

云南栎[木衣] *MADS*-box 基因家族鉴定与表达分析

王溪唯, 陈璨, 王大玮*

西南林业大学林学院, 云南 昆明 650224

王溪唯, 陈璨, 王大玮. 云南栎[木衣] *MADS*-box 基因家族鉴定与表达分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2897-2913.

WANG Xiwei, CHEN Can, WANG Dawei. Identification and expression analysis of *MADS*-box gene family in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2897-2913.

摘要: *MADS*-box 基因家族是一类重要的转录因子家族, 在调控植物的生长发育、信号传导等过程中发挥着重要作用。为研究云南栎[木衣] [*Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.] *MADS*-box 基因家族的特征及其在种子不同萌发时期的表达情况, 本研究以云南栎[木衣]不同萌发时期的种苗为材料, 在转录组测序的基础上利用生物信息学方法从云南栎[木衣]转录组数据库中筛选 *MADS*-box 转录因子, 分析其理化性质、蛋白保守基序、系统进化及表达模式, 并采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 实验验证云南栎[木衣] *MADS*-box 基因家族成员在种子不同萌发时期的表达情况。在云南栎[木衣]转录组数据中共鉴定出 81 个 *MADS*-box 转录因子, 其编码的氨基酸序列分子量分布范围在 6 211.34–173 512.77 Da 之间, 等电点介于 5.21–10.97 之间。系统进化分析显示, 81 个云南栎[木衣] *MADS*-box 基因可分为 15 个亚组, 其中 *DdMADS27*、*DdMADS42*、*DdMADS45*、*DdMADS46*、*DdMADS53*、*DdMADS61*、*DdMADS76*、*DdMADS77* 和 *DdMADS79* 可能参与对云南栎[木衣]胚珠的发育调控。结合云南栎[木衣]种子转录组数据与 qRT-PCR 实验分析发现, *DdMADS25* 和 *DdMADS42* 可能参与调控种子发育, *DdMADS37* 和 *DdMADS38* 可能对种子休眠有负调控作用。前人报道中 *MIKC**亚组多参与调控花器官发育, 本研究首次发现 *MIKC**亚组的转录因子在种子萌发前期具有较高表达量, 由此推测 *MIKC**亚组在种子萌发过程中起到调控作用。为验证该推测准确性, 挑选了 *MIKC**亚组的 *DdMADS60* 和 *DdMADS75* 进行 qRT-PCR 实验, 实验结果与转录组测序的表达趋势一致。本研究可为进一步从分子进化角度研究云南栎[木衣] *MADS*-box 基因家族的生物学功能提供参考。

关键词: *MADS*-box; 云南栎[木衣]; 转录组; 生物信息学

资助项目: 国家自然科学基金(32060350); 云南省万人计划青年拔尖人才专项(YNWR-QNBJ-2020-230)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32060350) and the Fund of Ten-thousand Talents Program of Yunnan Province (YNWR-QNBJ-2020-230).

*Corresponding author. E-mail: wangdawei@swfu.edu.cn

Received: 2022-12-26; Accepted: 2023-03-09; Published online: 2023-03-13

Identification and expression analysis of *MADS*-box gene family in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.

WANG Xiwei, CHEN Can, WANG Dawei*

College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China

Abstract: *MADS*-box gene family is a significant transcription factor family that plays a crucial role in regulating plant growth, development, signal transduction, and other processes. In order to study the characteristics of *MADS*-box gene family in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and its expression during different stages of seed germination, this study used seedlings at different stages of germination as materials and screened *MADS*-box transcription factors from the transcriptome database of *D. delavayi* using bioinformatics methods based on transcriptome sequencing. The physical and chemical properties, protein conservative motifs, phylogenetic evolution, and expression patterns of the *MADS*-box transcription factors were analyzed. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to verify the expression of *MADS*-box gene family members during different stages of seed germination in *D. delavayi*. The results showed that 81 genes of *MADS*-box gene family were identified from the transcriptome data of *D. delavayi*, with the molecular weight distribution ranged of 6 211.34–173 512.77 Da and the theoretical isoelectric point ranged from 5.21 to 10.97. Phylogenetic analysis showed that the 81 genes could be divided into 15 subgroups, among which *DdMADS27*, *DdMADS42*, *DdMADS45*, *DdMADS46*, *DdMADS53*, *DdMADS61*, *DdMADS76*, *DdMADS77* and *DdMADS79* might be involved in the regulation of ovule development in *D. delavayi*. The combination of the transcriptome data and the qRT-PCR analysis results of *D. delavayi* seeds indicated that *DdMADS25* and *DdMADS42* might be involved in the regulation of seed development, and that *DdMADS37* and *DdMADS38* might have negative regulation effects on seed dormancy. Previous studies have reported that the *MIKC** subgroup is mainly involved in regulating flower organ development. For the first time, we found that the transcription factors of the *MIKC** subgroup exhibited a high expression level at the early stage of seed germination, so we speculated that the *MIKC** subgroup played a regulatory role in the process of seed germination. To verify the accuracy of this speculation, we selected *DdMADS60* and *DdMADS75* from the *MIKC** subgroup for qRT-PCR experiments, and the experimental results were consistent with the expression trend of transcriptome sequencing. This study provides a reference for further research on the biological function of *D. delavayi* *MADS*-box gene family from the perspective of molecular evolution.

Keywords: *MADS*-box; *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.; transcriptome; bioinformatics

转录因子在复杂的植物生长发育过程中起着多方面的调控作用, 植物体内 DNA 通过与蛋白质之间的相互作用调节基因的表达^[1]。

MADS-box 基因家族作为起源最早、数量众多的重要转录因子家族之一, 广泛参与植物生长发育各个阶段的调控^[2]。大量研究发现 *MADS*-box

基因参与调控种子的萌发^[3-4]、开花时间调控及形态建成^[5]、胚珠发育、果实发育^[6]和根发育^[7]等植物发育过程。根据基因及蛋白结构和系统进化关系的不同, *MADS-box* 基因可分为I型(type I)和II型(type II) *MADS-box* 基因2种类型。I型 *MADS-box* 基因也称M型基因, 包括 *Ma*、*Mβ* 和 *Mγ* 亚家族^[8-9], II型 *MADS-box* 基因又称为MIKC型 *MADS-box* 基因, 可分为MIKC^c型和MIKC^{*}型^[10], 其中MIKC^c型 *MADS-box* 基因被分为13个亚家族^[11], 这13个亚家族在植物生长过程中起着至关重要的作用, 主要参与的发育过程包括花器官的发育、种子及果实的发育等^[12-13]。

云南柃[木衣] [*Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.]是蔷薇科(Rosaceae)柃[木衣]属(*Docynia*)植物, 多见于我国西南部海拔1 000–3 000 m的山谷、溪旁或灌丛中^[14-16]。其树皮中含有多种黄酮类化合物, 可作为治疗烧烫伤、骨折之药用^[17]; 根、叶可作为民间传统药物用于治疗发烧、肺热等疾病^[18]; 果实营养丰富, 含有人体所需的丰富宏量营养成分以及常量和微量营养元素^[19], 是一种具有极高开发利用价值的经济树种。随着云南柃[木衣]的经济价值被挖掘, 其育种方法、遗传多样性、次生代谢物产物功能分析、有效成分提取以及生物学特性和物候特征都已有报道^[20-22]。目前, *MADS-box* 基因家族已在多个物种中被鉴定到, 不同物种间的 *MADS-box* 家族成员数量不尽相同, 小麦中含有180个 *MADS-box* 基因, 并发现许多 *MADS-box* 基因在胁迫组和对照组之间出现显著差异表达, 说明 *MADS-box* 基因家族参与植物胁迫反应调控^[23]; 在同为蔷薇科植物的梅花中鉴定到80个 *MADS-box* 基因, 其研究结果表明 *MADS-box* 基因在不同植物器官中的表达模式既有与同源基因相似的保守性, 又发生了特异性分化^[24];

杏中共鉴定到72个 *MADS-box* 基因, 发现 *MADS-box* 家族的基因结构在蔷薇科植物中具有较高保守性^[25]。

种子是植物生产的物质基础^[26], 也是植物储存营养物质的重要场所, 种子萌发是种子内多个细胞和代谢事件共同作用的结果^[27], 从受精到种子的萌发, 种子内部将经历一系列复杂的生理变化^[28]。种子的顺利萌发成苗决定着植物种群的生存繁衍, 同时也决定了植物进入农业生态系统的时间, 从而影响作物产量^[29], 因此对云南柃[木衣]种子萌发机理的深入研究可以为云南柃[木衣]的良种繁育奠定理论基础。本研究基于云南柃[木衣]5个不同时期种子萌发的转录组数据, 筛选云南柃[木衣] *MADS-box* 基因家族成员, 利用生物信息学方法对其理化性质、蛋白保守基序、进化关系和表达模式进行了预测和分析, 为深入研究 *MADS-box* 转录因子在云南柃[木衣]种子萌发过程中发挥的作用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及取样

