

陆地棉 *MADS-box* 家族基因鉴定及组织特异性表达分析张爱<sup>1,3</sup>, 王彩香<sup>2</sup>, 宿俊吉<sup>2</sup>, 张先亮<sup>3</sup>, 史春辉<sup>2</sup>, 刘娟娟<sup>2</sup>, 彭云玲<sup>1\*</sup>, 马雄风<sup>1,3,4\*</sup>

(1.甘肃农业大学农学院,兰州 730070;2.甘肃省干旱生境作物学重点实验室/甘肃农业大学生命科学技术学院,兰州 730070;3.中国农业科学院棉花研究所,河南 安阳 455000;4.郑州大学农学院,郑州 450001)

**摘要:**【目的】*MADS-box* 蛋白是 1 种重要的转录因子,参与调控棉花生长发育进程。鉴定分析陆地棉 *MADS-box* 家族基因,可为研究其生物学功能奠定基础。【方法】基于 2019 年最新组装的陆地棉 TM-1 参考基因组,通过 HMMER 3.0 软件鉴定陆地棉 Type I 型及 MIKC 型 *MADS-box* 基因。利用 MapInspect、MEGA 7.0、MEME 和 TBtools 软件以及 omicshare 网站进行染色体定位、多序列比对聚类分析、Motif 预测、基因结构鉴定以及组织特异性表达分析。【结果】从全基因组水平上鉴定出 181 个陆地棉 *MADS-box* 基因(66 个 Type I 型和 115 个 MIKC 型),染色体定位发现该 181 个基因在陆地棉 26 条染色体上均有分布,其中 A 组染色体上分布有 78 个基因、D 组上分布有 103 个基因。系统进化分析显示 Type I 型 *MADS-box* 蛋白有 3 个亚家族,MIKC 型蛋白包括 MIKC\* 型和含有 10 个亚家族的 MIKC<sup>C</sup> 型;motif 预测结果显示所有 *MADS-box* 蛋白均含有 *MADS* 结构域,基因结构分析结果显示,外显子、内含子结构和长度在各亚家族内具有同一性;组织特异性表达分析发现 *MADS-box* 家族基因中有 33 个在纤维组织中优势表达,103 个在花器官中优势表达,41 个基因在根茎中优势表达。【结论】本研究通过生物信息学方法,鉴定并获得了与陆地棉开花调控和纤维发育相关的 *MADS-box* 基因,对于揭示棉花纤维品质等重要性状的遗传调控机制及分子育种具有一定的理论意义和应用价值。

**关键词:** 陆地棉; *MADS-box* 基因; 家族鉴定; 生物信息学; 表达分析Identification of *MADS-box* Family and Analysis of Tissue Specific Expression in *Gossypium hirsutum* L.Zhang Ai<sup>1,3</sup>, Wang Caixiang<sup>2</sup>, Su Junji<sup>2</sup>, Zhang Xianliang<sup>3</sup>, Shi Chunhui<sup>2</sup>, Liu Juanjuan<sup>2</sup>, Peng Yunling<sup>1\*</sup>, Ma Xiongfeng<sup>1,3,4\*</sup>

(1.College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2.Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science/College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Institute of Cotton Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang, Henan 455000, China; 4.School of Agricultural Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** [Objective] *MADS-box* is an important transcription factor regulating the growth and development processes in cotton. Identification and screening upland cotton *MADS-box* genes is indispensable for accelerating their studying of biological functions. [Method] This article based on the upland cotton TM-1 reference genome assembled in 2019, all members of upland cotton *MADS-box* family were identified through HMMER 3.0 software. MapInspect, MEGA 7.0, MEME, TBtools and omicshare website were utilized to analyze chromosome location, phylogenetic relationship, motif prediction, gene structure, and tissue-specific expression of *MADS-box* genes. [Result] One hundred and eighty one upland cotton *MADS-box* genes (66 Type I and 115 MIKC genes) were identified in total, which located on 26 chromosomes. The Type I proteins were scattered on 3

收稿日期:2019-12-11 第一作者简介:张爱(1996—),女,在读硕士研究生,za\_abzh@163.com \*通信作者:马雄风, maxiongfeng@caas.cn;彭云玲, pengyunlingpyl@163.com

**基金项目:**国家自然科学基金(31660409,31971986),甘肃农业大学科技创新基金(GAU-KYQD-2018-01,GAU-KYQD-2018-32),农业农村部“一带一路”农业资源与技术合作(125161016000180005),中国农业科学院科技创新工程农业科技走出去协同创新与集成示范研究任务“中亚优质棉花品种筛选及配套栽培技术集成研发与应用”(CAAS-XTCX2018020-4),中国农业科学院基本科研业务费专项院级统筹工作任务“CCIA 高品质棉花产业链关键技术研究与示范”(Y2020LM01),中国农业科学院科技创新工程“乡村振兴创新团队”

subfamilies and the MIKC proteins were divided into MIKC\* and MIKC<sup>C</sup> which contain 10 subfamilies. The prediction results of motif showed that all proteins of *MADS-box* family contain *MADS* domain and gene structure analysis revealed that the structure and length of exons and introns are similar in one subfamily. Tissue-specific expression analysis found that 33 *MADS-box* genes were mainly expressed in fibrous tissue, 103 genes were primarily expressed in floral organs, and 41 genes were strongly expressed in roots and stems. [Conclusion] The *MADS-box* genes related to flowering regulation and fiber development of upland cotton were obtained in the study, which has theoretical significance for revealing the genetic regulation mechanism of cotton fiber quality and has application value for molecular breeding.

**Keywords:** upland cotton; *MADS-box* gene; family identification; bioinformatics; expression analysis

*MADS-box* 基因广泛存在于植物、动物和真菌中, 所编码的蛋白为转录因子。植物 *MADS-box* 基因被分为 Type I 型和 MIKC 型两类<sup>[1]</sup>。Type I 型基因通常有 1~2 个外显子, 编码蛋白质含高度保守的 *MADS* 结构域, 依据 *MADS* 结构域的差异进一步分为 M $\alpha$ 、M $\beta$  和 M $\gamma$  三类<sup>[2]</sup>。MIKC 型基因有 6~8 个外显子, 编码蛋白包含 *MADS-box*(M 结构域)、Intervening 结构域(I 结构域)、Keratin-like 结构域(K 结构域)和 C 端结构域 4 种保守结构域, 依据 I 结构域的不同进一步分为 MIKC<sup>C</sup> 型和 MIKC\* 型。根据基因功能和序列特征差异, MIKC<sup>C</sup> 型基因又可以分为 14 个亚类: AGAMOUS-LIKE 17 (AGL17)、AGL15、AGL6、AGL12、SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)、SEPALLATA(SEP)、AGAMOUS (AG)、APETALA1 (AP1)、APETALA3/PISTILLATA(AP3/PI)、GGM13 (BS)、FLOWERING LOCUS<sup>C</sup>(FLC)、TM8、TM3 和 GpMADS4<sup>[3]</sup>, MIKC\* 型基因又分为 P 类基因和 S 类基因<sup>[4-6]</sup>。

在拟南芥、水稻等模式植物的研究中发现, *MADS-box* 基因所编码的转录因子能够通过形成多聚复合体的方式参与植物生长发育的生命进程。例如, Type I 基因 AGL23 参与胚乳发育、雌配子体发育和叶绿体形成<sup>[7]</sup>, AGL62 基因在种子发育中起重要作用<sup>[8]</sup>。MIKC 型基因 FLC 是拟南芥春化的主要决定因素, AG 基因影响胚珠发育和花形态建成, SEP3 与生长素信号转导有关<sup>[9-11]</sup>。此外, Zhang 等<sup>[12]</sup>在桃 (*Prunus persica*) 中发现 PpMADS1 可以促进果实成熟, 刘国琴等<sup>[13]</sup>发现梨 (*Pyrus pyrifolia* white pear group) 芽内休眠的解除受 PpMADS1 和 PpMADS2 基因调控。前人对 *MADS-box* 基因的研究探索了其在植物生长发育中的作用机制, 验证了其功能多样化, 也

