group where she worked on developing a fast and sensitive method to detect cytomegalovirus infections in blood of transplantation patients.

From 1990 she worked as a research technician at the Department of Biochemistry & Molecular Biology at the Free University of Amsterdam in the group of Prof. dr. H.A. Raué on ribosome assembly in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In 1994 she moved to the Division of Molecular Biology and Center of Biomedical Genetics at The Netherlands Cancer Institute in Amsterdam under supervision of Prof. dr. P. Borst. Here she participated in research to find out how the parasite *Trypanosoma brucei* survives in the mammalian blood stream by regularly changing its variant surface glycoprotein coat. In 2000 she changed jobs and since then she is working as a lecturer at the Faculty of Science and Technology at the University of Applied Sciences Leiden.

From 2005 onward Anita became a member of the Innovative Molecular Diagnostics chair at the University of Applied Sciences Leiden under supervision of Dr. W.B. van Leeuwen and participated in the following projects: Monitoring of the viral load of SARS-coronaviruses in patients using multiplex real-time PCR. Medical Microbiology, LUMC, in the group of Dr. E.C.J. Claas (2005); Evaluation of the occurrence of aberrant promoter methylation in uveal melanomas. Departments of Dermatology and Ophthalmology, LUMC, in the group of Dr. P.A. van der Velden (2006); Haplotyping of ~100 DNA samples from patients from the AMC with Genotyping by Amplicon Melting Analysis. Department of Human and Clinical Genetics and The Hemoglobinopathies Laboratory, LUMC, in the group of Dr. C.L. Harteveld (2007); Diagnosing tumor cells on basis of DHX8 expression levels. Department of Molecular Cell Biology, LUMC, in the group of Dr. R.W. Dirks (2008/2009); Development of a multiplex Q-PCR to detect *Trichoderma harzianum* T22 in soils samples. Commissioned by Koppert Biological Systems, Berkel en Rodenrijs. (2010-2012).

In 2012 she became a researcher in the Biodiversity chair under supervision of Dr. B. Gravendeel and worked on cloning and characterization of orchid MADS-box A and B class genes. In the same year Anita applied for a PhD grant from the Netherlands Organisation for Scientific Research (NWO) for teachers and with this grant she started her PhD in 2013 in the Endless Forms group at Naturalis Biodiversity Center under supervision of Dr. B. Gravendeel and Prof. dr. E.F. Smets, which resulted in the research described in this thesis.

List of publications

Dirks-Mulder A, Ahmed I, Broek uit het M, Krol L, Menger N, Snier J, Winzum van A, Wolf de A, Wout van 't M, Zeegers JJ, Butôt R, Heijungs R, Heuven van BJ, Kruizinga J, Langelaan R, Smets EF, Star W, Bemer M, Gravendeel B (2019). Morphological and molecular characterization of orchid fruit development. *Front. Plant Sci*, 10: 137.

Dirks-Mulder A, Butôt R, Schaik van P, Wijnands JW, Berg van den R, Krol L, Doebar S, Kooperen van K, Boer de H, Kramer EM, Smets EF, Vos RA, Vrijdaghs A, Gravendeel B (2017). Exploring the evolutionary origin of floral organs of *Erycina pusilla*, an emerging orchid model system. *BMC Evol. Biol*, 17(1): 89.

Horn IR, Rijn van M, Zwetsloot TJ, Basmagi S, **Dirks-Mulder A**, Leeuwen van WB, Ravensberg WJ, Gravendeel B (2016). Development of a multiplex Q-PCR to detect *Trichoderma harzianum* Rifai strain T22 in plant roots. *J. Microbiol. Methods*, 121: 44-49.

Gravendeel B, **Dirks-Mulder A**. (2015). Floral development: Lip formation in orchids unravelled. *Nat. Plants* 1: 15056.

Molecular diagnostic analysis of outbreak scenarios. Morsink MC, Dekter HE, **Dirks-Mulder A**, Leeuwen van WB (2012). *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, 40 (2): 112–120.