本研究所用试验材料于2020年10月采自云南省普洱市澜沧拉祜族自治县糯扎渡镇(22°35'N, 100°22'E), 采收成年树木的云南柃[木衣]果实, 将果实与种子分离洗净获得干种, 于低温干燥处储藏备用。选取干种(0 d)、吸胀(3 d)、萌动(11 d)、发芽(19 d)、成苗(27 d)5个时期的云南柃[木衣]种苗各20株, 每份样品采集3个生物学重复, 液氮速冻, -80 °C保存, 送至武汉迈维生物科技有限公司进行转录组测序。

1.2 方法

1.2.1 云南柃[木衣] *MADS-box* 鉴定及理化性质分析

云南柃[木衣]转录组数据由本课题组测序

获得, 15 个样品转录组数据共获得 255 095 条 unigene 序列, 99.87 Gb 有效数据。利用植物转录因子数据库(<http://plantfdb.cbi.pku.edu.cn/>)下载拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的 *MADS-box* 转录因子序列并在云南柃[木衣]转录组数据库进行 blast 搜索比对。同时, 利用关键词“*MADS-box*”进行直接检索, 得到 *MADS-box* 基因家族相关蛋白序列。将得到的序列利用 NCBI 的保守结构域数据库(conserved domain database, CDD)数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)、InterPro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>)和 SMART (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/>)数据库对其蛋白序列保守结构域逐个进行鉴定分析, 去掉重复和不含 *MADS-box* 家族特征结构域的序列, 最终获得 81 条 *MADS-box* 转录因子序列。通过在线软件 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>)分析并预测云南柃[木衣] *MADS-box* 基因家族蛋白序列的氨基酸长度、相对分子质量、等电点和平均亲水系数等基本的理化性质。

1.2.2 云南柃[木衣] *MADS-box* 蛋白保守基序分析

采用 MEME 在线软件(<http://meme-suite.org/meme/tools/meme>)对云南柃[木衣] *MADS-box* 基因家族编码蛋白序列进行 motif 分析, 基序的大数目设置为 10 并将基序长度设置为 6–200 个氨基酸, 利用 TBtools 软件对云南柃[木衣] *MADS-box* 成员基因结构及蛋白保守基序进行可视化处理。

1.2.3 云南柃[木衣] *MADS-box* 系统进化树的构建

采用 MEGA 5.0 软件对云南柃[木衣]和拟南芥的 *MADS-box* 家族成员的蛋白序列进行多序列比对后, 采用邻接法(neighbor-joining method, NJ)构建系统进化树, 对建成的树进行自展法系数校正, 选择 P-distance、pairwise deletion 和

Bootstrap method 设置参数为 1 000, 利用 iTOL 在线工具(<https://itol.embl.de/upload.cgi>)美化进化树。

1.2.4 云南柃[木衣] *MADS-box* 表达模式分析与验证

从云南柃[木衣]转录组数据库获取 5 个不同种子萌发阶段的 *MADS-box* 基因表达数据, 基于其每千碱基转录的每百万映射读取片段数 (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads, FPKM)值利用 TBtools 软件对其均一化处理并进行 *MADS-box* 基因家族的可视化表达。

此外, 根据 *MADS-box* 基因的表达特征及聚类分析结果, 本文选取 6 个与调控云南柃[木衣]种子萌发相关且差异表达明显的 *MADS-box* 候选基因进行实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)实验验证分析。以云南柃[木衣]看家基因 *Actin* 作为内参基因, 引物序列信息如表 1 所示, 采用 Servicebio 试剂盒进行 qRT-PCR 检测, 利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行基因表达的相对定量分析, 每个基因每个处理设置 3 次技术重复。

2 结果与分析

2.1 云南柃[木衣] *MADS-box* 鉴定及理化性质分析

基于转录组数据通过 CDD、InterPro、SMART 对保守结构域进行预测, 删除不含 *MADS-box* 结构域的序列及冗余的序列, 最终获得 81 个 *MADS-box* 基因家族成员, 按照转录组 unigene 中的基因 ID 大小顺序统一编号, 由小到大为 *DdMADS1–DdMADS81*。

对得到的 81 个云南柃[木衣] *MADS-box* 家族成员的编码蛋白序列, 利用 ProtParam 在线工具进行理化性质分析(表 2), 结果表明: *DdMADS* 基因编码的蛋白序列长度为 55–1 740 aa;

表 1 本研究所用的引物

Table 1 Primers used in this study

Gene ID	Gene No.	Primer name	Primer sequence (5'→3')
Dder-R112-5347989.1	<i>DdMADS25</i>	F	AACCGGGCTGATGAAGAAGG
		R	CTCTCGCCGCTACAGAAGCTC
Dder-R47-8084663.1	<i>DdMADS37</i>	F	CAGGAGGATCGACTACTTGCC
		R	ACAGCAACTTCAGATTCACACAG
Dder-R47-8130571.1	<i>DdMADS38</i>	F	GGAAGATCGACTGCTTGCCG
		R	CAGGGTTGGTACCTGGAGC
Dder-R47-10376031.1	<i>DdMADS42</i>	F	GAGGATCGAGAACACGACGA
		R	GGGCAACTTCAGCATCACAG
Dder-R36-4175329.1	<i>DdMADS60</i>	F	ACGATTGAGGATCTGAGTAACCA
		R	TTATCAAGGCTAGTCCAACAGC
Dder-R113-4062640.1	<i>DdMADS75</i>	F	GTGTGCGATCAGAGGACAGA
		R	TTAGCGGGAGAATCGGAAACG
Reference gene	<i>Actin</i>	F	CTGCGTTAGCCCCAAGTAGC
		R	GGACCTGATTCATCGTATTCTGC

分子量在 6 211.34–173 512.77 Da 之间;理论等电点介于 5.21–10.97 之间,其中有 63 个蛋白等电点大于 7 显碱性,18 个蛋白等电点小于 7 显酸性,平均等电点大小为 8.31。在蛋白稳定性方面,有 11 个蛋白不稳定系数小于 40,显示为稳定蛋白,其余均表现为不稳定蛋白。脂肪系数最小为 63.31,最大为 117.38。在 81 个 *DdMADS* 基因中仅有 *DdMADS40* 和 *DdMADS51* 的疏水指数分别为 0.212 和 0.012,具有一定疏水性,其余均为亲水性蛋白。

2.2 云南柃[木衣] *MADS*-box 蛋白保守基序分析

利用在线软件 MEME 对云南柃[木衣]*MADS*-box 基因家族编码蛋白序列的保守基序进行鉴定,预测到的 10 个保守基序的长度和组成均存在较大差异(图 1)。使用 SMART 在线数据库搜索 MEME 分析得到的保守基序,结果显示, motif1 和 motif3 共同构成 *MADS*-box 基因 I 型和 II 型共有的 *MADS* 结构域, motif2 为 K-box 结构域。*MADS* 结构域和 K-box 结构域属于 II 型 *MADS*-box 基因的特征基序,大部分 II

型 *DdMADS* 编码蛋白含有 *MADS* 结构域和 K-box 结构域。通过保守基序分析发现(图 2), 81 个 *DdMADS* 编码蛋白序列含有 1–5 个保守基序,所有 *DdMADS* 编码蛋白序列均含有 motif1, 有 31 个 *DdMADS* 编码蛋白序列含有 motif2, 48 条 *DdMADS* 编码蛋白序列含有 motif3。

2.3 云南柃[木衣] *MADS*-box 系统进化树的构建

为探究云南柃[木衣] *MADS*-box 基因家族各个成员间的进化关系及生物学功能,利用 MEGA 软件将 81 个 *MADS*-box 基因家族成员与模式植物拟南芥的 *MADS*-box 基因家族成员进行进化关系分析并构建相关进化树(图 3)。结果表明,在拟南芥 17 个亚组中,除 *OsMADS32* 和 *FLC* 外的 15 个亚组均有云南柃[木衣] *MADS*-box 成员的分布,未发现特殊划分情况的亚组。在云南柃[木衣] 81 个 *MADS*-box 基因中,有 27 个属于 I 型 *MADS*-box 基因,其中 *Mα* 亚组中含有 13 个,而在 *Mβ* 亚组和 *Mγ* 亚组中分别含有 4 个和 10 个。有 54 个属于 II 型 *MADS*-box 的基因,其中 *SVP* 亚组含有家族成员最多,为

表 2 云南柃[木衣] *MADS-box* 基因家族成员信息Table 2 Members of *MADS-box* gene family in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.

