

# 绿豆雄性不育突变体 *ms2* 的表型鉴定与基因精细定位

叶卫军, 吴泽江, 田东丰, 周斌

(安徽省农业科学院作物研究所, 合肥 230001)

**摘要:** 单产水平较低是我国绿豆产业发展的主要制约因素。杂种优势利用是提高产量的有效途径, 雄性不育材料的鉴定对杂种优势的充分利用至关重要。本研究从中绿 5 号 EMS 诱变突变体库中筛选到一个雄性不育突变体 *ms2* (*male sterile 2*)。该突变体营养生长期与野生型中绿 5 号无明显表型差异。*ms2* 花器官形态发育正常, 但雄蕊败育, 导致 *ms2* 表现滞绿。遗传分析表明, *ms2* 的不育性状由单个隐性核基因调控。基于 *ms2* 和皖科绿 3 号构建的 F<sub>2</sub> 群体, 将 *ms2* 定位在第 6 号染色体的标记 M5 和 M8 之间。该区间大小为 66.7 kb, 包含 6 个注释基因。序列分析发现, 突变体 *ms2* 中编码谷氨酰胺合成酶基因 (*Vradi06g05640*) 在第 2 和第 3 内含子有两个碱基发生转换。进一步分析发现该基因在 *ms2* 中的表达量显著低于中绿 5 号, 推测该基因为 *ms2* 的优选候选基因。本研究为探究绿豆雄性不育机理和杂种优势利用提供参考。

**关键词:** 绿豆; 雄性不育; *ms2*; 遗传分析; 基因定位

## Phenotype Identification and Fine Mapping of A Male Sterile Mutant *ms2* in Mung Bean

YE Weijun, WU Zejiang, TIAN Dongfeng, ZHOU Bin

(Crop Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, 230001)

**Abstract:** Low yield per unit is a disadvantage character of mung bean industry in China. The identification of male sterility lines is crucial for harnessing heterosis, which can substantially increase yield. In this study, we identified a male sterile mutant, *ms2* (*male sterile 2*) from the EMS mutant library of Zhonglü5 (ZL5). During the vegetative growth stage, *ms2* exhibited no significant phenotypic differences compared to the wild-type ZL5. Although the floral organs of *ms2* developed normally, the stamen abortion resulted in a stay-green phenotype of *ms2*. Genetic analysis revealed that the sterility of *ms2* is controlled by a single recessive nuclear gene. The F<sub>2</sub> population derived from the cross between *ms2* and Wankelü3 (WK3) was used as the mapping population. *MS2* was mapped within a 66.7 kb interval flanked by markers M5 and M8 on chromosome 6, containing six annotated genes. Sequence analysis of these genes revealed two base transitions in the second and third introns of the glutamine synthetase gene (*Vradi06g05640*) in *ms2*. Expression analysis indicated that the expression level of this gene in *ms2* was significantly lower than in ZL5, suggesting that *Vradi06g05640* is likely the candidate gene for *ms2*. In summary, our study provides valuable insights into the mechanism of male

收稿日期: 2024-12-12 修回日期: 2025-03-06 网络出版日期: 2025-03-18

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20241212005>

第一作者研究方向为豆类作物遗传育种与分子遗传学, E-mail: 963472965@163.com

通信作者: 周斌, 研究方向为豆类作物遗传育种, E-mail: 18756019871@139.com

基金项目: 国家食用豆产业技术体系 (CARS-08)

Foundation project: China Agriculture Research system-Food Legumes (CARS-08)

27 sterility and the utilization of heterosis in mung bean.

28 **Key words:** mung bean; male sterile; *ms2*; genetic analysis; gene mapping

29 绿豆[*Vigna radiata* (L.) Wilczek]属于豆科(Leguminosae)、蝶形花亚科(Papilionoideae)、豇豆属(*Vigna*),  
30 闭花授粉双子叶作物,是我国重要的食用豆类之一。绿豆籽粒富含优质膳食蛋白质、维生素、矿物质和多  
31 酚、黄酮等多种生理活性物质,具有营养保健功能,是传统的药食同源作物<sup>[1-3]</sup>。近年来,受种植效益波动、  
32 主产区种植结构调整及国家相关政策等因素的影响,我国绿豆种植面积先增后减,导致进口量持续增加<sup>[4]</sup>。  
33 因此,通过提高单产来增加绿豆产量已迫在眉睫。