Maat W, el Filali M, **Dirks-Mulder A**, Luyten GP, Gruis NA, Desjardins L, Boender P, Jager MJ, Velden van der PA (2009). Episodic Src activation in uveal melanoma revealed by kinase activity profiling. *Br. J. Cancer*, 101(2): 312-319.

Maat W, Velden van der PA, Out-Luiting C, Plug M, **Dirks-Mulder A**, Jager MJ, Gruis NA (2007). Epigenetic inactivation of RASSF1a in uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 48(2): 486-490.

Toaldo CB, Kieft R, **Dirks-Mulder A**, Sabatini R, Luenen van HG, Borst P (2005). A minor fraction of base J in kinetoplastid nuclear DNA is bound by the J-binding protein 1. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 143(1): 111-115.

Cross M, Kieft R, Sabatini R, **Dirks-Mulder A**, Chaves I, Borst P (2002). J-binding protein increases the level and retention of the unusual base J in trypanosome DNA. *Mol. Microbiol.*, 46(1): 37-47.

Dooijes D, Chaves I, Kieft R, **Dirks-Mulder A**, Martin W, Borst P (2000). Base J originally found in Kinetoplastida is also a minor constituent of nuclear DNA of *Euglena gracilis*. *Nucleic Acids Res.*, 28(16): 3017-3021.

Chaves I, Rudenko G, **Dirks-Mulder A**, Cross M, Borst P (1999). Control of variant surface glycoprotein gene-expression sites in *Trypanosoma brucei*. *EMBO J.*, 18: 4846-4855.

Chaves I, Zomerdijk J, **Dirks-Mulder A**, Dirks RW, Raap AK, Borst P (1998). Subnuclear localization of the active variant surface glycoprotein gene expression site in *Trypanosoma brucei*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 12328-12333.

Rudenko G, Chaves I, **Dirks-Mulder A**, Borst P (1998). Selection for activation of a new variant surface glycoprotein gene expression site in *Trypanosoma brucei* can result in deletion of the old one. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 95: 97-109.

Leeuwen van F, **Dirks-Mulder A**, Dirks R.W, Borst P, Gibson W (1998). The modified DNA base β -D-glucosyl-hydroxymethyluracil is not found in the tsetse fly stages of *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 94: 127-130.

Jeeninga RE, Delft van Y, Graaff-Vincent de M, **Dirks-Mulder A**, Venema J, Raué HA (1997). Variable regions V13 and V3 of *Saccharomyces cerevisiae* contain structural features essential for normal biogenesis and stability of 5.8S and 25S rRNA. *RNA*, 5: 476-488.

Rudenko G, McCulloch R, **Dirks-Mulder A**, Borst P (1996). Telomere exchange can be an important mechanism of variant surface glycoprotein gene switching in *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 80: 65-75.

Rudenko G, Blundell PA, **Dirks-Mulder A**, Kieft R, Borst P (1995). A ribosomal DNA promotor replacing the promotor of a telomeric VSG gene expression site can be efficiently switched on and off in *T. brucei*. *Cell*, 83: 547-553.

Nues van RW, Venema J, Rientjes MJM, **Dirks-Mulder A**, Raué HA (1995). Processing of eukaryotic pre-rRNA: the role of transcribed spacers. *Biochem. Cell. Biol.*, 73: 789-801

Venema J, **Dirks-Mulder A**, Faber AW, Raué HA (1995). Development and application of an in vivo system to study yeast ribosomal RNA biogenesis and function. *Yeast*, 11: 145-156.

Abraham PR, **Mulder A**, Riet van 't J, Raué HA (1994). Characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* nuclear gene CYB3 encoding a cytochrome b polypeptide of respiratory complex II. *Mol. Gen. Genet.*, 242: 708-716.

Abraham PR, **Mulder A**, Riet van 't J, Planta RJ, Raué HA (1992). Molecular cloning and physical analysis of an 8.2kb segment of chromosome XI of *Saccharomyces cerevisiae* reveals five tightly linked genes. *Yeast*, 8: 277-238.

Kooi EA, Rutgers CA, **Mulder A**, Riet van 't J, Venema J, Raué HA (1993). The phylogenetically conserved doublet tertiary interaction in domain III of the large subunit rRNA is crucial for ribosomal protein binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 213-216.