Gene name	Gene ID	Number of amino acids	Molecular weigh	pI	Instability index	Aliphatic index	Grand average of hydropathicity
<i>DdMADS1</i>	Dder-R60-17200835.1	223	25 378.71	6.25	55.86	84.39	-0.765
<i>DdMADS2</i>	Dder-R60-16510279.1	86	9 766.54	10.08	30.62	97.44	-0.059
<i>DdMADS3</i>	Dder-R60-2842437.1	101	11 784.53	9.63	56.18	75.15	-0.627
<i>DdMADS4</i>	Dder-R60-2830170.1	228	26 042.75	6.18	46.82	82.15	-0.561
<i>DdMADS5</i>	Dder-R60-2810727.1	255	29 401.95	9.39	48.34	87.57	-0.435
<i>DdMADS6</i>	Dder-R60-2802550.1	263	30 595.63	9.01	52.53	89.70	-0.135
<i>DdMADS7</i>	Dder-R73-27147396.1	234	27 135.51	8.78	41.03	74.62	-0.909
<i>DdMADS8</i>	Dder-R73-19914704.1	217	25 089.61	9.54	55.07	73.69	-0.787
<i>DdMADS9</i>	Dder-R73-11171500.1	235	25 941.97	7.66	31.87	85.83	-0.227
<i>DdMADS10</i>	Dder-R73-9800388.1	156	18 054.02	9.26	49.68	88.78	-0.689
<i>DdMADS11</i>	Dder-R73-3027676.1	359	41 711.18	8.39	47.60	64.12	-0.849
<i>DdMADS12</i>	Dder-R73-2734435.1	243	27 349.90	5.88	65.26	85.51	-0.682
<i>DdMADS13</i>	Dder-R10-815876.1	174	19 586.24	6.04	47.41	76.90	-0.714
<i>DdMADS14</i>	Dder-R49-6658204.1	249	28 925.64	9.41	27.08	88.51	-0.495
<i>DdMADS15</i>	Dder-R49-7566078.1	303	34 533.89	9.77	42.88	77.85	-0.598
<i>DdMADS16</i>	Dder-R81-4197556.1	197	23 338.59	9.54	46.58	70.25	-0.665
<i>DdMADS17</i>	Dder-R81-4191749.1	202	23 589.34	9.06	62.85	71.83	-0.750
<i>DdMADS18</i>	Dder-R81-4183872.1	225	26 301.45	8.52	52.51	72.36	-0.679
<i>DdMADS19</i>	Dder-R50-4956670.1	218	25 215.42	6.54	57.47	74.68	-0.733
<i>DdMADS20</i>	Dder-R50-4966818.1	175	19 660.61	9.82	55.54	80.29	-0.642
<i>DdMADS21</i>	Dder-R50-8083495.1	278	32 247.55	6.43	46.56	80.29	-0.661
<i>DdMADS22</i>	Dder-R50-20974619.1	220	24 856.33	6.76	41.12	71.32	-0.366
<i>DdMADS23</i>	Dder-R112-7761068.1	68	7 672.96	10.22	51.55	91.76	-0.172
<i>DdMADS24</i>	Dder-R112-7627337.1	69	7 893.17	10.53	53.36	83.33	-0.400
<i>DdMADS25</i>	Dder-R112-5347989.1	70	7 899.43	10.68	34.32	98.71	-0.177
<i>DdMADS26</i>	Dder-R65-1320353.1	240	27 487.48	8.84	61.50	63.75	-0.806
<i>DdMADS27</i>	Dder-R66-2337621.1	248	28 241.85	8.43	43.89	75.12	-0.703
<i>DdMADS28</i>	Dder-R66-2309129.1	255	29 306.05	8.95	60.30	83.80	-0.835
<i>DdMADS29</i>	Dder-R96-1718486.1	285	32 478.16	9.05	46.94	83.16	-0.539
<i>DdMADS30</i>	Dder-R7-19175173.1	156	18 179.29	9.56	51.08	89.36	-0.671
<i>DdMADS31</i>	Dder-R7-9064169.1	83	9 261.84	9.84	36.87	108.07	-0.036
<i>DdMADS32</i>	Dder-R7-8943042.1	215	24 590.09	9.83	56.18	73.02	-0.796
<i>DdMADS33</i>	Dder-R6-3099037.1	279	31 461.49	8.02	58.15	65.05	-0.673
<i>DdMADS34</i>	Dder-R58-1134103.1	250	29 487.60	9.84	49.90	71.32	-0.949
<i>DdMADS35</i>	Dder-R58-5987513.1	307	34 861.09	5.21	65.06	88.27	-0.554
<i>DdMADS36</i>	Dder-R59-651663.1	286	33 153.78	8.51	58.57	82.80	-0.660
<i>DdMADS37</i>	Dder-R47-8084663.1	84	9 998.83	10.29	51.47	96.31	-0.121
<i>DdMADS38</i>	Dder-R47-8130571.1	83	9 647.28	9.85	49.16	82.29	-0.267
<i>DdMADS39</i>	Dder-R47-8139348.1	93	11 108.02	9.89	67.73	83.87	-0.404

(待续)

(续表 2)

Gene name	Gene ID	Number of amino acids	Molecular weigh	pI	Instability index	Aliphatic index	Grand average of hydropathicity
<i>DdMADS40</i>	Dder-R47-9268327.1	84	9 267.03	10.29	43.80	117.38	0.212
<i>DdMADS41</i>	Dder-R47-10310489.1	215	24 652.81	8.67	53.67	90.33	-0.203
<i>DdMADS42</i>	Dder-R47-10376031.1	61	7 110.29	9.93	43.72	89.51	-0.521
<i>DdMADS43</i>	Dder-R30-559981.1	70	7 940.46	10.59	26.19	93.29	-0.129
<i>DdMADS44</i>	Dder-R30-645230.1	343	38 925.28	6.95	54.12	70.76	-0.487
<i>DdMADS45</i>	Dder-R30-4446889.1	257	29 490.75	8.65	48.04	83.11	-0.604
<i>DdMADS46</i>	Dder-R30-11122071.1	228	26 228.53	9.63	58.74	70.61	-0.912
<i>DdMADS47</i>	Dder-R109-25233626.1	55	6 211.34	10.97	38.62	104.55	-0.175
<i>DdMADS48</i>	Dder-R109-11100656.1	227	25 671.28	9.45	41.65	69.91	-0.612
<i>DdMADS49</i>	Dder-R109-11097095.1	237	26 284.25	9.20	40.16	78.61	-0.313
<i>DdMADS50</i>	Dder-R105-109114.1	705	73 352.98	6.06	40.57	85.22	-0.230
<i>DdMADS51</i>	Dder-R100-298141.1	1 740	173 512.77	6.52	35.01	88.02	0.012
<i>DdMADS52</i>	Dder-R107-3573148.1	213	24 359.44	8.67	51.22	65.45	-0.780
<i>DdMADS53</i>	Dder-R107-4036801.1	253	29 089.95	9.39	52.73	79.80	-0.762
<i>DdMADS54</i>	Dder-R48-6628510.1	185	20 618.21	5.29	43.22	75.46	-0.664
<i>DdMADS55</i>	Dder-R5-735151.1	201	22 882.32	6.60	40.26	88.21	-0.408
<i>DdMADS56</i>	Dder-R3-4724216.1	212	24 593.44	9.02	53.29	70.42	-0.823
<i>DdMADS57</i>	Dder-R3-4716053.1	186	21 704.39	9.28	45.26	74.41	-0.760
<i>DdMADS58</i>	Dder-R36-3528734.1	246	29 101.14	9.18	51.56	84.07	-0.859
<i>DdMADS59</i>	Dder-R36-3536948.1	302	25 017.30	6.61	34.41	63.31	-0.345
<i>DdMADS60</i>	Dder-R36-4175329.1	351	39 575.89	7.11	60.59	77.55	-0.601
<i>DdMADS61</i>	Dder-R36-7568715.1	239	27 314.06	8.53	40.72	82.89	-0.624
<i>DdMADS62</i>	Dder-R36-24733227.1	141	16 343.91	9.23	46.31	87.80	-0.716
<i>DdMADS63</i>	Dder-R35-6768733.1	439	48 315.16	5.55	38.51	64.15	-0.571
<i>DdMADS64</i>	Dder-R32-3123699.1	751	84 520.91	6.69	49.23	80.32	-0.410
<i>DdMADS65</i>	Dder-R89-4352032.1	138	15 974.58	9.44	56.38	91.81	-0.536
<i>DdMADS66</i>	Dder-R89-17644525.1	237	27 825.51	9.24	43.71	77.38	-0.919
<i>DdMADS67</i>	Dder-R89-25928527.1	67	7 683.02	10.23	36.71	87.31	-0.400
<i>DdMADS68</i>	Dder-R89-26728294.1	224	25 319.72	6.93	54.00	90.98	-0.663
<i>DdMADS69</i>	Dder-R31-10365570.1	358	40 494.20	5.31	64.70	82.51	-0.609
<i>DdMADS70</i>	Dder-R31-6356456.1	253	28 871.07	9.41	59.16	69.80	-0.728
<i>DdMADS71</i>	Dder-R31-6002897.1	172	19 036.37	10.25	45.97	86.74	-0.144
<i>DdMADS72</i>	Dder-R31-4428905.1	195	22 388.05	9.11	49.34	91.95	-0.298
<i>DdMADS73</i>	Dder-R31-4165149.1	61	7 110.29	9.93	53.19	91.15	-0.518
<i>DdMADS74</i>	Dder-R113-3422030.1	207	24 342.85	9.28	53.08	88.12	-0.843
<i>DdMADS75</i>	Dder-R113-4062640.1	438	50 016.18	8.99	56.95	71.03	-0.572
<i>DdMADS76</i>	Dder-R113-7688676.1	250	28 629.23	7.70	40.81	80.80	-0.704
<i>DdMADS77</i>	Dder-R68-2869495.1	198	22 546.60	7.66	52.45	80.81	-0.601
<i>DdMADS78</i>	Dder-R68-2889721.1	254	28 949.78	9.40	54.44	73.35	-0.863
<i>DdMADS79</i>	Dder-R68-9726991.1	89	10 211.71	9.59	51.14	84.27	-0.582
<i>DdMADS80</i>	Dder-R68-10925994.1	229	25 690.14	9.67	55.49	71.53	-0.773
<i>DdMADS81</i>	Dder-R68-11392595.1	227	25 331.74	7.88	58.79	80.79	-0.485