34 杂种优势是指杂交 F<sub>1</sub> 代在一种或多种性状上优于双亲的现象,主要表现在生活力、生长势、抗逆性、  
35 产量和品质等方面。利用杂种优势可大幅度提高单产,保障粮食安全<sup>[5-6]</sup>。玉米是典型的异花授粉作物,其  
36 杂种优势明显,是首个实现杂交种大规模种植的作物<sup>[7]</sup>。此后,在水稻<sup>[8]</sup>、小麦<sup>[9]</sup>、油菜<sup>[10]</sup>、棉花<sup>[11]</sup>和谷子<sup>[12]</sup>  
37 等作物中也建立了杂交育种体系。在自花授粉作物如水稻、大豆中,利用雄性不育材料可省去繁琐的人工  
38 去雄工作,是实现杂交种规模化制种的基础。豆科作物中,大豆的雄性不育调控机理研究取得了较大进展,  
39 已鉴定出约 30 个细胞核雄性不育材料<sup>[13]</sup>。绿豆的杂种优势表现在单数荚数<sup>[14]</sup>和单株产量<sup>[15]</sup>等性状,且优势  
40 的有无和强弱与亲本的选择有关。

41 目前绿豆育性调控机理研究尚处于起步阶段,仅有几个育性相关材料被鉴定,如雄性不育突变体 *ms*<sup>[16]</sup>、  
42 *msm2015-1*<sup>[17]</sup>、*vrnp1*<sup>[18]</sup>和 *vrnp*<sup>[19]</sup>,柱头外露突变体 *sel*<sup>[20]</sup>和 *se2*<sup>[21]</sup>,翼瓣和龙骨瓣缺失突变体 *cm*<sup>[22-23]</sup>。然  
43 而绿豆雄性不育资源依然匮乏,这严重限制了绿豆杂交种的研发和产业化进程。因此,挖掘更多的雄性不  
44 育材料,扩大遗传基础,探究其分子机制,构建稳定的绿豆雄性不育系至关重要。本研究从绿豆品种中绿 5  
45 号(ZL5)化学诱变突变体库中鉴定到一个雄性不育突变体 *ms2*,对 *ms2* 进行表型分析、基因精细定位和候  
46 选基因分析,旨在为深入解析绿豆雄性不育的分子调控机理及杂种优势利用提供理论基础。

## 47 1 材料与方法

### 48 1.1 试验材料

49 绿豆雄性不育突变体 *ms2* 为中绿 5 号经甲基磺酸乙酯(EMS)诱变后,从 M<sub>2</sub> 代分离群体中筛选获得。  
50 由于突变体高度不育,利用杂合体进行传代留种。2020 年夏季以 *ms2* 为母本,正常育性的皖科绿 3 号(WK3)  
51 为父本,构建杂交组合。2021 年夏季和 2022 年夏季分别将 F<sub>1</sub> 代和 F<sub>2</sub> 代群体种植在安徽省合肥市,常规田  
52 间管理。

### 53 1.2 花粉育性检测

54 花粉活力测定采用 I<sub>2</sub>-KI 染色法:在绿豆盛花期,收集开花前一天的中绿 5 号和 *ms2* 突变体花蕾,取出  
55 花药置于载玻片上,滴加 1~2 滴 1% I<sub>2</sub>-KI 染色液,用镊子捣碎花药释放花粉粒,盖玻片封片后在光学显微

56 镜下观察。中绿 5 号和 *ms2* 各取 3 个样本，每样本观察 3 个视野，统计不少于 200 粒花粉，花粉育性用染  
57 色率表示。

### 58 1.3 遗传分析

59 在诱变  $M_2$  世代，单株收获与不育株同一株系的可育株，按单株种植成  $M_3$  代株行，组成  $M_{2:3}$  株系，并  
60 调查各单株的育性。植株育性的判定方法：开花 15 d 左右调查植株结荚情况，若植株上有发育正常的豆荚，  
61 则该植株为可育型，否则为不育型。表型纯合的  $M_{2:3}$  株系不用于遗传分析，将其余表型分离的株系组成遗  
62 传分析群体。统计该分离群体中可育株和不育株数目，采用卡方检验计算两种表型植株数分离比，确定育  
63 性遗传模式。此外，*ms2* 和 WK3 杂交构建的  $F_1$  和  $F_2$  分离群体也用于遗传分析。所有数据的统计分析均使  
64 用 Excel 和 SPSS 软件完成。

