

赵 亮,狄佳春,陈旭升. 棉花基因组中赤霉素氧化酶基因的鉴定与分析[J].江苏农业学报,2020,36(3):553-560.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2020.03.004

## 棉花基因组中赤霉素氧化酶基因的鉴定与分析

赵 亮, 狄佳春, 陈旭升

(江苏省农业科学院经济作物研究所/农业农村部长江下游棉花与油菜重点实验室,江苏 南京 210014)

**摘要:** 根据赤霉素氧化酶氨基酸序列的保守结构域和生物学信息,对棉花 2 个二倍体野生种(A 基因组的亚洲棉和 D 基因组的雷蒙德氏棉)和 2 个异源四倍体遗传标准系(陆地棉 TM-1 和海岛棉 H7124)进行了全基因组的查找。结果表明,在 2 个二倍体野生种的 A 和 D 基因组中分别预测到 219 和 188 个该酶类基因家族成员;在异源四倍体陆地棉 TM-1 和 H7124 中分别预测到了 310 和 428 个该酶类基因家族成员。通过分析陆地棉中预测到的 310 个该酶类基因家族成员在赤霉素敏感超矮突变体和野生型转录组中表达差异,发现 16 个基因具有显著性差异。利用这 16 个基因编码的蛋白质氨基酸序列与报道的拟南芥赤霉素氧化酶氨基酸序列进行进化分析,结果表明 *Gh\_D06G2009* 属于 *GA3ox* 氧化酶,*Gh\_D01G0300* 和 *Gh\_D09G0746* 为 *GA2ox* 氧化酶,*Gh\_A06G1341*、*Gh\_A07G1653*、*Gh\_A11G1416*、*Gh\_A13G0444*、*Gh\_A13G1787*、*Gh\_A13G2343*、*Gh\_D01G0055*、*Gh\_D07G0446*、*Gh\_D07G1858*、*Gh\_D08G2680*、*Gh\_D11G3415*、*Gh\_D13G0516*、*Gh\_D13G2157* 为 *GA20ox* 氧化酶。

**关键词:** 棉花; 赤霉素; 赤霉素氧化酶; 基因家族

**中图分类号:** S562.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)03-0553-08

## Identification and analysis of gibberellin oxidase gene in cotton genome

ZHAO Liang, DI Jia-chun, CHEN Xu-sheng

(Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Cotton and Canola Research at the Lower Reach of the Yangtze River Plain, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** Based on the conserved domain of gibberellin oxidase amino acid sequence and bioinformatics, genome-wide searches were performed on two diploid wild cotton species (*Gossypium arboreum* with A genome and *G. Raimondii* with D genome) and two allotetraploid genetic standard lines (upland cotton TM-1 and island cotton H7124). In the two diploid wild species, 219 and 188 members of the enzyme family were predicted in the A and D genomes, respectively. In addition, 310 and 428 members of the enzyme family were predicted in allotetraploid upland cotton TM-1 and H7124, respectively. Subsequent analysis of 310 members predicted by us in upland cotton revealed significant differences in 16 genes between gibberellin mutants and wild-type transcriptomes. The amino acid sequence of the protein encoded by these 16 genes and the amino acid sequence of gibberellin oxidase in *Arabidopsis thaliana* were analyzed, it was found that *Gh\_D06G2009* could belong to *GA3ox* oxidase. *Gh\_D01G0300* and *Gh\_D09G0746* were *GA2ox* oxidase. However, *Gh\_A06G1341*, *Gh\_A07G1653*, *Gh\_A11G1416*, *Gh\_A13G0444*, *Gh\_A13G1787*, *Gh\_A13G2343*, *Gh\_D01G0055*, *Gh\_D07G0446*, *Gh\_D07G1858*, *Gh\_D08G2680*, *Gh\_D11G3415*, *Gh\_D13G0516*, *Gh\_D13G2157* were *GA20ox* oxidase.

**Key words:** cotton; gibberellic acid; gibberellin oxidase; gene family

收稿日期:2019-12-13

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(31401429);江苏省自然科学基金面上基金项目(BK20181245)

作者简介:赵 亮(1984-),男,吉林农安人,博士研究生,副研究员,主要从事棉花分子生物学研究。(E-mail)Liangz@jaas.ac.cn

通讯作者:陈旭升, (E-mail)njcx@126.com

赤霉素(GAs)是一种重要的植物类激素,参与植物生长与发育等多个生物学进程。在高等植物和真菌中,总计有 136 种赤霉素被鉴定<sup>[1]</sup>,但是只有一