反映出 *MADS-box* 基因在植物中的重要作用。

*MADS-box* 基因的编码蛋白作为 1 类重要转录因子, 参与调控棉花开花和纤维生长等发育进程。有研究认为, 棉花 *MADS-box* 基因与细胞的伸长相关, 这类基因可能参与赤霉素 (Gibberellins, GAs) 合成途径, 影响棉纤维伸长<sup>[14-15]</sup>。也有研究发现, GhMADS22 可能具有促进棉花开花、延缓衰老、通过脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 信号途径提高植物对非生物胁迫抗性的作用<sup>[16]</sup>。另有研究证明, *MADS-box* 家族基因 GhSOC1 能促使棉花提前开花, 茎生叶数量增加, 过表达该基因能使棉花花器官发生变异<sup>[17]</sup>。陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 作为棉花 4 大栽培种之一, 其种植面积占棉花总种植面积 90% 以上<sup>[18]</sup>, 研究陆地棉 *MADS-box* 家族基因对改良陆地棉早熟性、纤维品质等性状具有重要意义。周娜等<sup>[19]</sup>利用 2015 年最初完成的陆地棉参考基因组序列<sup>[20]</sup>, 通过生物信息学方法鉴定到 100 个陆地棉 MIKC<sup>C</sup> 基因, 并认为 MIKC<sup>C</sup> 基因可能受 miRNA 调控, 从而调控陆地棉生长发育。Ren 等<sup>[21]</sup>也鉴定出 110 个 MIKC 型基因, 通过遗传转化拟南芥证明 GhAGL17.9 (MIKC<sup>C</sup> 基因) 正调控 LFY 基因促进开花。综上所述, 我们发现目前 *MADS-box* 基因家族的生物信息学研究主要集中于 MIKC 型基因, 而对于 Type I 型基因研究很少。本研究在前人基础上, 利用 2019 年最新组装的陆地棉参考基因组<sup>[22]</sup>, 从全基因组水平鉴定陆地棉 Type I 型及 MIKC 型 *MADS-box* 家族全部基因, 对该家族基因开展染色体定位、多序列比对聚类分析、Motif 预测和基因结构鉴定等多方面研究, 并对该家族 Type I 型及 MIKC 型基因进行组织特异性表达分析, 以期对棉花分子育种提供基因资源和理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 陆地棉 *MADS-box* 基因家族成员鉴定及染色体定位

陆地棉全基因组蛋白序列数据来自 CottonFGD 网站<sup>[23]</sup>(<https://cottonfgd.org/about/download.html>), 从 Pfam 网站<sup>[24]</sup>(<https://pfam.xfam.org/>) 下载 *MADS-box* 家族 HMM 模型文件 SRF-TF (PF00319) 和 K-box (PF01486), 使用 HMMER 3.0 软件<sup>[25]</sup>鉴定陆地棉 *MADS-box* 家族基因, 阈值  $E < 1e^{-5}$ 。利用 Pfam 网站<sup>[24]</sup>(<https://pfam.xfam.org/>) 和 SMART 网站<sup>[26]</sup>(<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 进一步确认所鉴定 *MADS-box* 基因编码蛋白是否含有其保守结构域。从 CottonFGD 网站<sup>[23]</sup>(<https://cottonfgd.org/jbrowse/>) 获取陆地棉 *MADS-box* 家族基因物理位置信息文件, 利用软件 MapInspect (<http://www.mybiosoftware.com/mapinspect-compare-display-linkage-maps.html>) 绘制基因在染色体上的位置图。

### 1.2 系统进化树构建分析

从 TAIR 网站<sup>[27]</sup>(<https://www.arabidopsis.org/>) 获得拟南芥 *MADS-box* 蛋白质序列, 通过基因组注释信息 (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)<sup>[28]</sup> 获得水稻 *MADS-box* 蛋白序列, 利用 Pfam 网站<sup>[29]</sup>(<https://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/pfamscan/>) 确认所获得拟南芥和水稻 *MADS-box* 蛋白含有的结构域。用 ClustalW 将棉花 *MADS-box* 蛋白序列与已经分型的拟南芥和水稻 *MADS-box* 蛋白进行序列比对分析, 利用 MEGA 7.0<sup>[30]</sup> 构建系统进化树, 使用邻近法 (Neighbor-joining method), 选择成对删除 (Pairwise deletion), 设置 Bootstrap 值为 1 000。

### 1.3 陆地棉 *MADS-box* 家族保守基序 (motif) 预测及基因结构分析

使用 MEME 在线工具<sup>[31]</sup>(<http://meme-suite.org/>) 进行 motif 预测, motif 最大发现数设为 5, 利用浙江大学 Gossypium new sequence data release 网站 (<http://ibi.zju.edu.cn/cotton/>) 获取 *MADS-box* 基因结构注释 gff3 文件。运用 TBtools<sup>[32]</sup> 对 motif 分析结果及基因结构分析结果进行可视化。

### 1.4 *MADS-box* 基因组织特异性表达分析

从 NCBI SRA 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/?term=PRJNA248163>) 获得陆地棉标准系 TM-1 根、茎、叶、花托、雌蕊、雄蕊、花萼、花瓣、花后 5 d 纤维、花后 10 d 纤维、花后 20 d 纤维以及花后 25 d 纤维 12 个组织的 RNA-seq 数据<sup>[20]</sup>。通过 TopHat<sup>[33]</sup> 和 Cufflinks<sup>[33]</sup> 比对到陆地棉基因组并组装样本转录本。通过计算标准化 FPKM 值显示基因的表达水平。表达模式热图通过 omicshare 网站 (<https://www.omicshare.com/tools/Home/Soft/heatmap>) 呈现。

## 2 结果与分析

### 2.1 陆地棉 *MADS-box* 家族基因鉴定

为了全面准确鉴定陆地棉 *MADS-box* 家族基因, 利用最新组装的陆地棉参考基因组<sup>[22]</sup>, 最终鉴定到陆地棉 *MADS-box* 基因家族成员 181 个, 其中, Type I 基因占 36.5% (66 个), *MIKC* 基因占 63.5% (共 115 个, 包括 90 个 *MIKC<sup>C</sup>* 型和 25 个 *MIKC<sup>\*</sup>* 型基因) (表 1)。运用 CottonFGD 网站的信息, 分析 *MADS-box* 基因理化性质, 发现 85% 的 Type I 型基因具有 1~2 个外显子, 编码蛋白质最小包含 74 个氨基酸残基 (GH\_D06G0314), 最大包含 593 个氨基酸残基 (GH\_A01G1960); 97% 的 *MIKC<sup>C</sup>* 基因含有 6~8 个外显子, 编码蛋白质长度从 174 氨基酸残基 (GH\_D03G0830) 到 315 氨基酸残基 (GH\_A08G1545); 而 *MIKC<sup>\*</sup>* 型基因的外显子数目范围较大 (1~12), 保守性相对较差, 所编码蛋白质长度分布在 63 (GH\_D04G0829)~373 氨基酸残基 (GH\_D12G1969)。分析显示: 相对 Type I 型和 *MIKC<sup>\*</sup>* 型基因, *MIKC<sup>C</sup>* 型基因外显子数目及基因所编码蛋白质长度均比较保守。

### 2.2 *MADS-box* 基因在染色体上的位置

为了确定 *MADS-box* 基因在陆地棉染色体上的分布, 通过 CottonFGD 网站获得所鉴定 181 个 *MADS-box* 基因的物理位置信息文件, 利用 MapInspect 进行可视化展示, 发现 A 组染色体上分布 78 个 *MADS-box* 基因, D 组染色体上分布 103 个, D 组染色体上分布的基因较多 (图 1)。进

表 1 陆地棉 *MADS-box* 基因外显子数量及蛋白质长度  
Table 1 The Number of exons and protein length of *MADS-box* genes in upland cotton

基因类型 Gene type	外显子数量 Number of exons	基因数量 Number of gene	蛋白质大小 Protein length/ aa	基因类型 Gene type	外显子数量 Number of exons	基因数量 Number of gene	蛋白质大小 Protein length/ aa	
Type I	1	45	74~406	MIKC <sup>c</sup>	8	46	209~315	
	2	11	83~593		9	1	225	
	3	4	89~239		1	2	63~75	
	4	1	193		2	1	67	
	8	2	192		4	1	172	
	10	1	343		5	2	142~174	
	11	1	343		6	1	149	
	12	1	435		7	2	204~214	
	MIKC <sup>c</sup>	4	1		193	8	3	192~355
		5	1		199	10	5	304~364
		6	7		190~234	11	7	346~373
		7	34		174~253	12	1	346

注:aa:氨基酸。Note: aa: Amino acid.