Jiwa NM, Rijke van de FM, **Mulder A**, Bij van der W, The TH, Rothbarth PH, Velzing J, Ploeg van der M, Raap AK (1989). An improved immunocytochemical method for the detection of human cytomegalovirus antigens in peripheral blood leucocytes. *Histochemistry*, 91: 345-349.

Jiwa NM, Gemert van GW, Raap AK, Rijke van de FM, **Mulder A**, Lens PF, Salimans MMM, Zwaan FE, Dorp van W, Ploeg van der M. (1989). Rapid detection of human cytomegalovirus DNA in peripheral blood leucocytes of viremic transplant recipients by the polymerase chain reaction. *Transplantation*, 48: 72-76.

Jiwa NM, Raap AK, Rijke van de FM, **Mulder A**, Weening JJ, Zwaan FE, The TH, Ploeg van der M. (1989). Detection of cytomegalovirus antigens and DNA in tissues fixed in formaldehyde. *J. Clin. Pathology*, 42(7): 749-754.

Dankwoord

Waarom wil je als docent eigenlijk een promotieonderzoek doen? Deze vraag heb ik vaak moeten beantwoorden en doe het hier graag nog een keer. Voor mij is de doelstelling van mijn promotie het onderwijs. Ik vind het belangrijk dat wat ik gedaan heb, overgedragen kan worden naar het onderwijs op Hogeschool Leiden. Mede dankzij de steun vanuit onderwijs heb ik ook dit onderzoek kunnen doen en afronden. Dank aan John van der Willik, in 2013 als cluster directeur, en later aan Patrick Pijnenburg voor jullie steun en geloof in dit project. Dank ook aan Danny Dukers en Gabrielle Pinkse voor de steun support en de mogelijkheid om extra promotietijd voor mij in te roosteren. Ik had deze tijd inderdaad heel hard nodig en heb deze zo nuttig en efficiënt mogelijk besteed.

Promoveren doe je nooit alleen en in dit project heb ik dan ook, met heel veel plezier met veel studenten van de Hogeschool Leiden samengewerkt, waarbij zij stuk voor stuk allemaal hun steentje hebben bijgedragen. Stef Janson, de allereerste student die zich bij mij aanmeldde en meteen de eerste RNA master werd, met de truck van het glazen kogeltje; Kelly van Kooperen, een pionier was je, alles zelf opzetten met mooie eerste resultaten, een prima basis heb je toentertijd gelegd; Sadhana Doebar, de snelst en meest efficiënte histo-analist ooit; Peter van Schaik, respect om "even" 2 uur lang geconcentreerd een 384 plaat vol te pipetteren; Roel van den Berg, SEM, TEM, μ CT, Aviso (mijn nachtmerrie programma) en nog veel meer, niets was te lastig voor jou, dank voor je bijdrage en fijne samenwerking ook toen je, al afgestudeerd, gewoon nog even de scan hielp verbeteren; Vinod Shankar, een enthousiaste doorzetter; Louie Krol, kwam, zag en overwon, mooie tijd ook, dank voor de hulp na afloop; Soukayna Bojaada, jij kwam als eerste vanuit het MLO het team versterken in de orchideeënkweek en hebt dit super gedaan; Jan Willem Wijnands, wat een gezellige/slimme bio-informaticus ben jij en wat heb je hard gewerkt aan die fylogenetische bomen, ook jij kwam nog even helpen een jaar later, je blijft een toffe gast; Sanne Nottelman, ook jij kwam vanuit het MLO de kweek onderhouden en deed dit prima; Martijn van 't Wout, zo rustig en voortvarend doorwerken als jij, echt heel fijn; Jamie Zeegers, heel rustig ging je te werk en in de tussentijd rolde de resultaten maar binnen en liep alles heerlijk vlotjes; Israa Ahmed, de verbindende factor in het team van studenten van jaar 17-18, ik heb genoten; Jasmijn Snier, waar Jamie eindigde ging jij enthousiast en stug door (al die metingen van de oppervlakten), blij dat je er bij was in 17-18; Anne van Winzum, "even" een transcriptoompje analyseren, je was een echte pionier voor zowel Naturalis als de Hogeschool, wat een klus en wat ben je ver gekomen, een SucceedArmy project; Nino Menger, buiten het feit dat je de kweek als MLO student onderhield heb je deze ook nog eens geoptimaliseerd en heb je steentje bijgedragen al het onderzoek van Israa en Jasmijn, Mark uit 't Broek ging verder waar Anne eindigde en heeft vele hobbels en valkuilen in dit proces genomen. Ook dank aan Nemi Dorst, soms lopen projecten wat door elkaar heen, en helpen we elkaar, top.