少部分具有生物活性,例如  $GA_1$ 、 $GA_3$ 、 $GA_4$  和  $GA_7$ <sup>[2]</sup>。在高等植物中,赤霉素的生物合成总共涉及到 8 个关键酶,分别为 *CPS*、*KS*、*KO*、*KAO*、*GA20ox*、*GA13ox*、*GA2ox* 和 *GA3ox*,生物合成划分为 3 个阶段:在质体中,牻牛儿苗二磷酸(GGDP)合成贝壳杉烯(*ent-kaurene*);通过细胞色素 P450 单加氧酶,贝壳杉烯(*ent-kaurene*)转变为  $GA_{12}$ ;在细胞质中,通过赤霉素氧化酶的作用形成  $C_{20}$ -GAs 和  $C_{19}$ -GAs。植物中 GAs 最初来自于 GGPP,它存在于质体上,是最常见的二萜类  $C_{20}$  前体<sup>[3]</sup>。在模式植物拟南芥中发现的赤霉素敏感型突变体较多,每个合成途径基因都有相应的突变体: $GA_1$  对应 *CPS*,  $GA_2$  对应 *KS*,  $GA_3$  对应 *KO*,  $GA_4$  对应 *3BOx*,  $GA_5$  对应 *20OX*。前 3 个突变体为极端矮化突变体,后两者属于矮化突变体,此外对这 5 个突变体连续施用  $GA_3$ ,均能使其恢复正常植株的高度。

赤霉素氧化酶是参与植物赤霉素合成的关键酶之一,主要包含 3 种类别,分别是 *GA20ox*、*GA3ox* 和 *GA2ox*。这 3 种酶属于 2OG-Fe(II) 氧化酶亚家族<sup>[2]</sup>。在拟南芥赤霉素氧化酶研究的报道中,这 3 种赤霉素氧化酶家族总计有 16 个成员:*AtGA20ox1*~*AtGA20ox5*、*AtGA2ox1*~*AtGA2ox4* 和 *AtGA2ox6*~*AtGA2ox8*, *AtGA3ox1*~*AtGA3ox4*。*GA20ox* 和 *GA3ox* 的突变体表现为矮化或半矮化的表型;*GA2ox* 可以起到降低赤霉素活性的作用,从而降低植物体内赤霉素的活性水平<sup>[4]</sup>。在 *GA20ox* 这一类中,*AtGA20ox-1*、*AtGA20ox-2* 突变体表现为植株极度矮化及育性受到影响<sup>[5]</sup>。

本研究通过生物信息学方法,从已经公开发表的的不同棉种基因组数据中查找赤霉素合成途径中赤霉素氧化酶家族成员,并将这些预测到的成员在本研究室已有的赤霉素突变体和野生型转录组数据库中进行功能预测,从而分析出最有可能参与棉花赤霉素合成途径的赤霉素氧化酶。

## 1 材料与方法

### 1.1 基因组数据库

本研究所利用的基因组数据主要来源于 4 个棉种,即棉花二倍体 A 基因组和 D 基因组的亚洲棉(*G. arboreum*)和雷蒙德氏棉(*G. raimondii*),棉花异源四倍体 AADD 基因组的陆地棉(*G. hirsutum*)和海岛棉(*G. barbadense*)中的遗传标准系 TM-1 和

H7124。这 4 个基因组的数据都通过网站 <http://www.cottonfgd.org/> 获得。

### 1.2 基因注释

根据 Sonnhammer 等<sup>[6]</sup>的方法,利用软件 HMMER 3.0 分别对 4 个基因组数据中的赤霉素氧化酶进行注释。注释中所需要的种子文件来源于 Pfam 数据库(<http://pfam.sanger.ac.uk/>),其详细特征为:DIOX\_N (PF14226) 和 2OG-FeII\_Oxy (PF03171)。随后利用在线软件 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)对注释得到的基因编码的氨基酸序列保守结构域进行验证分析。

### 1.3 进化树构建

利用 MEGA X<sup>[7]</sup>进行序列的多重比对,比对结果以 fasta 格式输出,然后利用 Fasttree 软件<sup>[8-9]</sup>构建进化树,进化树的构建方法为最大似然函数法。采用 DnaSP V6 软件<sup>[10]</sup>计算同义替换与异义替换。

### 1.4 赤霉素突变体遗传材料

赤霉素突变体为陈旭升等<sup>[11]</sup>在陆地棉中发现的一个棉花超矮秆突变体。该突变体在自然条件下表现为极端矮化且不能正常开花、结铃和吐絮,但通过外源赤霉素处理,株高可以得到恢复,并能正常开花、结铃、吐絮。

## 2 结果与分析

### 2.1 赤霉素氧化酶全基因组的注释

通过对赤霉素氧化酶氨基酸序列的分析,发现该酶类家族包含有 2 个保守结构域,分别为 DIOX\_N 和 2OG-FeII\_Oxy 结构域。这 2 个结构域在 Pfam 数据库中的编号分别为 PF14226 和 PF03171。通过 HMMER3.0 版本中的 hmmsearch 程序及 2 个种子文件,我们对 2 个二倍体野生种(A 基因组的亚洲棉和 D 基因组的雷蒙德氏棉)和 2 个异源四倍体遗传标准系(陆地棉 TM-1 和海岛棉 H7124)进行了全基因组的查找分析。结果显示,在亚洲棉中预测到了 219 个该酶类基因家族成员,雷蒙德氏棉中预测到了 188 个该酶类基因家族成员,异源四倍体陆地棉 TM-1 中预测到了 310 个该酶类基因家族成员,异源四倍体海岛棉 H7124 中预测到了 428 个该酶类基因家族成员(表 1)。