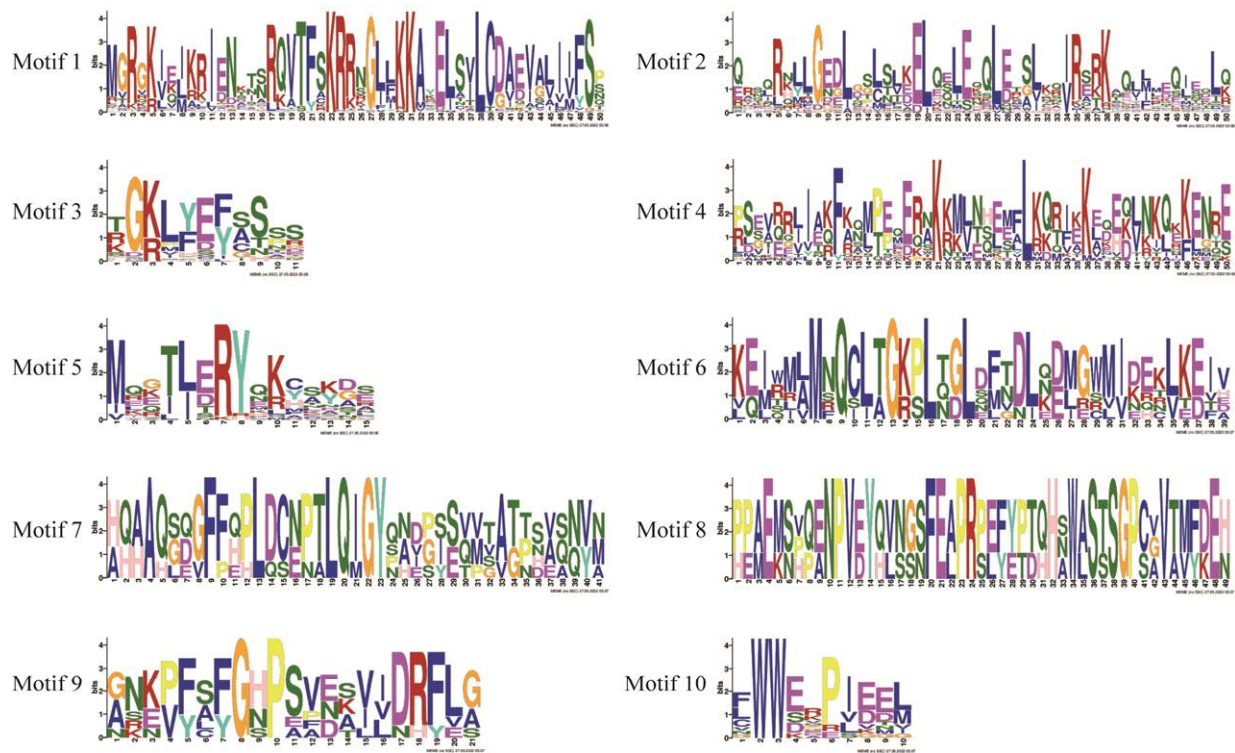


图1 云南柊[木衣] *MADS-box* MEME 保守基序预测结果

Figure 1 Conserved motifs of *MADS-box* predicted by MEME in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.. The abscissa is amino acid position and the ordinate is the proportion of amino acid at a site.

9个；其次是 *SOCI* 亚组，含有 8 个 *MADS-box* 基因家族成员；*AP3/PI* 亚组中有 6 个成员；*API* 和 *SEP* 亚组均含有 5 个成员；*MIKC*^{*}、*AG/STK* 和 *AGL17* 亚组有 4 个 *MADS-box* 基因家族成员；*ABS* 亚组有 3 个成员；*AGL6*、*AGL12* 和 *AGL15* 分别含有 2 个成员；*FLC* 亚组中未发现 *MADS-box* 基因家族成员。

2.4 云南柊[木衣] *MADS-box* 表达模式分析与验证

对云南柊[木衣]转录组数据库中 *MADS-box* 基因在 5 个不同种子萌发阶段(S1-S5：干种、吸胀、萌动、发芽、成苗)的表达数据进行分析(图 4)，结果表明：81 个 *MADS-box* 基因在转录组中均有表达，且不同基因在 5 个阶段表达数值存在较大差异。由图 4 可知，22 个 *MADS-box* 基因在干种期表达量较高，后 4 个

时期呈持续下降趋势；9 个 *MADS-box* 基因在吸胀期表达量达到峰值，并在后 3 个时期中持续下降；15 个 *MADS-box* 基因在萌动期表达量最高；28 个 *MADS-box* 基因在发芽期表达量达到峰值，随后表达量有所下降；其余 *MADS-box* 基因在前 4 个时期虽然表达量有所波动但是总体呈上升趋势，并在成苗期达到峰值。其中表达差异显著的基因 *DdMADS25*、*DdMADS37*、*DdMADS38*、*DdMADS42*、*DdMADS60* 和 *DdMADS75* 在干种期、吸胀期有较高的表达量，而在后 3 个时期表达量下降，分别为 *API*、*SVP*、*MIKC*^{*} 和 *AG/STK* 亚组基因。表达量最高的是 *SVP* 亚组的 *DdMADS37*，在前期的表达量高达 241.68，是后期的 10 倍以上，推测其在种子萌发过程中发挥重要的生物学作用。

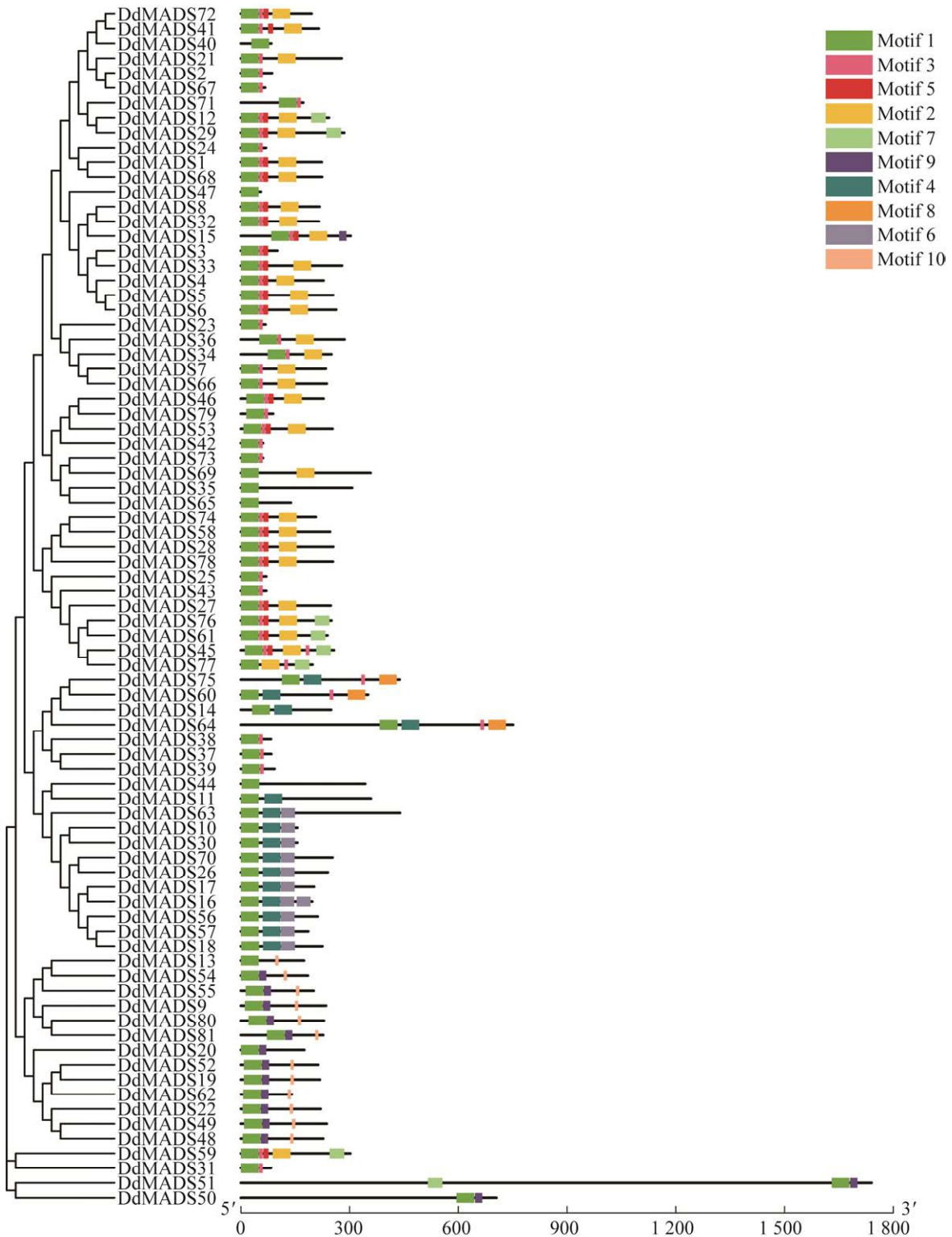


图2 云南栎[木衣] *MADS-box* 保守基序分析

Figure 2 Analysis of conserved motifs of *MADS-box* in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.. Each motif is represented by a colored box.