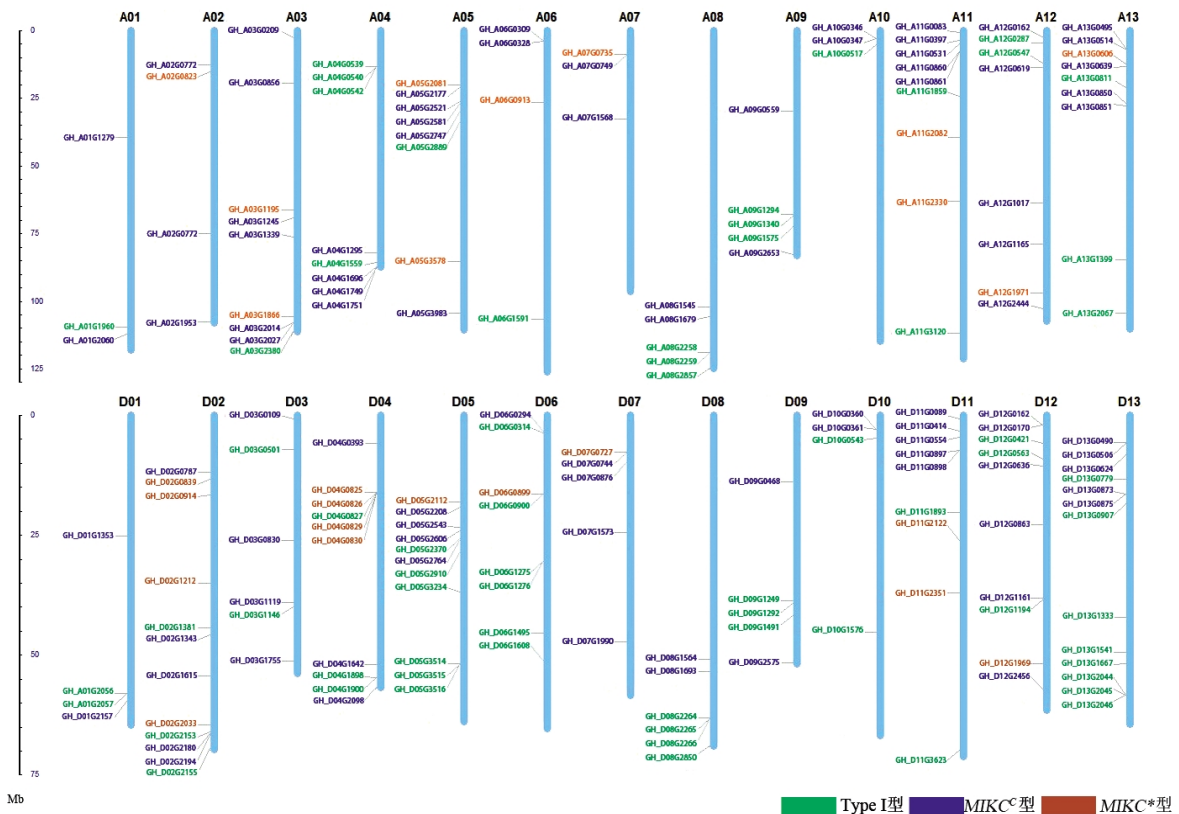


图 1 *MADS-box* 基因在陆地棉染色体上的分布

Fig. 1 Chromosomal distribution of *MADS-box* genes in upland cotton

一步分析发现,除了 A02、A07 和 D07 染色体, Type I 型基因在其余 23 条染色体上均有分布,其中染色体 D13 上最多(8 个),在染色体 A01、A03、A05、A06 和 A10 上各有 1 个。MIKC<sup>C</sup> 型基因在陆地棉 26 条染色体上均匀分布,其中在 A01 和 D01、A08 和 D08、A09 和 D09、A10 和 D10 共 4 对同源染色体上各有 2 个 MIKC<sup>C</sup> 基因。MIKC<sup>\*</sup> 型基因分布于 15 条染色体上,其中染色体 D02 和 D04 上分布最多,分别有 4 个基因;A03、A05、A11 和 D11 染色体上各有 2 个 MIKC<sup>\*</sup> 基因;A02、A06、A07、A12、A13、D05、D06、D07 和 D12 染色体上各含 1 个 MIKC<sup>\*</sup> 基因。

### 2.3 多序列比对及进化分析

为了确定陆地棉 *MADS-box* 基因同源进化关系,分别筛选 100 个拟南芥 *MADS-box* 蛋白序列(57 个 Type I 型,43 个 MIKC 型),71 个水稻 *MADS-box* 蛋白序列(36 个 Type I 型,35 个 MIKC 型)(表 2)。使用 MEGA 7.0 构建拟南芥、水稻和陆地棉 Type I 型 *MADS-box* 蛋白系统进化树,结果显示陆地棉 66 个 Type I 型蛋白共被分为 3 个亚家族, M $\alpha$ 、M $\beta$  和 M $\gamma$  (表 2 和图 2A),其中 40 个 Type I 为 M $\alpha$  类,21 个为 M $\gamma$  类,二者数量均大于拟南芥和水稻 M $\alpha$  及 M $\gamma$  蛋白数量;而陆地棉 M $\beta$  蛋白仅有 5 个,少于拟南芥和水稻 M $\beta$  类蛋白数量。构建拟南芥、水稻和陆地棉 MIKC 型 *MADS-box* 蛋白系统进化树,发现陆地棉 MIKC 型蛋白包含 MIKC<sup>C</sup> 型 10 个亚家族 (AGL17、AG、SVP、AGL15、BS、AP3/PI、SOC1、AP1、AGL6 和 SEP)以及 MIKC<sup>\*</sup> 型(图 2B)。进一步比较发现,拟南芥和水稻中分别有 5 个和 6 个 AP1 蛋白,而陆地棉中有 11 个;对于 AG 亚家族,拟南芥、水稻、陆地棉中成员数目分别是 4、5 和 10 个;AP3/PI 亚家族中,拟南芥和水稻分别有 2 个和 3 个,而陆地棉有 12 个该亚家族蛋白。结果显示,在 AP1、AG、AP3/PI 亚家族中,陆地棉包含成员数量均超过拟南芥和水稻。此外,陆地棉中与开花时间相关的 SVP、AGL17、AGL6 亚家族成员数量是水稻或拟南芥蛋白数量的 2 倍多;且在陆地棉中未发现 FLC 蛋白,该类蛋白在拟南芥春化开花调控途径中起关键作用(表 2 和图 2B)。