### 2.2 参与赤霉素代谢进程的赤霉素氧化酶基因鉴定

本研究室在前期研究中发现一个赤霉素敏感的超矮秆突变体,并且对其进行了转录组测序<sup>[12]</sup>。我

他们将 TM-1 基因组中预测到的赤霉素氧化酶成员在该突变体与野生型 (TM-1) 比较的转录组数据中进行查找,发现有 16 个成员在两个材料中存在差异表

达(表 2)。因此,这 16 个成员(赤霉素氧化酶基因)很大程度上参与了棉花赤霉素的合成。

表 1 4 个棉花基因组中赤霉素氧化酶基因家族成员预测结果

Table 1 Prediction of gibberellin oxidase family members in four cotton genomes

雷蒙德氏棉		亚洲棉		陆地棉 TM-1				海岛棉 H7124			
D 基因组	赤霉素氧化酶基因数量	A 基因组	赤霉素氧化酶基因数量	At 亚基因组	赤霉素氧化酶基因数量	Dt 亚基因组	赤霉素氧化酶基因数量	At 亚基因组	赤霉素氧化酶基因数量	Dt 亚基因组	赤霉素氧化酶基因数量
D01	21	A01	16	A01	16	D01	18	A01	20	D01	22
D02	8	A02	8	A02	11	D02	6	A02	20	D02	10
D03	5	A03	15	A03	2	D03	4	A03	3	D03	9
D04	7	A04	8	A04	6	D04	6	A04	8	D04	6
D05	12	A05	16	A05	9	D05	9	A05	16	D05	14
D06	14	A06	11	A06	8	D06	6	A06	11	D06	6
D07	15	A07	13	A07	12	D07	12	A07	13	D07	16
D08	19	A08	23	A08	17	D08	16	A08	24	D08	21
D09	24	A09	22	A09	18	D09	18	A09	24	D09	27
D10	14	A10	16	A10	11	D10	14	A10	17	D10	17
D11	11	A11	14	A11	10	D11	10	A11	15	D11	15
D12	7	A12	11	A12	7	D12	7	A12	13	D12	11
D13	31	A13	33	A13	26	D13	25	A13	36	D13	32
		N/A	13	N/A	6			N/A	2		
总计	188		219		310				428		