Ook heb ik mogen samenwerken met een aantal collega's van zowel HLO, MLO als bio-informatica, onderzoek aan orchideeën heeft veel en uitdagende kanten.

Ken Kraaijeveld, dank voor de korte maar zeer productieve en voor mij leerzame periode; Jan Oliehoek, jij stond aan de basis van de fylogenetische stambomen, een hele klus waaraan Marcel Lombaerts ook aan gewerkt heeft, beide dank voor alle inspanningen en blij dat school nu ook het programma Geneious kan gebruiken en de kennis kan overdragen aan onze studenten. Anneke de Wolf, jij hebt zelf tweemaal een docent stage gedaan en was als een vis in het water (of een orchidee aan een boom) op het lab; Sigrid Beiboer, heeft met de beperkte informatie die er is naar homologe genen gezocht en dit bleek een bijna onmogelijke opdracht, dank voor al je digitale speurwerk en gepuzzel. Databases, genomen en transcriptomen analyseren, zonder de hulp vanuit de bio-informatica is dat gewoon niet te doen voor een simpele moleculair bioloog als ik, waar Ken ooit begon ging Jeroen Pijpe met een groep van enthousiaste studenten verder om deze puzzel van honderd duizenden stukjes in elkaar te zetten, dank voor al het harde werken hieraan. Ook Wouter Suring wil ik bedanken omdat ik door jouw hulp zelf lokaal in een database kon zoeken naar sequenties. Floyd Wittink, voor een bio-informaticus ben je soms digitaal lastig te contacten, maar wat ben ik blij met je bijdrage als stagebegeleider voor Anne en Mark en als inhoudsdeskundige en vraagbaak en heb je ook nog eens Stef Pieterman aan dit project toegevoegd, die ik meteen ook bedank, DE Blast2GO master.

Binnen Naturalis werkt er een team van analisten van wereldklasse, waar zouden wij als onderzoekers zijn zonder hun. Dank Bertie Joan van Heuven, Marcel Eurlings, Elza Duim, Wim Star, Rob Langelaan, Kees van den Berg, Dirk van der Marel en Frank Stokvis voor alle hulp, adviezen, gezelligheid, discussies, borrels; Arjen Speksnijder als manager van dit team; Rutger Vos voor zijn bio-informatica kennis en input; mijn mede PhD'ers Diego Bogarin, Dewi Pramanik, Adam Karremans, Richa Kusumawati en Isolde van Riemsdijk. Mijn speciale dank gaat uit naar Roland Butôt, een alleskunner, niets was te veel of te ingewikkeld, je deed vele projecten tegelijk en had altijd tijd om ook mij te helpen.

Buiten Naturalis wil ik ook een aantal collega's van het LUMC bedanken, dankzij Pieter van der Velden en Mieke Versluis mocht ik samen met een groot aantal studenten gebruik maken van hun 384 en werd de data ook nog eens opgestuurd. Karoly Szuhai heeft ons vele uren geholpen om al die mooie preparaten in te scannen en kwam met allerlei tips en ideeën voor het onderzoek. Dank ook Rogier van Vugt voor alle advies en Jaco Kruizinga voor het leveren van zoveel materiaal vanuit de Hortus botanicus Leiden voor ons onderzoek.