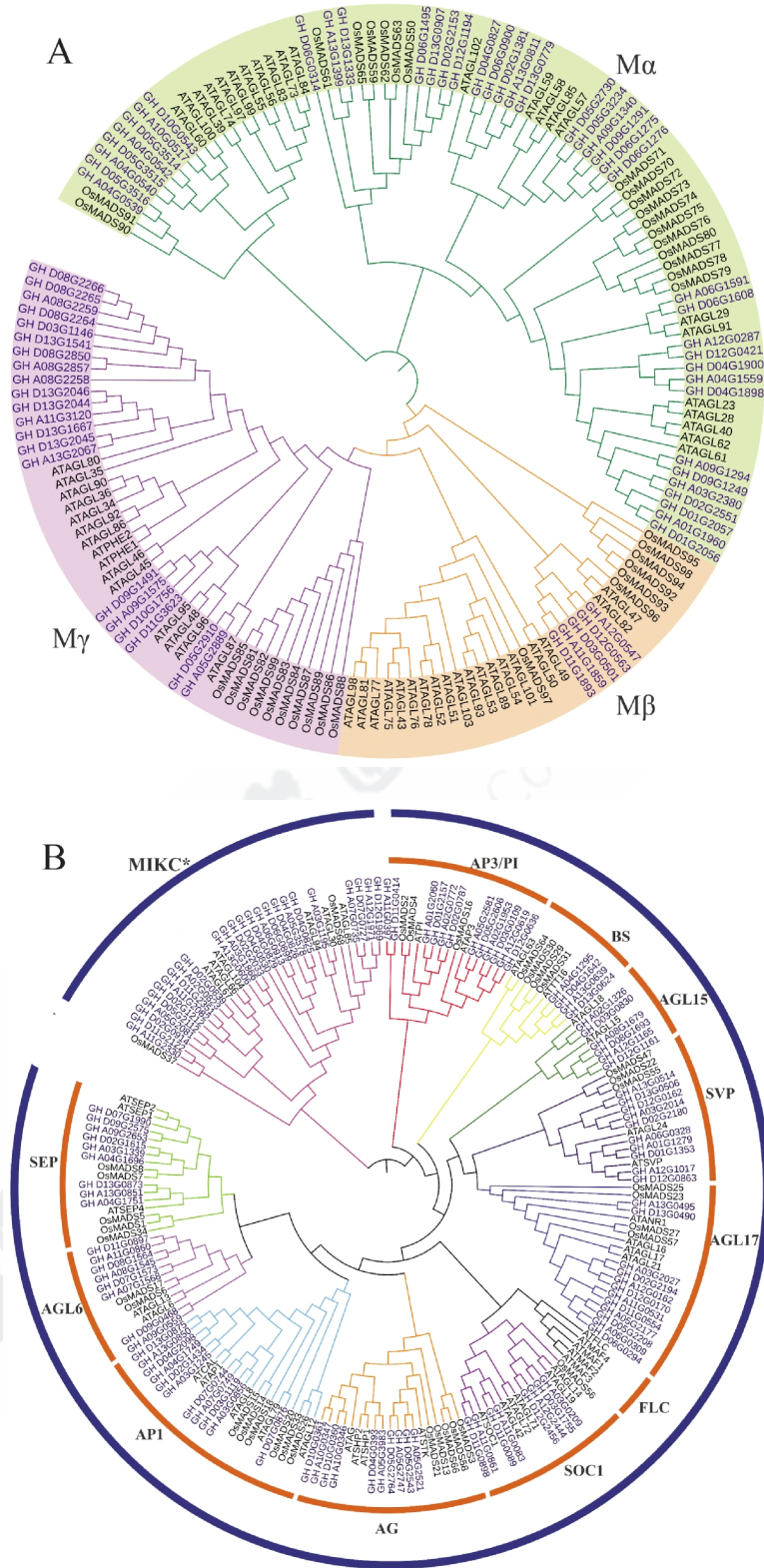
表 2 拟南芥、水稻和陆地棉 *MADS-box* 蛋白质数目比较  
Table 2 Comparison of *MADS-box* proteins number in *Arabidopsis*, rice and upland cotton

蛋白质类型 Type of proteins	亚家族 Subfamilies	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	水稻 Rice	陆地棉 Upland cotton
Type I	M $\alpha$	23	19	40
	M $\beta$	19	7	5
	M $\gamma$	15	10	21
MIKC <sup>C</sup>	SEP	3	5	9
	AGL6	2	2	8
	AP1	5	6	11
	SOC1	6	1	8
	AP3/PI	2	3	12
	BS	2	4	4
	FLC	5	0	0
	AGL17	4	4	12
	AG	4	5	10
	SVP	2	3	10
MIKC <sup>*</sup>	AGL15	2	0	6
		6	2	25

### 2.4 *MADS-box* 家族成员保守基序(motif)预测及基因结构分析

为了确定 *MADS-box* 基因编码蛋白所含基序,通过 MEME 在线工具预测分析发现,Type I 型 66 个基因所编码蛋白均含有 *MADS* 结构域(motif 2)(图 3A)。MIKC 型基因编码蛋白中,90 个 MIKC<sup>C</sup> 蛋白均含有 *MADS* 结构域(motif b)和 K 结构域(motif e)(图 3B);25 个 MIKC<sup>\*</sup> 型蛋白均含有 *MADS* 结构域(motif 7),含有 K 结构域(motif 10)的有 22 个(图 3C)。综上,通过保守基序分析可知,在 *MADS-box* 家族中,所有成员均具有 *MADS* 结构域,K 结构域仅在 MIKC 类蛋白中存在,*MADS-box* 家族蛋白 I 结构域和 C 结构域的序列长度及结构保守程度较低。

分析 *MADS-box* 家族基因结构发现:Type I 型基因中 GH\_D04G0827、GH\_D02G1381、GH\_D06G0900、GH\_A13G0811 和 GH\_D13G0779 包含 8~12 个外显子, GH\_D13G1667、GH\_