D01~D13;D 基因组 13 条染色体的编号;A01~A13;A 基因组 13 条染色体的编号;N/A;无法确定染色体归属。

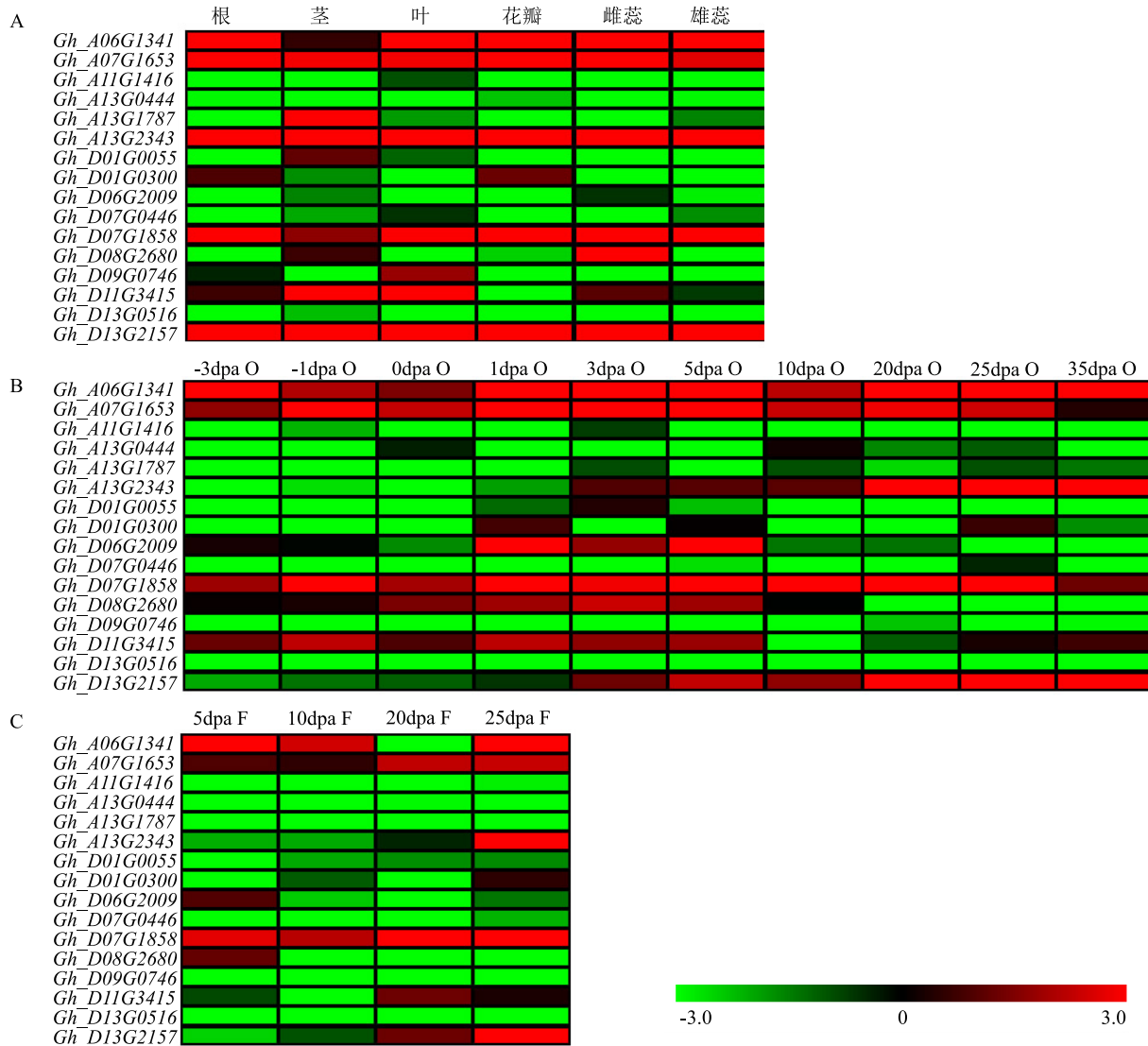
表 2 棉花赤霉素敏感超矮突变体与野生型转录组中差异表达基因

Table 2 Differentially expressed genes in cotton gibberellin mutants and wild-type transcriptomes

基因	Log <sub>2</sub> (对照/突变体)	P 值	校正后 P 值	上调/下调
Gh_A06G1341	1.88	2.48×10 <sup>-4</sup>	2.06×10 <sup>-2</sup>	↑
Gh_A07G1653	1.90	4.29×10 <sup>-5</sup>	4.87×10 <sup>-3</sup>	↑
Gh_A11G1416	4.51	4.06×10 <sup>-6</sup>	6.40×10 <sup>-4</sup>	↑
Gh_A13G1787	5.04	7.99×10 <sup>-5</sup>	8.22×10 <sup>-3</sup>	↑
Gh_A13G2343	1.61	4.02×10 <sup>-4</sup>	3.03×10 <sup>-2</sup>	↑
Gh_D06G2009	3.14	5.64×10 <sup>-4</sup>	3.92×10 <sup>-2</sup>	↑
Gh_D07G1858	1.74	1.55×10 <sup>-4</sup>	1.40×10 <sup>-2</sup>	↑
Gh_D08G2680	3.57	2.02×10 <sup>-8</sup>	4.86×10 <sup>-6</sup>	↑
Gh_D09G0746	6.86	7.52×10 <sup>-9</sup>	1.93×10 <sup>-6</sup>	↑
Gh_D11G3415	2.25	3.80×10 <sup>-6</sup>	6.03×10 <sup>-4</sup>	↑
Gh_D13G0516	3.07	5.06×10 <sup>-10</sup>	1.48×10 <sup>-7</sup>	↑
Gh_D13G2157	2.19	1.64×10 <sup>-6</sup>	2.86×10 <sup>-4</sup>	↑
Gh_A13G0444	-2.20	1.94×10 <sup>-4</sup>	1.68×10 <sup>-2</sup>	↓
Gh_D01G0055	-2.40	3.38×10 <sup>-6</sup>	5.44×10 <sup>-4</sup>	↓
Gh_D01G0300	-2.19	8.59×10 <sup>-5</sup>	8.59×10 <sup>-3</sup>	↓
Gh_D07G0446	-2.02	2.50×10 <sup>-4</sup>	2.07×10 <sup>-2</sup>	↓

利用网络公布的 TM-1 各组织和器官的转录组数据对这 16 个基因的表达情况进一步分析发现:有 7 个基因在已有的转录组数据库中几乎检测不到表达(*Gh\_A11G1416*、*Gh\_A13G0444*、*Gh\_D01G0055*、*Gh\_D01G0300*、*Gh\_D06G2009*、*Gh\_D07G0446*、*Gh\_D13G0516*); *Gh\_A13G1787* 基因在茎中专化表达, *Gh\_D09G0746* 基因在