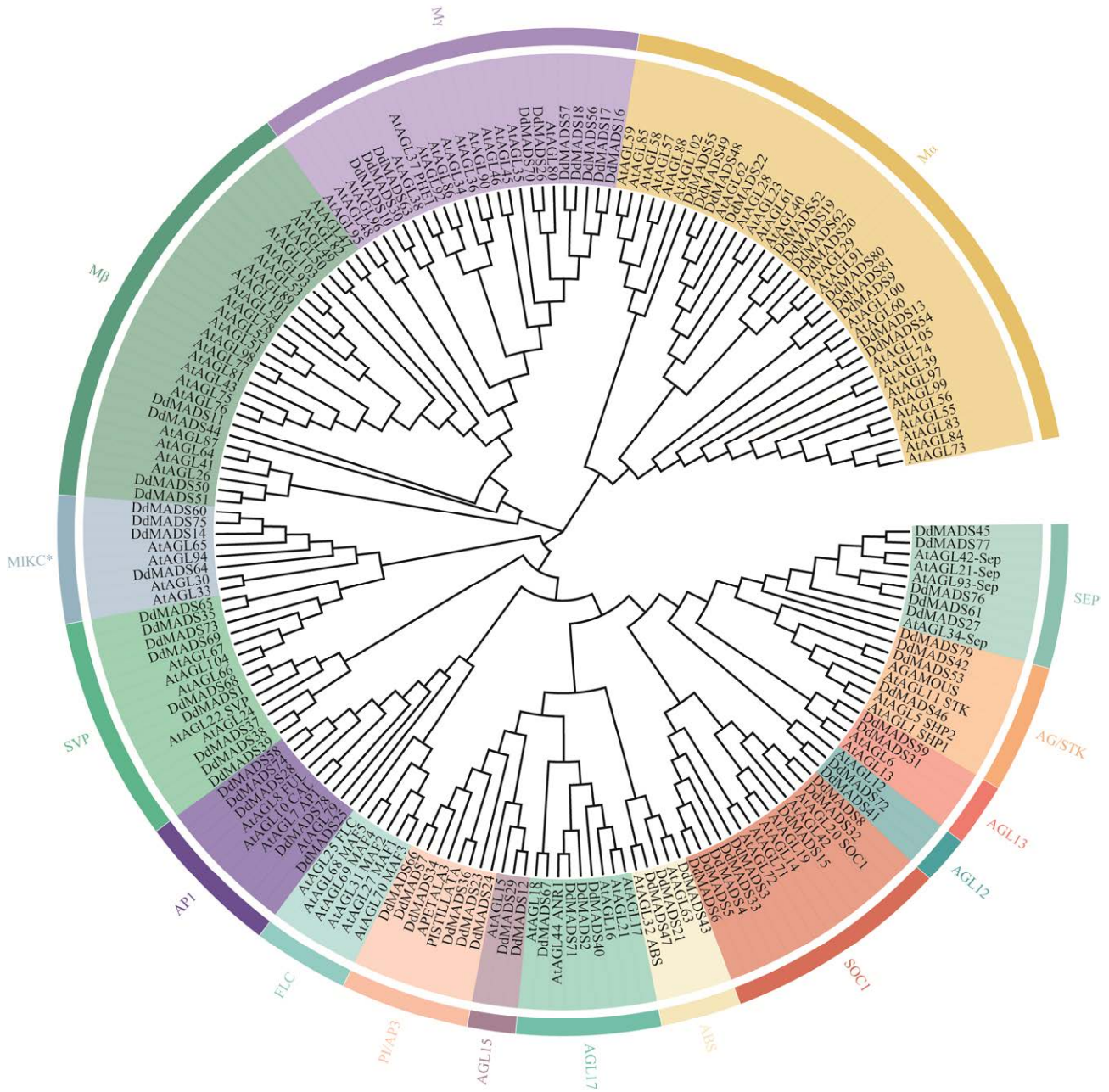


图 3 云南柃[木衣] MADS-box 基因家族进化树分析

Figure 3 Phylogenetic tree of MADS-box gene family in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.. At: *Arabidopsis thaliana*; Dd: *Docynia delavayi*.

为进一步验证上述结果，挑选 6 个表达差异显著基因进行 qRT-PCR 实验分析(图 5)。结果显示，所选的 6 个 MADS-box 基因在后 3 个时期的表达量与前 2 个时期相比均为下调表

达，与转录组测序的表达趋势一致。其中 *DdMADS25*、*DdMADS60* 和 *DdMADS75* 在吸胀期表达量最高；*DdMADS37*、*DdMADS38* 和 *DdMADS42* 在干种期表达量达到峰值。

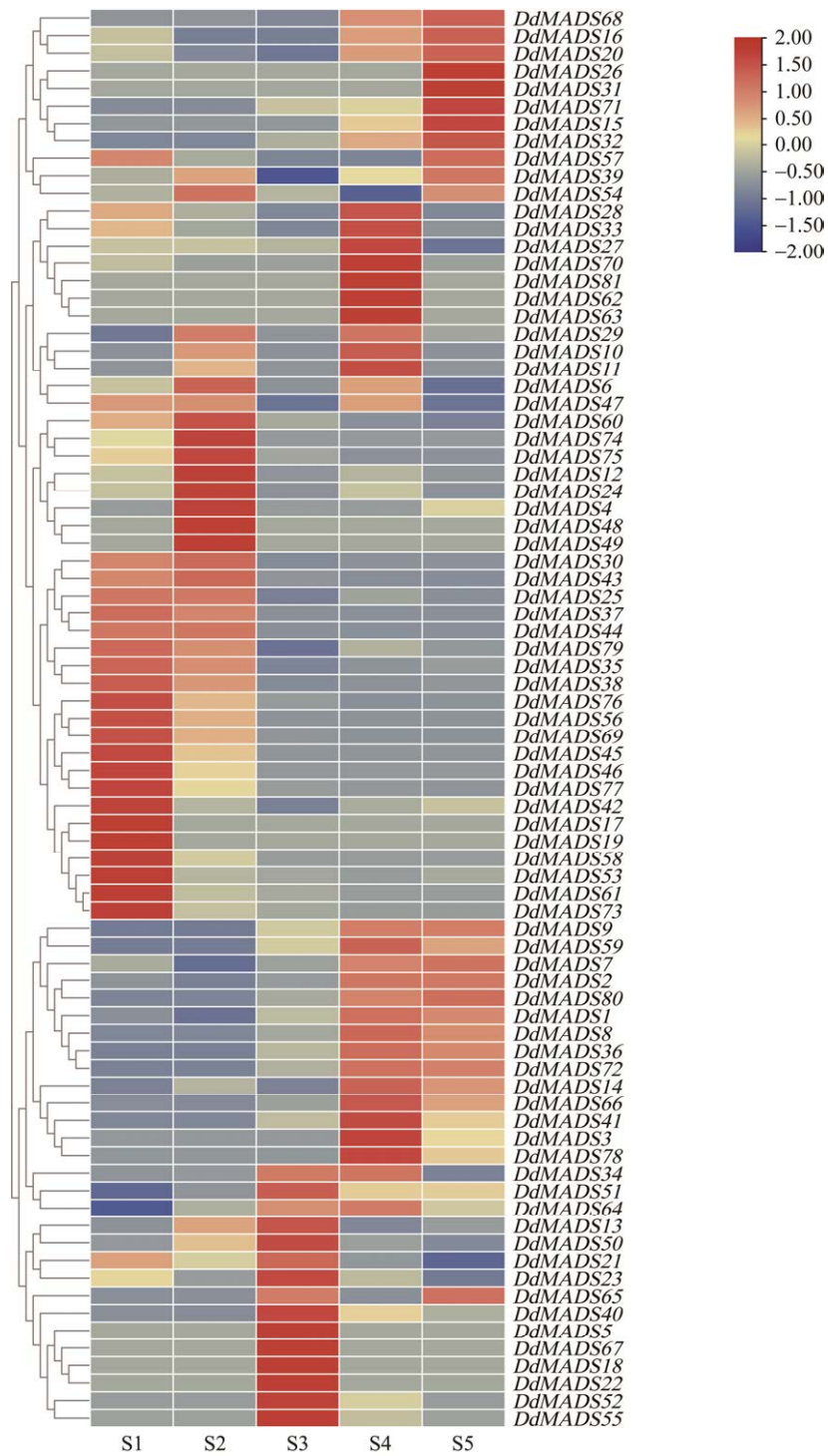


图 4 云南柃[木衣] *MADS-box* 转录因子表达量热图 S1: 干种期; S2: 吸胀期; S3: 萌动期; S4: 发芽期; S5: 成苗期

Figure 4 The expression heatmap of *MADS-box* transcription factors in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.. S1: Seed period; S2: Swelling absorption period; S3: Germination period; S4: Germination period; S5: Seedling establishment period.