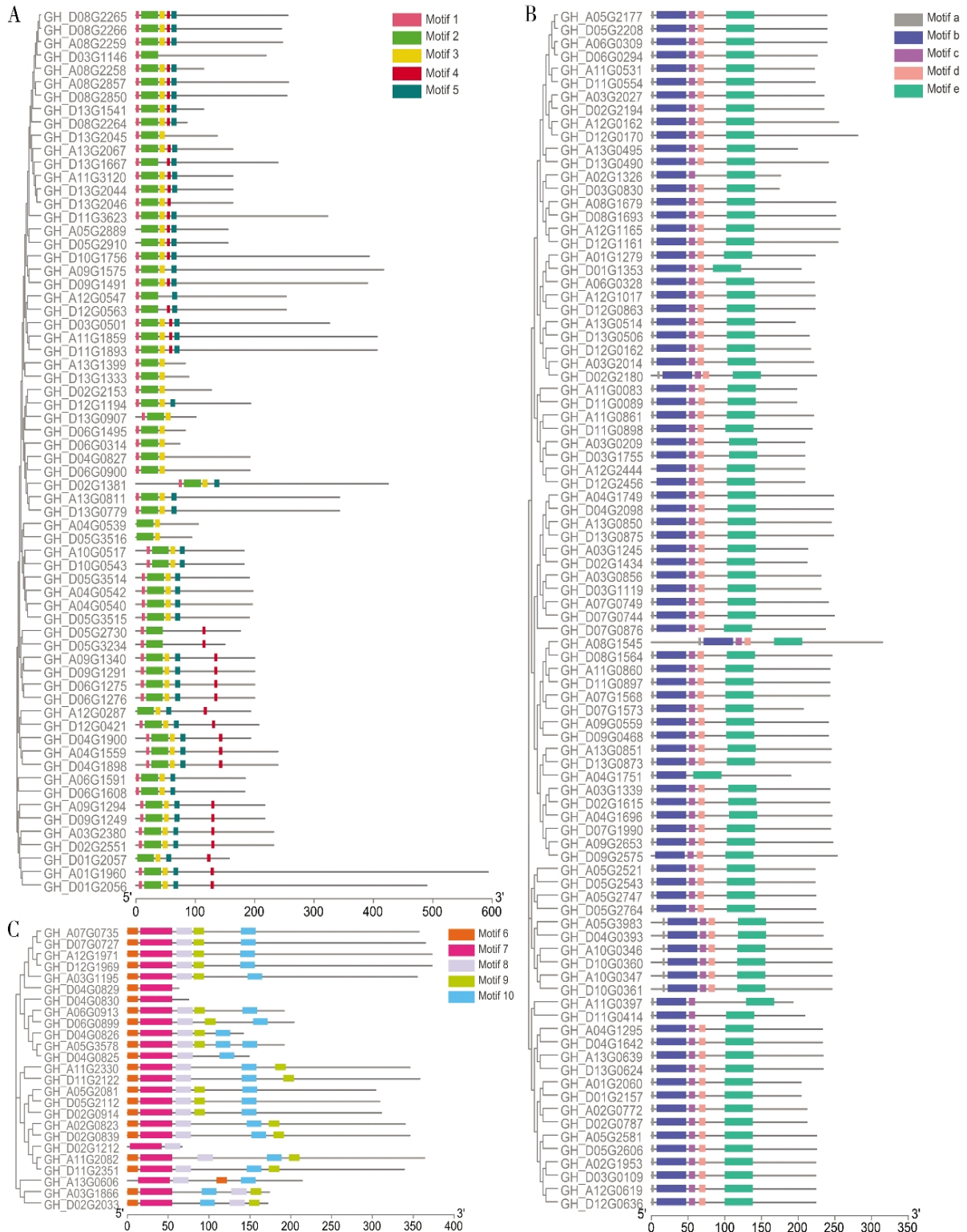


A: 拟南芥、水稻、陆地棉 Type I 型 MADS-box 蛋白系统进化树; B: 拟南芥、水稻、陆地棉 MIKC 型 MADS-box 蛋白的系统进化树。

A: *Arabidopsis*, rice and upland cotton Type I phylogenetic tree; B: *Arabidopsis*, rice and upland cotton MIKC phylogenetic tree.

图2 拟南芥、水稻、陆地棉 MADS-box 家族成员的系统进化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of members of MADS-box family in *Arabidopsis*, rice and upland cotton



A:陆地棉 Type I 型蛋白 motif 预测结果;B:陆地棉 MIKC<sup>C</sup> 型蛋白 motif 预测结果;C:陆地棉 MIKC\* 型蛋白 motif 预测结果。

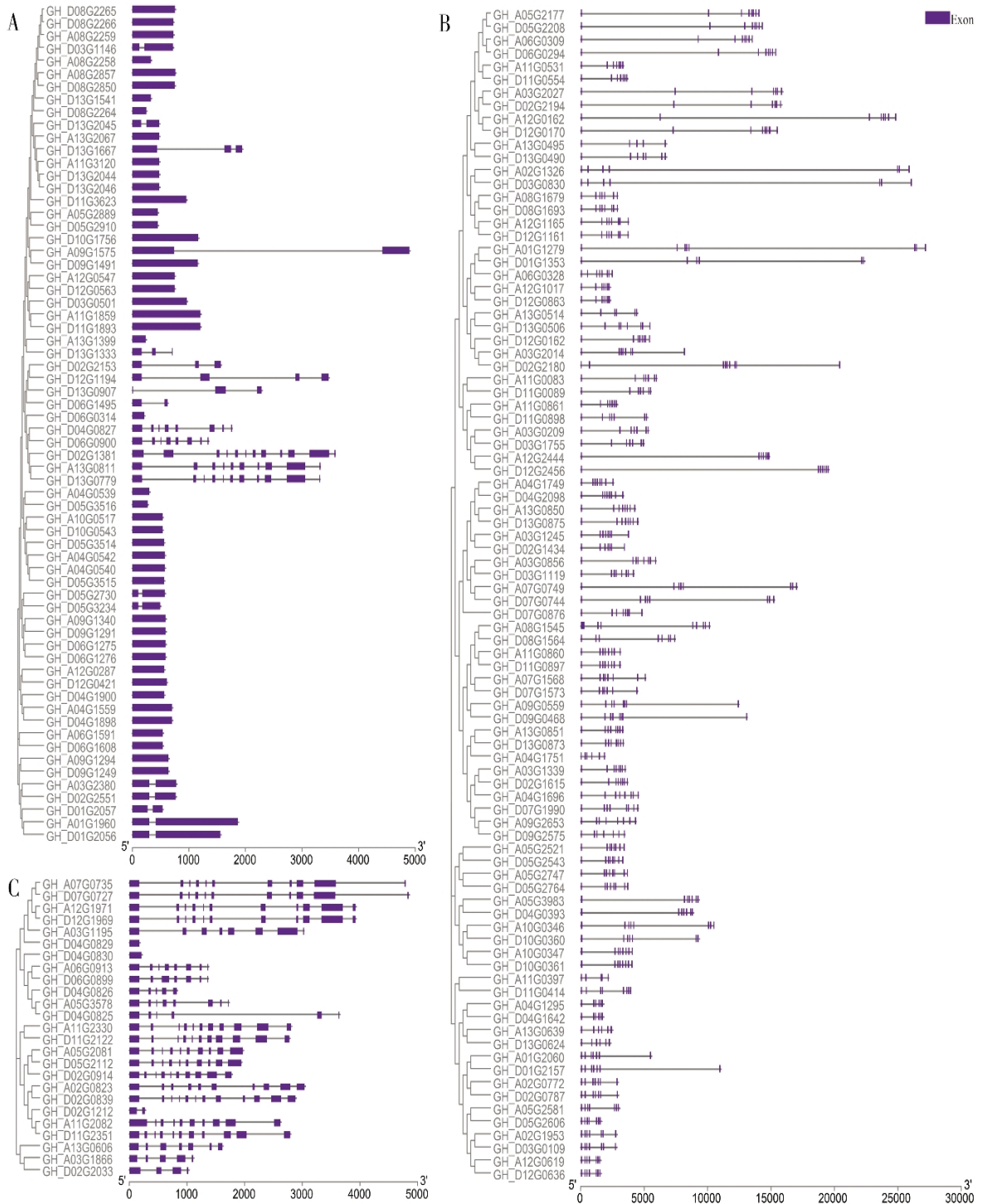
A: Motif prediction results of Type I proteins in upland cotton; B: Motif prediction results of MIKC<sup>C</sup> proteins in upland cotton; C: Motif prediction results of MIKC\* proteins in upland cotton.

图 3 陆地棉 MADS-box 蛋白 motif 预测结果

Fig. 3 Motif prediction results of MADS-box proteins in upland cotton

D13G1333、GH\_D13G0907、GH\_D02G2153 和 GH\_D12G1194 分布 3~4 个外显子, 其余 56 个 Type I 型基因均有 1~2 个外显子(45 个基因含

有 1 个外显子, 11 个基因含有 2 个外显子)(图 4A); 而 *MIKC* 型基因中, 同一亚家族成员外显子结构和数量具有相似性, 例如, *SEP*、*AGL6*、*AG*



A: 陆地棉 Type I 型基因结构; B: 陆地棉 *MIKC*<sup>c</sup> 型基因结构; C: 陆地棉 *MIKC*<sup>\*</sup> 型基因结构。

A: Type I genes structure in upland cotton; B: *MIKC*<sup>c</sup> genes structure in upland cotton; C: *MIKC*<sup>\*</sup> genes structure in upland cotton.

图 4 陆地棉 *MADS-box* 基因结构

Fig. 4 Gene structure of *MADS-box* genes in upland cotton



和 *API* 亚族的大多数成员均含有 8 个外显子, *SOC1* 和 *AP3/PI* 基因含有 7 个外显子, *BS* 基因含有 6 个外显子(图 4B)。基因长度分析结果显示, Type I 型基因均未超过 5 000 bp (base pair, 碱基对); *MIKC* 型基因中, 基因长度是各亚族间最明显的区别, 例如: *SEP* 和 *MIKC\** 类基因长度均不超过 5 000 bp, *AGL17* 类基因中 8 个基因的长度超过 13 000 bp。上述结果表明, Type I 型基因的外显子数目和基因长度均小于 *MIKC<sup>C</sup>* 型基因。

### 2.5 陆地棉 *MADS-box* 基因组织特异性表达分析

根据基因表达分析结果可将 Type I 型 *MADS-box* 基因分为 8 类。第 1 类基因在茎、叶、花托中表达, 第 3、8 类基因主要在纤维中表达, 第 2、4、5、6、7 类基因分别在萼片、雌蕊、根、雄蕊和花瓣中高水平表达(图 5A)。