叶中专化表达(图 1-A);参与棉花胚珠发育的有 8 个基因(*Gh\_A06G1341*、*Gh\_A07G1653*、*Gh\_A13G2343*、*Gh\_D06G2009*、*Gh\_D07G1858*、*Gh\_D08G2680*、*Gh\_D11G3415* 和 *Gh\_D13G2157*) (图 1-B);参与纤维伸长发育的有 6 个基因(*Gh\_A06G1341*、*Gh\_A07G1653*、*Gh\_D07G1858*、*Gh\_D08G2680*、*Gh\_D11G3415* 和 *Gh\_D13G2157*) (图 1-C)。



A: 组织器官表达热图; B: 胚珠发育进程中表达热图; C: 纤维发育进程中表达热图。dpa: 开花后天数; O: 胚珠; F: 纤维。

图 1 陆地棉 TM-1 赤霉素敏感超矮突变体与野生型差异表达基因热图

Fig.1 Heat map of differentially expressed genes between gibberellin mutants and wild-type in upland cotton TM-1

### 2.3 陆地棉赤霉素氧化酶基因进化分析

根据在陆地棉 TM-1 中分析得到的 16 个可能参与赤霉素合成的氧化酶家族成员基因所预测的蛋白质氨基酸序列和拟南芥、水稻和大豆所报道的赤霉素氧化酶基因编码的蛋白质氨基酸序列,利用 MEGA X 软件进行序列比对,并通过 FastTree 软件中的最大似

然法进行进化树的构建。结果表明, *Gh\_D06G2009* 基因与 *GA3ox* 聚集在同一个分支, *Gh\_D01G0300* 和 *Gh\_D09G0746* 基因与 *GA2ox* 聚集于同一个分支,其余 13 个基因(*Gh\_A06G1341*、*Gh\_A07G1653*、*Gh\_A11G1416*、*Gh\_A13G0444*、*Gh\_A13G1787*、*Gh\_A13G2343*、*Gh\_D01G0055*、*Gh\_D07G0446*、*Gh\_D07G1858*、*Gh\_D08G2680*、*Gh\_D11G3415* 和 *Gh\_D13G2157*) 聚集在另一个分支。

*D08G2680*、*Gh \_ D11G3415*、*Gh \_ D13G0516*、*Gh \_ D13G2157*) 与 *GA20ox* 聚集于同一个分支(图 2)。