Ik dank ook Johan Keus, mijn steun en toeverlaat in het kweken van *Erycina*, Alexander Vrijdaghs die met grote precisie *Erycina* bloemknopjes heeft ontleed op microniveau en dit zo mooi heeft vastgelegd; Reinout Heijungs voor zijn hulp met de statistiek; Marian Bemer voor het meedenken, mee pipetteren, mee schrijven, echt super bedankt. En waar zou ik zijn geweest zonder de hulp en ondersteuning vanuit IBL? Elke week kon ik aanschuiven bij de werkbespreking in de groep van Remko Offringa en zo nu en dan de mensen verblijden met een verhaal over een orchidee; dit was buiten leerzaam ook heel gezellig, dank allemaal. Ook op het lab

werd ik aan alle kanten geholpen; Ward's kitchen met een muziekje erbij; Gerda Lamers en Marijn Luijten, dank voor alle adviezen en hulp, top analisten.

Vanuit school kreeg ik ook de nodige support, dank jullie wel Irma Lantinga, Erik Huiskens, Maria Plug, Ivo Horn, Karsten Kaspers, Bert Dekker, Hilda van Mourik, Saskia Stahlecker, Rob van Gijlswijk, Maarten Morsink, Wouter van Zon, Nicole Almering en alle andere collega's en oud-collega's van de Hogeschool Leiden voor jullie belangstelling.

Soms moet je ook even stil staan bij iemand die een groot voorbeeld is en dat is Peter ten Wolde voor mij in het onderwijs, iemand die altijd klaar staat, altijd positief is en waar je op kunt bouwen, zijn werk doet en kritisch kijkt naar alle "snode" onderwijsplannen, dank voor al die vele jaren dat we hebben mogen samenwerken.

Dat sport en beweging heel belangrijk voor mij is en een deel van mijn leven uitmaakt moet duidelijk zijn, maar sporten doe je samen, wel zo gezellig, dank je wel Vlietlijn hardlooptgroep (met daarin ook nog de Zondag lopers, de ZZ-auto pool, Sauna dames, Winkeldames, Borrel071 lopers en de Skiërs) en de EVZV-zwemgroep voor al het sportieve plezier en gezelligheid ook na afloop. Ik dank ook al mijn Feestbeest vrienden, buurtjes, vriendinnen uit Voorschoten en natuurlijk mijn vriendin van de middelbare school Simone.

Kom ik bij het laatste en belangrijkste deel, zonder hun steun en toeverlaat had ik niet kunnen starten en was ik niet zo ver gekomen, mijn mannen Roeland, Mathijs en Reinout. Wat ook scheelt is een familie die elkaar door dik en dun steunt en blij is met de keuzes die je maakt, dus dank aan mijn ouders, schoonouders, Peter, Edith, Victor, Hennie, Liesbeth, Charlotte, Teun, Jorian en Imke.

Glossary

ABCDE model	Model describing how different floral organs are specified during development by five classes of MADS-box genes; A, B, C, D and E.
Abaxial	Side or surface of an organ like a petal or organ system such as a branch, facing away from the axis that bears the organ or organ system.
Adaxial	Side or surface of an organ like a petal or organ system such as a branch, facing towards the axis that bears the organ or organ system.
Anatomy	Science of the internal shape and structure of organisms and their parts.
Androecium	The androecium includes all the stamens of a flower and is synonymous with the male reproductive part of a flower.
Angiosperms	Flowering plants, producing seeds from ovules contained in ovaries that develop into fruits.
Anther	The pollen-bearing part of a stamen.
Anther cap	Cover around the pollinia in orchids or pollen in other plant families.
Apex	The top of a stem or root.
Apical	At the apex.
Axis	Fixed line of reference to indicate position.
Bud	Any stem meristem - vegetative or floral – in an embryonic stage, whether resting or not and whether protected by bud scales or not.
Callus	Enlarged structure at the base of the lip of an orchid flower to attract pollinators.
Capsule	Dry fruit derived from a compound ovary and formed by of two or more carpels.
CARG-box	'C-Arich-G-box': a DNA-sequence motif bound by MADS-domain proteins, with the consensus sequence 5'-CC(A/T)6GG-3' or a similar sequence.
Carpel (cr)	Leaf homologue that encloses the ovules and seeds in angiosperms and develops into a fruit.
Clade	Group derived from a single ancestor.
Chloroplast	Cell organelle with two double membranes that originated by endosymbiosis and that is now involved in photosynthesis, containing circular DNA as part of the entire plant genome, a kind of plastid.
Column	See Gynostemium.
Dehiscence	Opening or splitting of the fruit at maturity.
Dehiscence zone	Zone between the sterile and fertile valve where a fruit splits open.