*MIKC* 型基因根据表达分析结果可分为 10 类, 分别在纤维(第 1、2 类基因)、花器官(第 3、4、6、7、9 和 10 类)、根和茎(第 5、8 类基因)中表达量较高, 而叶中的表达水平很低(图 5B)。对各组织中所表达基因进一步分析发现, 有 4 个 *AG* 基因(*GH\_A05G2521*、*GH\_A05G2747*、*GH\_D05G2764* 和 *GH\_D05G2543*) 在纤维中特异表达。1 个 *API* 基因(*GH\_D03G1119*) 和 1 个 *AGL6* 基因(*GH\_D07G1573*) 仅在萼片中表达, 3 个 *SVP* 基因(*GH\_A06G0328*、*GH\_A12G1017* 和 *GH\_D12G0863*) 在花托中优势表达, 此外, 有 5 个基因在雄蕊中特异表达, 包括 4 个 *MIKC\** 基因、1 个 *AP3/PI* 基因。有 3 个 *SOC1* 基因和 3 个 *AGL17* 基因在茎中表达量较高。综上, *MIKC* 型基因主要在陆地棉花器官和纤维各发育阶段表达。

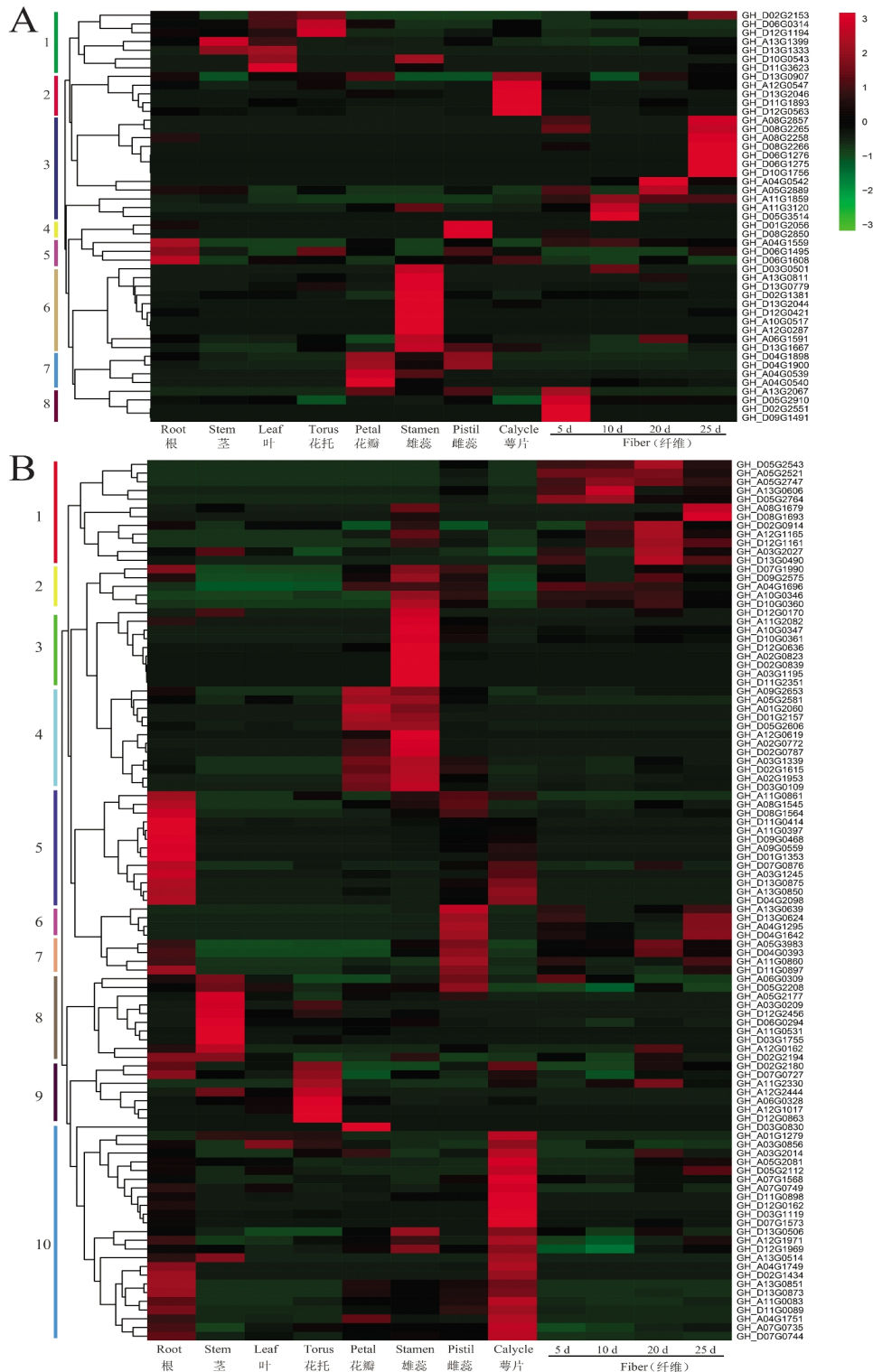
## 3 讨论

*MADS-box* 家族基因编码蛋白是植物生长发育过程中的重要转录因子。随着多物种基因组测序完成, 在拟南芥<sup>[34-35]</sup>、水稻<sup>[36-37]</sup>、小麦<sup>[38]</sup>、大豆<sup>[39]</sup>、番茄<sup>[40]</sup>、甘蓝<sup>[41]</sup>、葡萄<sup>[42]</sup>、向日葵<sup>[43]</sup>和银杏<sup>[3]</sup>等多种植物中对该家族基因进行了相关报道。本研究利用最新组装的陆地棉参考基因组数据<sup>[22]</sup>, 通过生

物信息学方法鉴定出 181 个陆地棉 *MADS-box* 家族基因(66 个 Type I 型, 115 个 *MIKC* 型)。前期 Ren 等<sup>[21]</sup>鉴定到 110 个陆地棉 *MIKC* 型基因, 分布于 25 条染色体, 染色体 D01 上无 *MIKC* 型基因分布。我们的研究结果鉴定出 115 个 *MIKC* 型基因, 分布于陆地棉 26 条染色体上, 其中 D01 染色体上有 2 个 *MIKC<sup>C</sup>* 基因(*GH\_D01G1353* 和 *GH\_D01G2157*); 鉴定出 66 个 Type I 型基因, 分布于 23 条染色体上, 鉴定结果不同可能与所使用参考基因组有关。

通过系统进化分析发现, 陆地棉中与花形态建成相关基因(如: *AG* 和 *AP3/PI*)、开花时间相关基因(如: *SVP*、*AGL17* 和 *AGL6*) 超过拟南芥或水稻相同亚家族基因数目的 2 倍, 这可能是由于陆地棉基因组较大<sup>[44-45]</sup>, 而拟南芥和水稻基因组较小<sup>[46-50]</sup>造成的。我们推测陆地棉 *MADS-box* 基因在调控开花进程中, 比拟南芥和水稻更加精细而复杂。*FLC* 是 *MADS-box* 基因所编码蛋白, 是 1 个开花抑制因子, 高水平表达可抑制开花, 低温负调控 *FLC* 转录及蛋白表达水平促进植物开花<sup>[51]</sup>。分析发现, 陆地棉缺失 *FLC* 基因, 这与前人研究结果一致<sup>[52]</sup>, 可能与陆地棉开花不需要春化有关。此外, 本次鉴定也未发现陆地棉 *AGL12* 类基因, 且拟南芥与水稻的 *AGL12* 基因均与陆地棉 *API* 基因聚到 1 个亚家族, 这与前期 Ren 等<sup>[21]</sup>的研究结果(陆地棉有 2 个 *AGL12* 基因)不同, 可能与所使用参考基因组有关。

根据前人报道, *MADS-box* 基因参与雌配子体发育<sup>[7]</sup>、种子发育<sup>[53]</sup>、胚及胚乳发育<sup>[8]</sup>、控制雄蕊及花瓣发育<sup>[54]</sup>、心皮形态建成<sup>[55]</sup>、与不同物种间生殖器官分界决定有关<sup>[56]</sup>, 并且与棉花纤维细胞伸长有关<sup>[14-15]</sup>。通过组织特异性表达分析发现, 陆地棉 *MADS-box* 基因在花器官和纤维中高水平表达, 例如: Type I 型基因中 *GH\_D05G2910*、*GH\_D09G1491* 和 *GH\_D02G2551* 在纤维发育初期特异性表达, *GH\_A08G2258*、*GH\_D06G1276*、*GH\_D06G1275*、*GH\_D10G1756* 在纤维发育后期特异表达。*MIKC* 基因中 *AP3/PI* 基因主要在花器官中表达, *API* 基因主要在萼片中表达, *AG* 基因主要在纤维中高水平表达, *BS* 和 *AGL15* 类基因



A: Type I 基因在陆地棉不同组织中的表达分析; B: MIKC 基因在陆地棉不同组织中的表达分析; 右侧标尺数值范围代表均一化后表达量的变化范围, 红色为高表达, 绿色为低表达。

A: Expression analysis of Type I genes from different tissues in upland cotton; C: Expression analysis of MIKC genes from different tissues in upland cotton; The numerical range of the right scale represents the variation range of the expression level after normalization, with red as high expression level and green as low expression level.