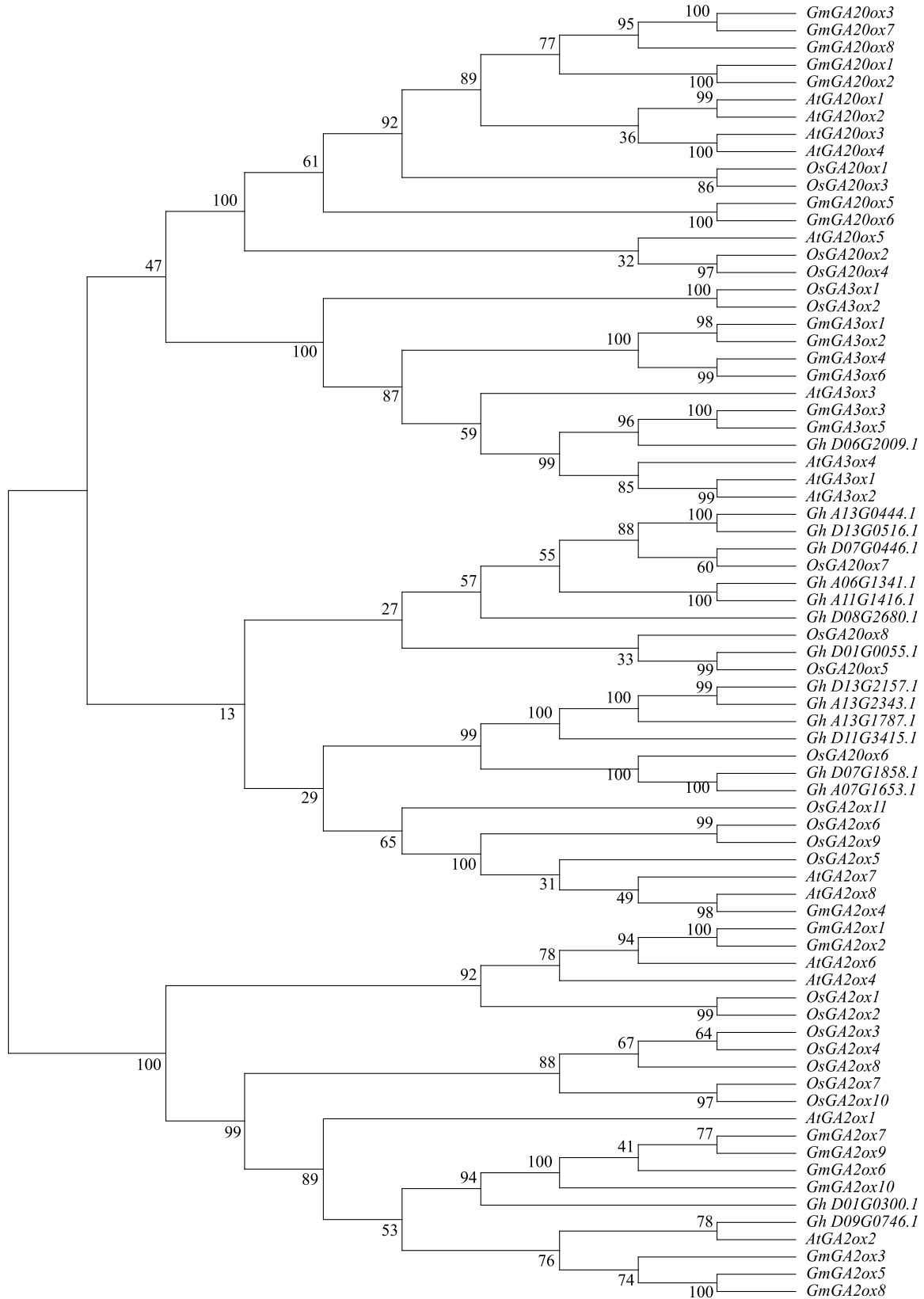


图 2 赤霉素氧化酶基因的系统发生树

Fig.2 The phylogenetic tree of gibberellin oxidase genes



利用预测的 CDS 序列,通过 DnaSP V6 软件对 4 个基因组中同源基因进行了同义替换和异义替换分析。分析结果表明,异源四倍体的陆地棉和海岛棉中 At 亚组与亚洲棉的 A 组之间的异义替换与同义替换的比值 ( $Ka/Ks$ ) 都小于 1,同样异源四倍体的 Dt 亚组与雷蒙德氏棉的 D 组之间的  $Ka/Ks$  值只有 *Gh\_D11G3415* 基因的比值大于 1,其余都小于 1 (表 3)。说明  $Ka/Ks$  值小于 1 的基因在进化过程中经

历了自然界的纯化选择,而  $Ka/Ks$  值大于 1 的 *Gh\_D11G3415* 基因在进化过程中经历了自然界的正向选择。

通过统计这 16 个基因在组织器官(根、茎和叶)中表达的相关性发现,总计有 36 对基因之间存在显著的正相关或负相关关系( $r>0.9$  或  $r<-0.9$ ),其中 16 对基因之间存在显著正相关关系,20 对基因之间存在显著负相关关系(图 3)。

表 3 棉花异源四倍体与二倍体野生种同源基因的同义替换和异义替换分析

Table 3 Synonymous and nonsynonymous substitution of homologous genes in allotetraploid and diploid wild cotton species