Appendix

Dicot	Flowering plants that have seeds with two embryonic leaves, two cotyledons.
Dorsal	Of a lateral organ, relating to the side facing away from the axis in early development, i.e., the 'back'; it is sometimes used to refer rather counter-intuitively to the underside of a leaf blade; synonymous with abaxial.
Endocarp	The inner layer of a pericarp.
Endosperm	Nutritive tissue in an angiosperm seed, usually triploid and formed after fertilization by the fusion of one gamete with the polar nucleus, sometimes diploid or polyploid.
Epiphyte	Growing on another plant, without deriving nutrients from this plant.
Exocarp	The outermost layer of a pericarp.
Fertile valve (F)	Valve with a placenta region and maturing seeds, located between two sterile valves.
Floral Quartet	The floral quartet model describes the interactions of MADS-domain proteins to form complexes that are called tetramers.
Floral whorl	A ring of floral organs, all on the same plane.
Funiculus	Umbilical cord that nurtures the seeds.
Genus	Taxonomic category, ranking above species and below family.
Germination	The process by which the embryo resumes growth and escapes from the confines of the seed or fruit and a young sporophyte (seedling) is established.
Gynoecium	The gynoecium consists of all the carpels of a flower, whether they are fused or not and is synonymous with the female reproductive part.
Gymnosperms	Seed-bearing plants with ovules that are not contained in ovaries and hence develop as 'naked' seeds.
Gynostemium	Organ formed by fusion of the androecium and gynoecium in Orchidaceae, synonymous with column.
Lignification	Becoming wood-like by the formation of lignin in the cell walls.
Lip or Labellum	The median petal of an orchid flower, often used as an attractive landing platform for pollinators.
Lateral	Born lateral to the axis of symmetry of the flower relative to the inflorescence axis, that is, lateral to the line joining the flower, the bract subtending it, the inflorescence axis on which it is borne.
Macroevolution	Evolution on a scale at or above the level of species.

MADS-box gene	Eukaryotic gene containing a MADS box, which encodes the DNA-binding and nuclear-localization domain of the respective MADS-domain transcription factors. MADS is an acronym for: MCM1, AGAMOUS, DEFICIENS and SRF.
Median	The plane through an axis and the axis from which it originates, e.g., in a flower, the axis of symmetry of the flower relative to the inflorescence axis, that is, on the plane joining the flower, the bract subtending it, the inflorescence axis on which it is borne.
MIKC	A conserved structure of the type II MADS-domain proteins. MADS-domain protein that exhibits a characteristic domain structure including a DNA-binding MADS (M) domain, an Intervening (I) domain, a keratin-like (K) domain and a C-terminal (C) domain.
Microevolution	Evolution on a small scale, within a single population.
Mesocarp	Middle layer of pericarp.
Monocots	Flowering plants that have seeds with only one embryonic leaf. Monocotyledons have one cotyledon in the embryo.
Monophyletic	A group of organisms or genes descended from a common ancestor that is a member of the group, which includes all descendants of that common ancestor.
Morphology	The external form and structure of organisms or its parts.
LinRegPCR	Program for the analysis of quantitative RT-PCR (qPCR) data resulting from monitoring the PCR reaction with fluorescent dyes.
Ontogeny	Development of an organism or organ, including differentiation, transformation and growth.
Orthologues	Two or more genes, or gene families that became distinct lineages as the result of a speciation event.
Outgroup	A group of organisms, or genes, that is outside the monophyletic group under consideration.
Ovaries	Female, ovule-bearing reproductive organs.
Paralogues	Homologous genes that originated from an ancestral gene through gene duplication.
Parenchymal cells	Fundamental tissue of plants, composed of thin-walled cells, able to divide.
Perianth	Sepals and petals of a flower.
Petal (pe)	Inner perianth whorl organ, the median is the lip in Orchidaceae.
Pericarp	The wall of a ripe fruit, consisting of three layers: endocarp, mesocarp, and epicarp.