图 5 *MADS-box* 基因在陆地棉不同组织中的表达分析

Fig. 5 Expression analysis of *MADS-box* genes from different tissues in upland cotton

均可在纤维中被发现,这些基因可能参与陆地棉开花和纤维发育调控,具体功能还需通过遗传转化等进一步研究。

#### 4 结论

通过生物信息学方法,鉴定了 181 个陆地棉 *MADS-box* 家族基因,包括 Type I 和 MIKC 型 2 大类基因。染色体定位结果显示,Type I 基因分布于陆地棉 23 条染色体,MIKC 型基因分布在陆地棉 26 条染色体上。聚类分析发现,陆地棉 Type I 型蛋白分为 3 个亚家族,MIKC 型蛋白包括 MIKC<sup>c</sup> 型(包含 10 个亚家族)以及 MIKC\* 型。Motif 预测结果显示,陆地棉 *MADS-box* 蛋白均含有 *MADS* 结构域。基因结构分析可知,*MADS-box* 基因外显子和内含子结构及长度在同一亚家族内具有相似性。组织特异性表达分析显示,12 个组织中均有 Type I 型基因参与表达,MIKC 基因主要在陆地棉花器官和纤维各发育阶段表达量较高。对陆地棉 *MADS-box* 家族的生物信息学分析,为了解陆地棉开花和纤维发育的基因组学研究提供了有益的借鉴,对于揭示棉花纤维品质等重要性状的遗传调控机制及分子育种具有一定的理论意义和应用价值。

#### 参考文献:

- [1] De Bodt S, Raes J, Florquin K, et al. Genome-wide structural annotation and evolutionary analysis of the Type I *MADS-box* genes in plants[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2003, 56(5): 573-586. <https://doi.org/10.1007/s00239-002-2426-x>
- [2] Parenicová 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* world[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(7): 1538-1551. <https://doi.org/10.1105/tpc.011544>
- [3] 董金金, 刘伟, 李萌, 等. 银杏 *MADS-box* 基因家族的表达及系统发育分析[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(6): 1055-1063. <https://doi.org/10.13592/j.cnki.pj.2017.0574>  
Dong Jinjin, Liu Wei, Li Meng, et al. Gene expression and phylogenetic analysis of *MADS-box* family genes in *Ginkgo biloba* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(6): 1055-1063.
- [4] Gramzow L, Theissen G. A hitchhiker's guide to the *MADS* world of plants[J]. *Genome Biology*, 2010, 11(6): 214-225. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-6-214>
- [5] Kwantes M, Liebsch D, Verelst W. How *MIKC\** *MADS-Box* genes originated and evidence for their conserved function throughout the evolution of vascular plant gametophytes [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, 29(1): 293-302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr200>
- [6] Adamczyk B J, Fernandez D E. *MIKC\** *MADS* domain heterodimers are required for pollen maturation and tube growth in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(4): 1713-1723. <https://doi.org/10.1104/pp.109.135806>
- [7] Colombo M, Masiero S, Vanzulli S, et al. *AGL23*, a type I *MADS-box* gene that controls female gametophyte and embryo development in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2008, 54(6): 1037-1048. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03485.x>
- [8] Kang I H, Steffen J G, Portereiko M F, et al. The *AGL62* *MADS* domain protein regulates cellularization during endosperm development in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(3): 635-647. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.055137>
- [9] Kim D H, Doyle M R, Sung S, et al. Vernalization: Winter and the timing of flowering in plants [J]. *Annual Review of Cell and Developmental*, 2009, 25(1): 277-299. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.042308.113411>
- [10] Pinyopich A, Ditta G S, Savidge B, et al. Assessing the redundancy of *MADS-box* genes during carpel and ovule development [J]. *Nature*, 2003, 424(6944): 85-88. <https://doi.org/10.1038/nature01741>
- [11] Kaufmann K, Mui O J M, Jauregui R, et al. Target genes of the *MADS* transcription factor *SEPALLATA3*: Integration of developmental and hormonal pathways in the *Arabidopsis* flower [J/OL]. *PLoS Biology*, 2009, 7(4), e1000090. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000090>
- [12] Zhang L, Xu Y, Ma R. Molecular cloning, identification, and chromosomal localization of two *MADS-box* genes in peach (*Prunus persica*) [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(6): 365-372. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(8\)60053-3](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(8)60053-3)
- [13] 刘国琴, 郑鹏华, Hussain S, 等. 梨两个休眠相关 *MADS-box* 基因特征及其在休眠过程中的表达分析 [J]. *园艺学报*, 2013, 40(4): 724-732.  
Liu Guoqin, Zhen Penghua, Hussain S, et al. Characteristics of two dormancy-associated *MADS-box* genes in pear and their expression analysis during the dormancy [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(4): 724-732.
- [14] Li Y, Ning H, Zhang Z, et al. A cotton gene encoding novel