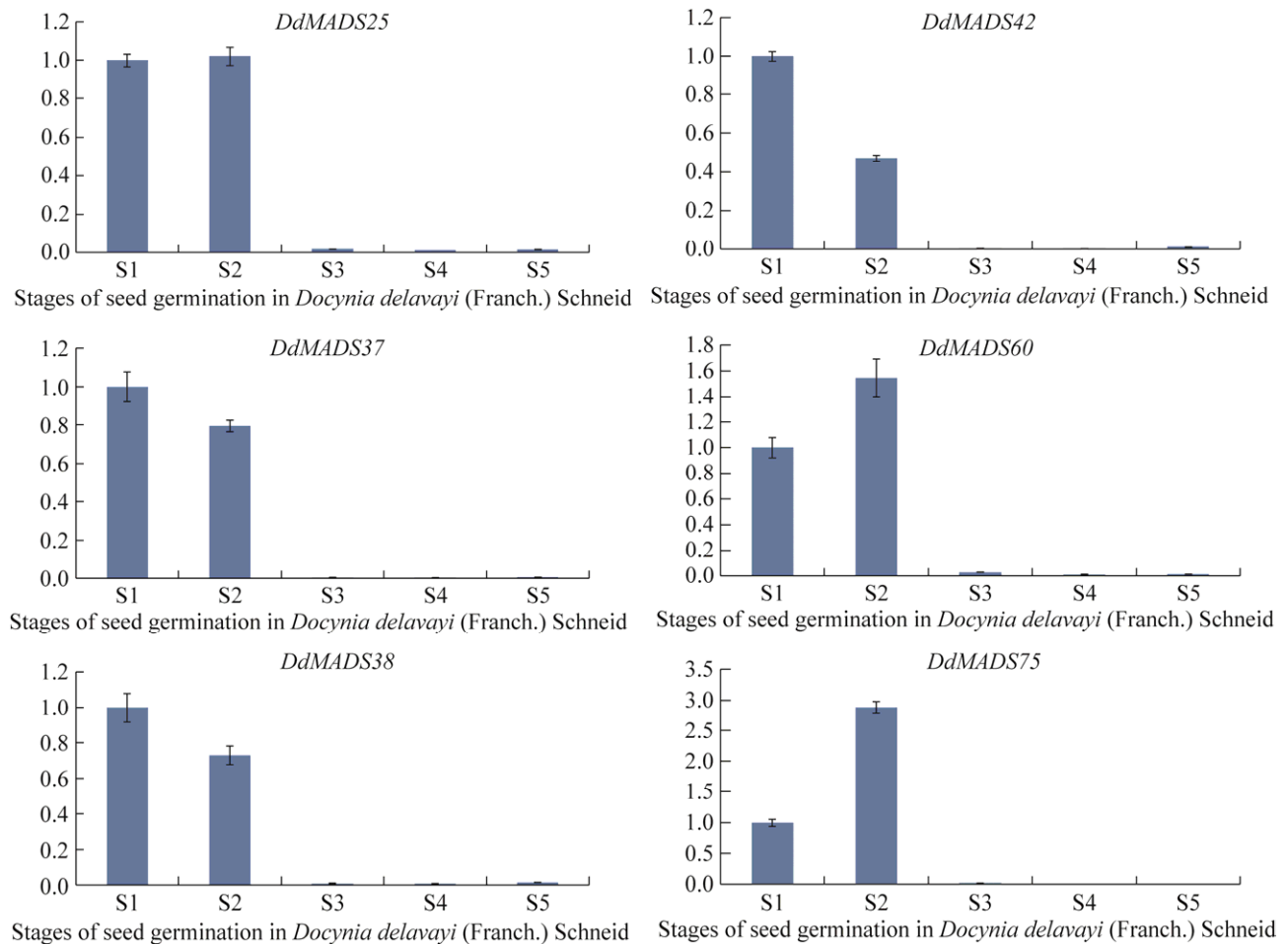


图5 云南柃[木衣] *MADS-box* 基因的 qRT-PCR 分析 S1: 干种期; S2: 吸胀期; S3: 萌动期; S4: 发芽期; S5: 成苗期

Figure 5 Quantitative qRT-PCR expression analysis of *MADS-box* genes in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. S1: Seed period; S2: Swelling absorption period; S3: Germination period; S4: Germination period; S5: Seedling establishment period.

3 讨论与结论

MADS-box 基因家族是植物中最大的转录因子家族之一, 在植物生长发育、次生代谢调控、胁迫反应等方面起着重要作用^[30], 因此深入研究 *MADS-box* 转录因子家族对云南柃[木衣] 的遗传改良具有重要意义。

本研究共鉴定到 81 个云南柃[木衣] *MADS-box* 基因, 与非同科植物的 *MADS-box*

家族成员数量差异较大^[23], 与同科植物梅花、杏等 *MADS-box* 家族成员数量相近^[24-25], 表明生物进化过程中基因的差异性^[31]。理化性质分析结果显示 *MADS-box* 的蛋白长度、分子量和等电点等理化性质存在较大差异, 可能与其功能多样性有关^[32]。从云南柃[木衣] *MADS-box* 转录因子各自的保守基序及进化关系来看, 进化关系相近的同一亚组 *MADS-box* 编码蛋白所含的 motif 种类相似并且分布位置大体一致, 由

此可见在进化过程中 *MADS*-box 基因家族的蛋白仍然保持基本功能,且相同进化分支的 *MADS*-box 转录因子功能相近^[33-34],表明了云南柃[木衣] *MADS*-box 基因家族蛋白功能的保守和分化^[35]。

进化分析结果显示,聚类在同一进化树分支上的基因被分为同一亚组,云南柃[木衣]的 *MADS*-box 家族成员分布与前人对 *MADS*-box 基因家族^[36]的亚组分类情况基本一致。同一亚组的基因具有较高同源性,而同源基因又具有相似的生物学功能^[37-39],在“ABCDE”植物花器官发育的经典模型中,主要参与者多数是 *MADS*-box 基因^[40],其中 D (*AG/STK*)类和 E (*SEP1*、*SEP2*、*SEP3*、*SEP4*)类基因共同参与调控胚珠的发育^[41-42],因此推测聚类到 *AG/STK* 亚组的 *DdMADS42*、*DdMADS46*、*DdMADS53*、*DdMADS79* 与 *SEP* 亚组的 *DdMADS27*、*DdMADS45*、*DdMADS61*、*DdMADS76* 和 *DdMADS77* 在种子萌发过程中对胚珠发育起到重要调控作用。

云南柃[木衣] *MADS*-box 转录组表达模式分析结果表明,81 个成员在 5 个时期中的表达存在较大差异,这可能与基因功能的不同有关^[43]。在本研究中,*API* 亚组的 *DdMADS25*、*AG/STK* 亚组的 *DdMADS42*、*SVP* 亚组的 *DdMADS37* 和 *DdMADS38* 以及 *MIKC**亚组的 *DdMADS60* 和 *DdMADS75* 均为前期表达量较高后期下降的趋势。拟南芥(*Arabidopsis*)中存在一种名为 *ful-1* 的突变,它会在受精后终止角果伸长且出现种子数量异常的现象,研究表明出现这种情况的主要原因是 *API* 亚组的 *FUL* 转录因子在种子萌发过程中促进细胞生长分化,并抑制特定细胞类型的细胞分裂^[44],因此可以推断同为 *API* 亚组的 *DdMADS25* 可能在种子萌发过程中发挥相似作用;*AG/STK* 亚组通过影响植物种子中脂肪酸的合成从而调控植物种子的油脂含量^[45],研究