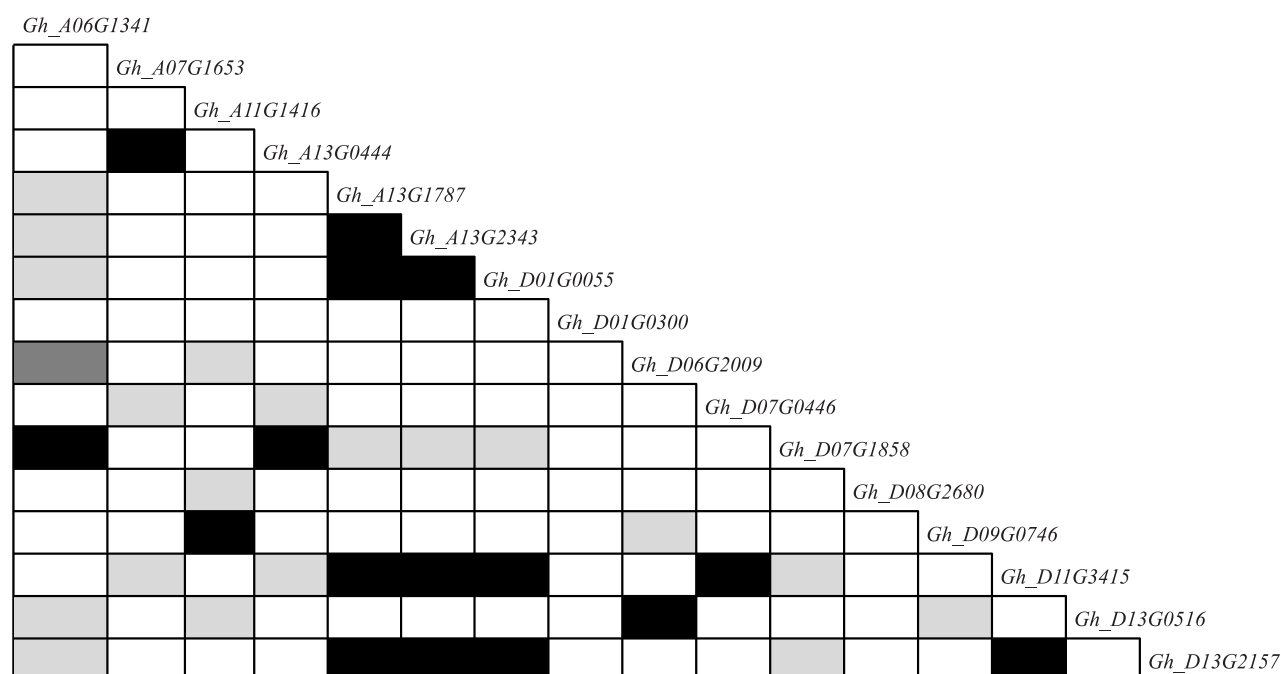
基 因				异义替换/同义替换 ( $Ka/Ks$ )			
陆地棉	海岛棉	亚洲棉	雷蒙德氏棉	陆地棉- 亚洲棉	海岛棉- 亚洲棉	陆地棉- 雷蒙德氏棉	海岛棉- 雷蒙德氏棉
<i>Gh_A06G1341</i>	<i>GB_A06G1810</i>	<i>Ga06G1864</i>	<i>Gorai.010G184900</i>				
<i>Gh_A07G1653</i>	<i>GB_A07G2108</i>	<i>Ga07G2101</i>	<i>Gorai.001G212500</i>	0.45	0.92		
<i>Gh_A11G1416</i>	<i>GB_A11G1600</i>	<i>Ga11G2406</i>	<i>Gorai.007G170100</i>	0.84	0.55		
<i>Gh_A13G0444</i>	<i>GB_A13G0522</i>	<i>Ga13G0490</i>	<i>Gorai.013G055900</i>	0.85	0.92		
<i>Gh_A13G1787</i>	<i>GB_A13G2471</i>	<i>Ga14G0305</i>	<i>Gorai.013G239100</i>	0.22	0.09		
<i>Gh_A13G2343</i>	<i>GB_A13G2478</i>	<i>Ga13G2531</i>	<i>Gorai.013G239900</i>	0.08	0.05		
<i>Gh_D01G0055</i>	<i>GB_D01G0055</i>	<i>Ga01G0061</i>	<i>Gorai.002G006700</i>			0.23	0.23
<i>Gh_D01G0300</i>	<i>GB_D01G0379</i>	<i>Ga01G0389</i>	<i>Gorai.002G038900</i>			0.28	0.19
<i>Gh_D06G2009</i>	<i>GB_D06G2276</i>	<i>Ga06G2297</i>	<i>Gorai.010G227700</i>			0.13	0.19
<i>Gh_D07G0446</i>	<i>GB_D07G0507</i>	<i>Ga07G0531</i>	<i>Gorai.001G051700</i>			0.00	0.05
<i>Gh_D07G1858</i>	<i>GB_D07G2146</i>	<i>Ga07G2101</i>	<i>Gorai.001G212500</i>			0.15	0.10
<i>Gh_D08G2680</i>	<i>GB_D08G2643</i>	<i>Ga08G2627</i>	<i>Gorai.004G258600</i>			0.12	0.23
<i>Gh_D09G0746</i>	<i>GB_D09G0928</i>	<i>Ga09G0935</i>	<i>Gorai.006G092800</i>			0.30	0.14
<i>Gh_D11G3415</i>	<i>GB_D11G2725</i>	<i>Ga11G1262</i>	<i>Gorai.007G266400</i>			1.17	1.17
<i>Gh_D13G0516</i>	<i>GB_D13G0534</i>	<i>Ga13G0490</i>	<i>Gorai.013G059000</i>			0.95	0.88
<i>Gh_D13G2157</i>	<i>GB_D13G2418</i>	<i>Ga13G2531</i>	<i>Gorai.013G239900</i>			0.28	0.15

### 3 讨 论

植物激素的研究一直是国内外植物科学研究的重点与热点<sup>[13-14]</sup>。农业生产上第一次“绿色革命”就是利用农作物本身的赤霉素合成和信号转导缺陷所产生的矮化植株来培育抗倒伏农作物新品种,从而大幅度提高了农作物的产量<sup>[15]</sup>。赤霉素氧化酶是重要的赤霉素生物合成和调控酶,该酶类是具有保守的结构域,同时基因家族成员的表达模式既有重叠,也存在区别<sup>[16]</sup>。本研究根据该酶类的保守结构域用生物信息学方法,对已经公开发表的 4 个棉