- MADS-box protein is preferentially expressed in fibers and functions in cell elongation[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2011, 43(8): 607-617. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmr055>
- [15] Zhou Y, Li B Y, Li M, et al. A MADS-box gene is specifically expressed in fibers of cotton (*Gossypium hirsutum*) and influences plant growth of transgenic *Arabidopsis* in a GA-dependent manner[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 75(2): 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.12.003>
- [16] Zhang W X, Fan S, Pang C, et al. Molecular cloning and function analysis of two *SQUAMOSA-Like MADS-box* genes from *Gossypium hirsutum* L.[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(7): 597-607. <https://doi.org/10.1111/jipb.12075>
- [17] 张晓红. 陆地棉开花相关基因的功能研究及调控分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.  
Zhang XiaoHong. The functional analysis and regulatory mechanism of flowering related genes in upland cotton[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2016.
- [18] 梁欢欢. 陆地棉主要产量、品质性状鉴定与优异种质筛选[D]. 保定: 河北农业大学, 2018.  
Liang Huanhuan. Identification of main yield and quality traits of upland cotton and screening of elite germplasm resources[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2018.
- [19] 周娜, 汪露瑶, 张天真, 等. 陆地棉 *MIKC<sup>c</sup>* 基因家族的全基因组分析[J]. *棉花学报*, 2017, 29(6): 495-503. <https://doi.org/10.11963/1002-7807.znhy.20170913>  
Zhou Na, Wang Luyao, Zhang Tianzhen, et al. Genome-wide analysis of *MIKC<sup>c</sup>* gene family in cotton[J]. *Cotton Science*, 2017, 29(6): 495-503.
- [20] Zhang T Z, Hu Y, Jiang W K, et al. Sequencing of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. acc. TM-1) provides a resource for fiber improvement[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(5): 531-537. <https://doi.org/10.1038/nbt.3207>
- [21] Ren Z Y, Yu D Q, Yang Z E, et al. Genome-wide identification of the *MIKC-Type MADS-box* gene family in *Gossypium hirsutum* L. unravels their roles in flowering[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 384-400. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00384>
- [22] Hu Y, Chen J D, Fang L, et al. *Gossypium barbadense* and *Gossypium hirsutum* genomes provide insights into the origin and evolution of allotetraploid cotton[J]. *Nature genetics*, 2019, 51(4): 739-748. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0371-5>
- [23] Zhu T, Liang C Z, Meng Z G, et al. CottonFGD: an integrated functional genomics database for cotton[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17(1): 101-109. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1039-x>
- [24] El-Gebali S, Mistry J, Bateman A, et al. The Pfam protein families database in 2019[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(Database issue): D427-D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
- [25] Finn R D, Clements J, Arndt W, et al. HMMER web server: 2015 update[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(Web Server issue): W30-W38. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv397>
- [26] Ivica L, Peer B. 20 years of the SMART protein domain annotation resource[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(D1), D493 - D496. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx922>
- [27] Berardini T Z, Reiser L, Li D, et al. The *Arabidopsis* information resource: Making and mining the “gold standard” annotated reference plant genome[J]. *Genesis*, 2015, 53(8): 474-485. <https://doi.org/10.1002/dvg.22877>
- [28] Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton J P, et al. Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data[J]. *Rice*, 2013, 6(1): 4-14. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>
- [29] Madeira F, Mi P Y, Joon L, et al. The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(W1): W636-W641. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz268>
- [30] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- [31] Bailey T L, Boden M, Buske F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(Web Server issue): W202-208. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
- [32] Chen C J, Xia R, Chen H, et al. TBtools, a Toolkit for Biologists integrating various HTS-data handling tools with a user-friendly interface. bioRxiv <https://doi.org/10.1101/289660>
- [33] Trapnell C, Roberts A, Goff L, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks[J]. *Nature protocols*, 2012, 7(3): 562-578. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.016>.
- [34] Erdmann R, Gramzow L, Melzer R, et al. GORDITA (*AGL63*) is a young paralog of the *Arabidopsis thaliana B (sister) MADS box* gene *ABS (TT16)* that has undergone neofunctionalization [J]. *The Plant Journal*, 2010, 63(6): 914-924. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2010.04290.x>
- [35] Scortecci K, Michaels S D, Amasino R M. Genetic interactions between *FLM* and other flowering-time genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52(5): 915-922.

- <https://doi.org/10.1023/A:1025426920923>
- [36] Yamaguchi T, Lee D Y, Miyao A, et al. Functional diversification of the two C-class *MADS box* genes *OSMADS3* and *OSMADS58* in *Oryza sativa*[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(1): 15-28. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.037200>
- [37] Arora R, Agarwal P, Ray S, et al. *MADS-box* gene family in rice: Genome-wide identification, organization and expression profiling during reproductive development and stress[J]. *BMC Genomics*, 2007, 8(1): 242-262. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-242>
- [38] 焦志鑫, 李俊畅, 牛吉山. 小麦 MIKC 型 *MADS-box* 基因家族分析[J]. *农业生物技术学报*, 2017, 25(11): 1756-1769. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7968.2017.11.003>  
Jiao Zhixin, Li Junchang, Niu Jishan. Analysis of MIKC-type *MADS-box* gene family in wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2017, 25(11): 1756-1769.
- [39] 马文娅. 大豆 *MADS-box* 家族基因 *GmNMH7* 在根发育和结瘤过程中的功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.  
Ma WenYa. Functional research of soybean (*Glycine max* [L.] Merr) *MADS-box* GENE *GmNMH7* in root development and nodulation[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [40] Giménez E, Dominguez E, Pineda B, et al. Transcriptional activity of the *MADS Box ARLEQUIN/TOMATO AGAMOUS-LIKE1* gene is required for cuticle development of tomato fruit [J]. *Plant physiology*, 2015, 168 (3): 1036-1048. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00469>
- [41] Sheng X G, Zhao Z Q, Wang J S, et al. Genome wide analysis of *MADS-box* gene family in *Brassica oleracea* reveals conservation and variation in flower development[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 106-120. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1717-y>
- [42] 黄晓婧, 张珺, 夏惠, 等. 葡萄 *MADS-box* 转录因子家族全基因组鉴定及表达分析[J]. *园艺学报*, 2019, 46(10): 1882-1896. <https://doi.org/10.16420/j.issn.0513-353x.2018-0842>  
Huang Xiaojing, Zhang Jun, Xia Hui, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *MADS-box* gene family in *Vitis vinifera*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(10): 1882-1896.
- [43] 韦小英, 何卓远, 雷豆, 等. 向日葵 *MADS-box* 家族基因 *HaTrans6* 的克隆及表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2019, 27(9): 1560-1568. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7968.2019.09.005>  
Wei Xiaying, He Zhuyuan, Lei Dou, et al. Cloning and expression analysis of *MADS-box* gene *HaTrans6* in sunflower (*Helianthus annuus*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(9): 1560-1568.
- [44] Li F G, Fan G Y, Lu C R, et al. Genome sequence of cultivated upland cotton (*Gossypium hirsutum* TM-1) provides insights into genome evolution[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(5): 524-530. <https://doi.org/10.1038/nbt.3208>
- [45] Yang Z E, Ge X Y, Yang Z R, et al. Extensive intraspecific gene order and gene structural variations in upland cotton cultivars [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2989-3001. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10820-x>
- [46] Gaubier P, Wu H J, M. Laudié, et al. A chlorophyll synthetase gene from *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular & General Genetics*, 1995, 249(1): 58-64. <https://doi.org/10.1007/BF00290236>
- [47] Schneeberger K, Ossowski S, Ott F, et al. Reference-guided assembly of four diverse *Arabidopsis thaliana* genomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(25): 10249-10254. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107739108>
- [48] Sloan D B, Wu Z, Sharbrough J. Correction of persistent errors in *Arabidopsis* reference mitochondrial genomes[J]. *The Plant Cell*, 2018, 30(3): 525-527. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00024>
- [49] Hiratsuka J, Shimada H, Whittier R, et al. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa*) chloroplast genome: intermolecular recombination between distinct tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals[J]. *Molecular & General Genetics*, 1989, 217(2-3): 185-194. <https://doi.org/10.1007/BF02464880>
- [50] Notsu Y, Masood S, Nishikawa T, et al. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome: Frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2002, 268(4): 434-445. <https://doi.org/10.1007/s00438-002-0767-1>
- [51] 刘丽娜, 刘伟, 叶庆生. 春化作用相关基因 *FLC* 的研究进展[J]. *西北植物学报*, 2003 (12): 2229-2234. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-4025.2003.12.035>  
Liu Lina, Liu Wei, Ye Qingsheng. Advances on research of vernalization-related gene *FLC*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003(12): 2229-2234.
- [52] Jiang W, Chang S, Li H Q, et al. Liquid hot water pretreatment on different parts of cotton stalk to facilitate ethanol production [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 176: 175-180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.023>
- [53] Köhler C, Hennig L, Spillane C, et al. The Polycomb-group protein MEDEA regulates seed development by controlling expression of the *MADS-box* gene *PHERES1* [J]. *Genes & Development*, 2003, 17 (12): 1540-1553. <http://www.genesdev.>

- org/cgi/doi/10.1101/gad.257403.
- [54] Mouradov A, Hamdorf B, Teasdale R D, et al. A *DEF/GLO-like MADS-box* gene from a gymnosperm: *Pinus radiata* contains an ortholog of angiosperm B class floral homeotic genes[J]. *Developmental Genetics*, 1999, 25(3): 245-252. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6408\(1999\)25:3<245::AID-DVG7>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6408(1999)25:3<245::AID-DVG7>3.0.CO;2-N)
- [55] Yamaguchi T, Lee D Y, Miyao A, et al. Functional diversification of the two C-class genes *OsMADS3* and *OsMADS58* in *Oryza sativa*[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(1): 15-28. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.037200>
- [56] Masiero S, Colombo L, Grini P E, et al. The emerging importance of Type I *MADS-Box* transcription factors for plant reproduction[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(3): 865-872. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.081737> ●

中國棉花杂志社  
China Cotton Magazine House