发现 *AG/STK* 亚组基因 *AGL11* 在油菜(*Brassica napus* L.)盛花期和盛花后 5 d 的表达量最高,后呈下降趋势,RT-PCR 实验结果显示 *AGL11* 在油菜种子发育和油脂积累过程中强烈表达^[46],与本研究 *AG/STK* 亚组的 *DdMADS42* 的表达趋势相似,认为 *DdMADS42* 可能是植物种子萌发过程中油脂积累的关键调控因子;*SVP* 亚组的 *DdMADS37* 和 *DdMADS38* 均有较高表达量,*SVP* 转录因子对种子休眠有负调控作用,可促进脱落酸合成并抑制种子萌发^[47],日本梨(*Pyrus pyrifolia*)中分离出的 2 个 *SVP* 亚组基因 *PpMADS13-1* 和 *PpMADS13-2*,经 RT-PCR 实验证明 2 个基因表达量都随着内休眠的打破而逐渐下降,实验结果表明 *SVP* 亚组基因对种子萌发有抑制作用^[48],与 *DdMADS37* 和 *DdMADS38* 的表达趋势基本一致,进一步说明 *DdMADS37* 和 *DdMADS38* 在参与调控云南柃[木衣]种子休眠方面起重要作用。

拟南芥中 *MIKC**型蛋白的异源二聚体复合物通过激活或抑制特异性基因表达从而调控花粉成熟和萌发过程^[49-50],故 *MIKC**亚组最初的功能是参与调节花器官发育,而目前未见报道指出 *MIKC**亚组与种子萌发有关。本研究首次发现 *MIKC**亚组的转录因子在种子萌发前期具有较高表达量,并推测 *MIKC**亚组在种子萌发过程中起到调控作用,为验证该推测准确性,挑选了 *MIKC**亚组的 *DdMADS60* 和 *DdMADS75* 进行 qRT-PCR 实验,结果与转录组测序的表达趋势一致,*DdMADS75* 在吸胀期表达量最高并且与后期差异倍数大,该结果表明 *MIKC**亚组的转录因子在种子萌发的吸胀期发挥了重要作用,其具体特征有待后续进一步实验验证。

本研究在云南柃[木衣]转录组数据的基础上筛选鉴定得到 81 个 *MADS*-box 转录因子,对云南柃[木衣] *MADS*-box 转录因子家族的理化

性质、蛋白保守基序、系统进化关系以及不同时期的表达模式进行分析,初步鉴定了云南柃[木衣] *MADS*-box 转录因子家族。本研究从新的角度更全面地探索了云南柃[木衣]种子萌发的遗传机制,为进一步从分子进化角度研究云南柃[木衣] *MADS*-box 基因家族的生物学功能提供了参考。

REFERENCES

- [1] 王传琦, 孔稳稳, 李晶. 植物转录因子最新研究方法[J]. 生物技术通讯, 2013, 24(1): 118-123.
WANG CQ, KONG WW, LI J. Current research method of transcription factors in plants[J]. Letters in Biotechnology, 2013, 24(1): 118-123 (in Chinese).
- [2] THEIBEN G, KIM JT, SAEDLER H. Classification and phylogeny of the *MADS*-box multigene family suggest defined roles of *MADS*-box gene subfamilies in the morphological evolution of eukaryotes[J]. Journal of Molecular Evolution, 1996, 43(5): 484-516.
- [3] 姚琦园, 李纷纷, 张林成, 周升恩. 植物 *MADS*-box 转录因子参与调控非生物胁迫的研究进展[J]. 江西农业学报, 2018, 30(5): 73-79.
YAO QY, LI FF, ZHANG LC, ZHOU SE. Research progress in *MADS*-box transcription factors involved in regulation of abiotic stress of plants[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30(5): 73-79 (in Chinese).
- [4] 郭鹏. 十字花科 *MADS*-box 基因家族系统进化分析[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2018.
GUO P. The phylogenetic analysis of *MADS*-box gene family in Brassicaceae plants[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2018 (in Chinese).
- [5] ANUSAKP, DITTA GARY S, BETHS, LILJEGREN SARAH J, ELVIRAB, ELLENW, YANOFISKY MARTIN F. Assessing the redundancy of *MADS*-box genes during carpel and ovule development[J]. Nature, 2003, 424(6944): 85-8.
- [6] HENSCHL, KOFUJIR, HASEBEM, SAEDLER H, MÜNSTER T, THEISSENG. Two ancient classes of MICK-type *MADS*-box genes are present in the moss *Physcomitrella patens*[J]. Molecular Biology and Evolution, 2002, 19(6): 801-814.
- [7] SHORE P, SHARROCKS AD. The *MADS*-box family of transcription factors[J]. European Journal of Biochemistry, 1995, 229(1): 11-13.
- [8] PARENICOVÁL, de FOLTER S, KIEFFER M, HORNER DS, FAVALLI C, BUSSCHER J, COOK HE, INGRAM RM, KATER MM, DAVIES B, ANGENENT GC, COLOMBO L. 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.
- [9] RIECHMANN JL, KRIZEK BA, MEYEROWITZ EM. Dimerization specificity of *Arabidopsis* *MADS* domain homeotic proteins APETALA1, APETALA3, PISTILLATA, and AGAMOUS[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(10): 4793-4798.
- [10] GRAMZOW L, THEISSEN G. A hitchhiker's guide to the *MADS* world of plants[J]. Genome Biology, 2010, 11(6): 1-11.
- [11] BECKER A, THEISSEN G. The major clades of *MADS*-box genes and their role in the development and evolution of flowering plants[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 29(3): 464-489.
- [12] LIGHTFOOT DJ, MALONE KM, TIMMIS JN, ORFORD SJ. Evidence for alternative splicing of *MADS*-box transcripts in developing cotton fibre cells[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2008, 279(1): 75-85.
- [13] 刘翔, 左开井, 黎颖, 许洁婷, 陈雨, 张飞, 孙小芬, 唐克轩. 植物花器官发育模型及相关转录因子的研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2009, 30(4): 100-104.
LIU X, ZUO KJ, LI Y, XU JT, CHEN Y, ZHANG F, SUN XF, TANG KX. The advances in the model of floral organ development and the transcriptional factors related to flower development[J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 2009, 30(4): 100-104 (in Chinese).
- [14] 吴征镒. 云南种子植物名录[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1984.
WU ZY. List of Seed Plants in Yunnan[M]. Kunming: Yunnan People's Publishing House, 1984 (in Chinese).
- [15] 李福寿, 李美珍, 李剑. 云南多依的生物学特性和物候特征研究[J]. 中国园艺文摘, 2010(4): 2.
LI FS, LI MZ, LI J. Study of biological characteristics of *Docynia delavayi* (Fr.) Schneid.[J]. Chinese

- Horticulture Abstracts, 2010(4): 2 (in Chinese).
- [16] 张新洛, 彭劲谕, 王玉昌, 王大玮. 云南柃[木衣]总DNA提取方法比较及SSR反应体系优化[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(6): 1064-1070.
ZHANG XL, PENG JY, WANG YC, WANG DW. Comparison of extraction methods of total DNA and optimization of SSR reaction systems from *Docynia delavayi*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2022, 37(6): 1064-1070 (in Chinese).
- [17] 刘承清, 赵应红, 李晓幸. HPLC法测定傣药材楠果(柃木衣树皮)中的槲皮素含量[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(10): 38-40.
LIU CQ, ZHAO YH, LI XX. Determination of quercetin content in Dai medicinal *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. by HPLC[J]. Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities, 2017, 23(10): 38-40 (in Chinese).
- [18] DENG XK, ZHAO XP, LAN Z, JIANG J, YIN W, CHEN LY. Anti-tumor effects of flavonoids from the ethnic medicine *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and its possible mechanism[J]. Journal of Medicinal Food. 2014, 17(7): 787-794.
- [19] ZHAO X, SHU G, CHEN L, MI X, MEI Z, DENG X. A flavonoid component from *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. represses transplanted H22 hepatoma growth and exhibits low toxic effect on tumor-bearing mice[J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2012, 50(9): 3166-3173.
- [20] LILX, OUWL, WANGYC, PENG JY, WANG DW, XU S. Comparison of genetic diversity between ancient and common populations of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.[J]. Gene, 2022, 829: 146498.
- [21] PENG JY. Genetic diversity and population structure of the medicinal plant *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. revealed by transcriptome-based SSR markers[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2021, 21: 100294.
- [22] 陈臻, 石辰, 王大玮, 彭劲谕, 段安安. 云南柃(木衣)SRAP-PCR反应体系的建立及引物筛选[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(6): 1037-1043.
CHEN C, SHI C, WANG DW, PENG JY, DUAN AA. Establishment of SRAP-PCR reaction system on *Docynia delavayi* (Franch.) schneid. and selection of primers[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2021, 36(6): 1037-1043 (in Chinese).
- [23] MAJ, YANG YJ, LUOW, YANG CC, DING PY, LIU YX, QIAO LY, CHANG ZJ, GENG HW, WANG PH, JIANG QT, WANG JR, CHEN GY, WEI YM, ZHENG YL, LAN XJ. Genome-wide identification and analysis of the *MADS*-box gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181443.
- [24] 徐宗大. 梅花花器官发育相关 *MADS*-box 基因的功能分析[D]. 北京: 北京林业大学博士学位论文, 2015.
XU ZD. Functional analysis of *MADS*-box genes related to floral organ development in *Prunus mume*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Beijing Forestry University, 2015 (in Chinese).
- [25] 陈晨, 朱高浦, 赵罕, 刘慧敏, 罗颖, 徐宛玉, 黄梦真, 乌云塔娜, 王淋. 西伯利亚杏全基因组 *MADS*-box 基因家族鉴定及表达分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(20): 6575-6585.
CHEN C, ZHU GP, ZHAO H, LIU HM, LUO Y, XU WY, HUANG MZ, WUY TN, WANG L. Genome-wide identification of *MADS*-box gene family and expression analysis in *Prunus sibirica*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(20): 6575-6585 (in Chinese).
- [26] 刘春明, 程佑发, 刘永秀, 孙蒙祥, 薛红卫. 植物种子发育的分子机理[J]. 中国基础科学, 2016, 18(2): 1-13.
LIU CM, CHENG YF, LIU YX, SUN MX, XUE HW. Molecular mechanism of seed development in plants[J]. China Basic Science, 2016, 18(2): 1-13 (in Chinese).
- [27] WILLIS CG, BASKIN CC, BASKIN JM, AULD JR, LAWRENCE VENABLE D, CAVENDER-BARES J, DONOHUE K, RUBIO de CASAS R, GROUP TNGW. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants[J]. New Phytologist, 2014, 203(1): 300-309.
- [28] 王艳梅, 张小雪, 朱秀征, 张志华, 李志, 耿晓东, 蔡齐飞, 刘震. 林木种子休眠与萌发机制研究进展[J]. 林业科学, 2021, 57(10): 128-144.
WANG YM, ZHANG XX, ZHU XZ, ZHANG ZH, LI Z, GENG XD, CAI QF, LIU Z. Research progress on dormancy and germination mechanism of forest seeds[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2021, 57(10): 128-144 (in Chinese).
- [29] 徐恒恒, 黎妮, 刘树君, 王伟青, 王伟平, 张红, 程红焱, 宋松泉. 种子萌发及其调控的研究进展[J]. 作物学报, 2014, 40(7): 1141-1156.
XU HH, LI N, LIU SJ, WANG WQ, WANG WP,