Appendix

Phylogenetics	Study of the evolutionary relationships between species.
Pistil	The female reproductive part of a flower.
Pollen tubes	A hollow tube that develops from a pollen grain on the stigma after pollination.
Pollinia	A cohesive mass of pollen.
Pollination	The transfer of pollen from the anther to the stigma of a flower.
Protocorm	Specialized structure that develops after orchid seed germination and from which a shoot develops
Radiation	Divergence from a central point, in particular evolution from an ancestral animal or plant group into a variety of new forms.
Resupination	Change of orientation of the lip during anthesis in which the lip eventually faces downwards.
Rostellum	Tissue that separates the anther from the fertile stigma in outcrossing orchids.
Sepal (se)	Outer perianth whorl organ.
Stamen	The male reproductive organ, it produces pollen.
Staminode	A non-fertile, modified stamen.
Stelidia	Also known as 'column wings'. Positioned next to the stigma and on both sides of the gynostemium and protecting the stigma during fruit development in <i>E. pusilla</i> .
Sterile valve (S)	Valve without a placenta region or seeds, located between two fertile valves.
Stigma	The part of the gynoecium that receives pollen.
Taxonomy	The science of naming, describing and classifying organisms into an hierarchical system.
Terrestrial	Growing in or on the ground.
Trichome	Any epidermal outgrowth, e.g. a hair.
Vascular bundle	Bundle of specialized cells transporting nutrients through the plant.
Viscidium	A sticky part on the stipe of a pollinium.
Whorl	Three or more leaves or organs (such as sepals and petals) positioned in a circle arising from a single node.

Abbreviations

bHLH	Basic helix-loop-helix
BGI	Beijing Genome Institute
cl	callus (on the lip)
cr	carpel
DAP	Days after pollination
DEG	Differential Expressed Gene
DZ	dehiscence zone
Evo-devo	Evolutionary developmental biology
FM-index	Full-text Minute-space index
HOT	Homeotic Orchid Tepal
fs	fertile stamen
gm	gynostemium
GO	Gene Ontology
L-complex	Lip complex
LM	Light Microscopy
lse	lateral sepal
MA plot	M (log ratio) and A (mean average)
micro-CT	X-ray micro-computed tomography
ML	Maximum likelihood
mya	million years ago
mse	median sepal
NGS	Next Generation Sequencing
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ORF	Open Reading Frame
P-code	Perianth code
pe	petal
PLB	Protocorm like body
PTA	Phosphotungstic acid
qPCR	Quantitative PCR
RNA-seq	RNA-sequencing
RPKM	Reads per Kilobase per Million mapped reads
RSEM	RNA-Seq Expectation Maximization
RT-qPCR	Real-time quantitative PCR
SEM	Scanning Electron Microscopy
SEM	Standard Error of Measurement (for qPCR)
SP-complex	Sepal/petal-complex
S(sl)	stelidium
TEM	Transmission Electron Microscopy
VB	Vascular bundle
WAP	Weeks after pollination
Y2H	Yeast two-hybrid

Abbreviations of genes used in this study

<i>AG/AGL</i>	<i>AGAMOUS/ AGAMOUS-like</i>
<i>ALC</i>	<i>ALCATRAZ</i>
<i>AP1/AP2/AP3</i>	<i>APETALA1 or 2 or 3</i>
<i>FUL</i>	<i>FRUITFULL</i>
<i>HEC3</i>	<i>HECATE3</i>
<i>IND</i>	<i>INDEHISCENT</i>
<i>PI</i>	<i>PISTILLATA</i>
<i>PNF</i>	<i>POUNDFOOLISH</i>
<i>RPL</i>	<i>REPLUMLESS</i>
<i>SEP</i>	<i>SEPALLATA</i>
<i>SHP1/2</i>	<i>SHATTERPROOF1 or 2</i>
<i>SPT</i>	<i>SPATULA</i>
<i>STK</i>	<i>SEEDSTICK</i>
<i>SVP</i>	<i>SHORT VEGETATIVE PHASE</i>
<i>UBI2</i>	<i>UBIQUITIN2</i>



Universiteit
Leiden