种基因组数据中该酶类家族进行了鉴定。鉴定结果表明,在这 4 个棉种的基因组数据库中存在大量该酶类家族成员(亚洲棉 219 个,雷蒙德氏棉 188 个,陆地棉 TM-1 310 个,海岛棉 H7124 428 个)。由于通过生物信息学方法鉴定出的成员较多,因此我们对这些鉴定出的成员在本研究室发现的赤霉素敏感超矮突变体与野生型转录组数据库中进行了进一步的筛选,最终在陆地棉 TM-1 中得到 16 个赤霉素氧化酶家族成员。

系统发生树能够揭示生物进化过程的顺序,有助于了解生物进化的历史,从而解决生物学中的一些问



黑色为正相关,灰色为负相关。

图3 赤霉素氧化酶基因在根、茎和叶中表达的相关性

Fig.3 Correlation of gibberellin oxidase gene expression in roots, stems and leaves

题<sup>[17-18]</sup>。因此,我们对陆地棉 TM-1 中得到的 16 个可能参与赤霉素合成的氧化酶基因与拟南芥中的相关基因利用最大似然法进行进化树的构建。结果表明,在 TM-1 中,GA3ox 类氧化酶基因有 1 个(*Gh\_D06G2009*),GA2ox 类氧化酶基因有 2 个(*Gh\_D01G0300* 和 *Gh\_D09G0746*),GA2ox 类氧化酶基因有 13 个(*Gh\_A06G1341*、*Gh\_A07G1653*、*Gh\_A11G1416*、*Gh\_A13G0444*、*Gh\_A13G1787*、*Gh\_A13G2343*、*Gh\_D01G0055*、*Gh\_D07G0446*、*Gh\_D07G1858*、*Gh\_D08G2680*、*Gh\_D11G3415*、*Gh\_D13G0516*、*Gh\_D13G2157*)。

未来,我们将对这些预测到的基因利用生物技术手段(例如病毒介导的转基因沉默技术等)进行反向遗传学验证,将这些基因敲除后通过对沉默植株的表型鉴定及赤霉素含量的测定来进一步确定参与赤霉素代谢的赤霉素氧化酶。

#### 参考文献:

- [1] MACMILLAN J. Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria[J]. J Plant Growth Regul, 2001,20(4): 387-442.
- [2] HEDDEN P, PHILLIPS A L. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes[J]. Trends Plant Sci, 2000,5

(12):523-530.

- [3] UN T P. Gibberellin metabolism, perception and signaling pathways in *Arabidopsis*[J]. Arabidopsis Book, 2008,6:103.
- [4] SCHOMBURG M F. Overexpression of a novel class of gibberellin 2-oxidases decreases gibberellin levels and creates dwarf plants[J]. Plant Cell, 2003,15(1):151-163.
- [5] PLACKETT A R G, POWERS S J, FERNANDEZ-GARCIA N, et al. Analysis of the developmental roles of the *Arabidopsis* gibberellin 20-oxidases demonstrates that GA20ox1, -2, and -3 are the dominant paralogs[J]. Plant Cell, 2012,24(3):941-960.
- [6] SONNHAMMER E L, EDDY S R, BIRNEY E, et al. Pfam: multiple sequence alignments and HMM-profiles of protein domains[J]. Nucleic Acids Res, 1998,26(1):320-322.
- [7] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Mol Biol Evol, 2018,35(6):1547-1549.
- [8] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments[J]. PLoS One, 2010,5(3):e9490.
- [9] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix[J]. Mol Biol Evol, 2009,26(7):1641-1650.
- [10] ROZAS J, FERRER-MATA A, SANCHEZ-DELBARRIO J C, et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets[J]. Mol Biol Evol, 2017,34(12):3299-3302.

- [11] 陈旭升,狄佳春,许乃银,等. 陆地棉超矮秆突变性状质量遗传规律分析[J]. 遗传, 2007, 29(4):471-474.
- [12] LIANG Z, DI J, QI G, et al. The differentially expressed genes identification in dwarf mutant of *Gossypium hirsutum* by RNA-Seq approach[J]. Agri Gene, 2017,5:37-44.
- [13] 赵 风,王小乐,房伟民,等. 外源激素和温度对切花菊侧芽萌发与内源激素含量的影响[J].江苏农业学报,2018,34(1):145-151.
- [14] 李国龙,孙亚卿,邵世勤,等.甜菜幼苗叶片渗透调节系统及部分激素对干旱胁迫的响应[J].江苏农业科学,2018,46(7):80-84.
- [15] 谈 心,马欣荣. 赤霉素生物合成途径及其相关研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008,14(4):571-577.
- [16] PHILLIPS A L, WARD D A, UKNES S, et al. Isolation and expression of three gibberellin 20-oxidase cDNA clones from *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol, 1995,108(3):1049-1057.
- [17] 郭 静,王 超,张宏彬,等. 系统发生树构建方法综述[J]. 计算机应用研究, 2013,30(3):647-655.
- [18] 李建伏,郭茂祖. 系统发生树构建技术综述[J]. 电子学报, 2006, 34(11):2047-2052.

(责任编辑:张震林)