- ZHANG H, CHENG HY, SONG SQ. Research progress in seed germination and its control[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 40(7): 1141-1156 (in Chinese).
- [30] LEE S, WOO YM, RYU SI, SHIN YD, KIM WT, PARK KY, LEE IJ, AN G. Further characterization of a rice AGL12 group *MADS*-box gene, *OsMADS26*[J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(1): 156-168.
- [31] 马明臻. 草莓 *MADS*-box 基因家族生物信息学分析[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(11): 21-25.
- MA MZ. Bioinformatics analysis of strawberry *MADS*-box gene family[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2015, 43(11): 21-25 (in Chinese).
- [32] 杨杰, 陈蓉, 胡文娟, 吴巧玲, 佟晓楠, 李兴涛. 枳 *PP2C* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. *果树学报*, 2022, 39(4): 532-547.
- YANG J, CHEN R, HU WJ, WU QL, TONG XN, LI XT. Identification and expression analysis of *PP2C* gene family in *Poncirus trifoliata*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2022, 39(4): 532-547 (in Chinese).
- [33] WUEST SE, O'MAOILEIDIGH DS, RAE L, KWASNIEWSKA K, RAGANELLI A, HANCZARYK K, LOHAN AJ, LOFTUS B, GRACIET E, WELLMER F. Molecular basis for the specification of floral organs by *APETALA3* and *PISTILLATA*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(33): 13452-13457.
- [34] BOWMAN JL, SMYTH DR, MEYEROWITZ EM. The ABC model of flower development: then and now[J]. *Development*, 2012, 139(22): 4095-4098.
- [35] de BODT S, RAES J, FLORQUIN K, ROMBAUTS S, ROUZÉ P, THEIBEN G, van de PEER Y. Genomewide structural annotation and evolutionary analysis of the type I *MADS*-box genes in plants[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2003, 56(5): 573-586.
- [36] 景丹龙, 郭启高, 陈薇薇, 夏燕, 吴岷, 党江波, 何桥, 梁国鲁. 被子植物花器官发育的模型演变和分子调控[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(3): 355-362.
- JING DL, GUO QG, CHEN WW, XIA Y, WU D, DANG JB, HE Q, LIANG GL. Model evolution and molecular mechanism of angiosperm flower development[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(3): 355-362 (in Chinese).
- [37] SHANNON S, MEEKS-WAGNER DR. Genetic interactions that regulate inflorescence development in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 1993: 639-655.
- [38] 孟雨婷, 黄晓晨, 侯元同, 邱念伟. 花的形态与花发育的 ABCDE 模型[J]. *生物学杂志*, 2017, 34(6): 105-107, 115.
- MENG YT, HUANG XC, HOU YT, QIU NW. The floral morphology and the ABCDE model of floralorgan development[J]. *Journal of Biology*, 2017, 34(6): 105-107, 115 (in Chinese).
- [39] 郝树琳, 陈宏伟, 廖芳丽, 李莉, 刘昌燕, 刘良军, 方正煌, 沙爱华. 基于盐胁迫转录组信息的蚕豆 *F*-box 基因家族分析[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(17): 3443-3454.
- HAO SL, CHEN HW, LIAO FL, LI L, LIU CY, LIU LJ, WAN ZH, SHA AH. Analysis of *F*-box gene family based on salt-stressed transcriptome sequencing in *Vicia faba* L.[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(17): 3443-3454 (in Chinese).
- [40] CHEN YY, TSAI WC. The function of *C/D*-class *MADS*-box genes in orchid gynostemium and ovule development[M]. *Orchid Biotechnology III*, 2017: 289-308.
- [41] SUÁREZ-BARON H, PÉREZ-MESA P, AMBROSEBA, GONZÁLEZ F, PABÓN-MORAN. Deep into the *Aristolochia* flower: expression of *C*, *D*, and *E*-class genes in *Aristolochia fimbriata* (Aristolochiaceae)[J]. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 2017, 328(1/2): 55-71.
- [42] EHLERS K, BHITE AS, TEKLEYOHANS DG, WITTKOPB, SNOWDONRJ, BECKER A. The *MADS*-box genes *ABS*, *SHP*₁, and *SHP*₂ are essential for the coordination of cell divisions in ovule and seed coat development and for endosperm formation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0165075.
- [43] ALEJANDRA MANDEL M, GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGEB, YANOFISKY MF. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA1*[J]. *Nature*, 1992, 360(6401): 273-277.
- [44] GU Q, FERRANDIZ C, YANOFISKY MF, MARTIENSSEN R. The *FRUITFULL* *MADS*-box gene mediates cell differentiation during *Arabidopsis* fruit development[J]. *Development*, 1998, 125(8): 1509-1517.
- [45] 熊书. 与植物种子油脂合成相关的 *MADS*-box 转录因子研究进展[J]. *求知导刊*, 2016(23): 31-32.
- XIONG S. Research progress of *MADS*-box transcription factors related to plant seed oil synthesis[J]. *QiuZhiDaoKan*, 2016(23): 31-32 (in Chinese).
- [46] 熊书, 李彦杰, 周大祥. 油菜 *MADS*-box 家族基因

- AGL11 的克隆、表达及转化油菜的研究[J]. 西南农业学报, 2017, 30(10): 2174-2178.
- XIONG S, LI YJ, ZHOU DX. Cloning and expression and transformation of *MADS*-box family gene *AGL11* in *Brassica napus*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(10): 2174-2178 (in Chinese).
- [47] 杨依维, 汪泽文, 王鹏飞, 张建成, 穆霄鹏, 杜俊杰. 欧李休眠相关基因 *MADS*-box5(*DAM5*)的功能分析[J]. 植物生理学报, 2021, 57(2): 473-479.
- YANG YW, WANG ZW, WANG PF, ZHANG JC, MU XP, DU JJ. Functional analysis of *DAM5* gene in *Cerasus humilis*[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(2): 473-479 (in Chinese).
- [48] UBI BE, SAKAMOTO D, BAN Y, SHIMADA T, ITO A, NAKAJIMA I, TAKEMURA Y, TAMURA F, SAITO T, MORIGUCHI T. Molecular cloning of dormancy-associated *MADS*-box gene homologs and their characterization during seasonal endodormancy transitional phases of Japanese pear[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2010, 135(2): 174-182.
- [49] VERELSTW, TWELL D, deFOLTER S, IMMINKR, SAEDLERH, MÜNSTERT. *MADS*-complexes regulate transcriptome dynamics during pollen maturation[J]. Genome Biology, 2007, 8(11): 1-15.
- [50] ADAMCZYK BJ, FERNANDEZ DE. MIKC* *MADS* domain heterodimers are required for pollen maturation and tube growth in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2009, 149(4): 1713-1723.

(本文责编 郝丽芳)