### 65 1.4 混池测序及数据分析

66 以 *ms2* 和 WK3 杂交构建的  $F_2$  分离群体作为遗传定位群体，包含 2250 个单株。基因初步定位采用基于  
67 二代测序 (Next generation sequencing) 的混合分组测序分析法 (BSA-Seq, bulked segregate analysis  
68 sequencing)。从  $F_2$  群体中选取不育和可育单株各 30 株，用于构建不育型 (*ms2*-pool) 和可育型 (wild-pool)  
69 两个子代 DNA 混池。利用 DNA 提取试剂盒 (天根生化科技 (北京) 有限公司) 完成基因组 DNA 提取，  
70 DNA 质检合格后，各单株 DNA 等量混合创建两个子代混池。测序文库的插入片段大小为 400 bp，基于  
71 Illumina Nova Seq 平台对 *ms2*、WK3 和子代混池进行双末端 (Paired-end) 测序。原始测序数据去除 3' 接头、  
72 质量较低和长度过短的序列，将过滤后的高质量测序数据与绿豆参考基因组进行比对<sup>[24]</sup>。统计分析各文库  
73 的测序数据量、测序深度、GC 含量等信息，评估测序数据质量。将 *ms2*-pool、wild-pool 和双亲的测序结果  
74 一起检测变异位点，在全基因组水平上发掘 SNP 和 InDel 位点。SNP 位点的筛选标准：保留两个亲本都纯  
75 合且不同的 SNP 位点，同时去除两个子代混池纯合无差异和测序深度低于 5 的 SNP 位点。以 WK3 的序列  
76 为背景，计算混池间的基因型频率差异 ( $\Delta$ SNP-index)，用于关联分析<sup>[25-26]</sup>， $\Delta$ SNP-index=SNP index (*ms2*-pool)  
77 - SNP index (wild-pool)。理论上， $\Delta$ SNP-index 值越接近于 1，SNP 位点与性状关联度越强，在全基因组上水  
78 平上筛选 *ms* 基因的候选区间并进行作图展现，窗口大小设置为 500 kb，步长为 100 kb。以绿豆参考基因组  
79 的物理位置为横坐标，展示每个 SNP 位点的 SNP-index 和  $\Delta$ SNP-index，选取 95% 和 99% 置信水平作为筛选  
80 阈值。

### 81 1.5 *ms2* 精细定位与候选基因分析

82 根据 BSA-seq 的定位结果，在不育性状关联的候选区间查找 *ms2* 和 WK3 的 DNA 序列差异，根据差异  
83 位点的两端序列开发分子标记。利用获得的多态性分子标记验证 BSA-seq 的初定位结果，并用图位克隆的  
84 方法完成基因精细定位，定位所用引物如表 1 所示。PCR 反应体系共计 10  $\mu$ L：DNA 模版 (浓度为 50 ng/ $\mu$ L)  
85 1  $\mu$ L，2 $\times$ T5 Super PCR Mix DNA 聚合酶预混液 (TSINGKE) 5  $\mu$ L，正向和反向引物 (浓度均为 10  $\mu$ mol/L)

86 各 0.5  $\mu$ L, 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 3  $\mu$ L, PCR 反应体系用石蜡油封盖。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性  
87 30 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 循环 35 次; 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 5 min; 扩增反应完成后 4 $^{\circ}$ C 保存。InDel  
88 标记扩增产物中加入 2  $\mu$ L 6 $\times$ Loading Buffer, 于 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳, 电泳完成后硝酸银  
89 染色鉴定子代单株的基因型。SNP 标记扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳分离, 回收、纯化目的片段后, 使用  
90 一代测序的方法检测基因型。基因精细定位完成后, 根据定位区间的物理位置在绿豆基因组信息参考网站  
91 (<https://legacy.legumeinfo.org/genomes/jbrowse/?data=Vr1.0>) 查询, 获得候选基因注释。

92 表 1 精细定位 MS2 所用分子标记

93 Table 1 Molecular markers used for the fine mapping of MS2

标记名称	正向引物	反向引物
Marker name	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
M1	CCTTAGGTAGAATGGTTTCAGGACT	ACTCCTAAGTCTTTCTCGTACTAT
M2	AAGATGCACCTCCATGAAACCAA	CAAGTTTGAGGTACAGCGTGGTC
M3	ACGGGACTTCATTGATAGTTTTCT	ACACGTTTCATGATAACATTTGGG
M4	GTTGAGAACCATGATTTAGTAGGCA	GTTCCAATGTTCACTCCAATAAATG
M5	ACCTCTGCCACCTTCTTCAACGA	ACAGATCAACACGAGGCTTTCCA
M6	ATTAAGCAATGCGTTTGGCTATCAC	GTGTAACAGAGATGGGGTTTGATGG
M7	CAATGTTGCTTCCAATGTGCCTTTC	AGCCTTTGATAACGGAGGGAGAA
M8	GGAATCGGGCCTAAAGTCTCAG	TTGAGGGAGAAACCAAGGAATGA
M9	TTTTACCATTGGGATAGATGCTTCG	TTGGTGAGTTCAGTTCAGAATGTC
M10	ACCAGCCACGGGATAACAAG	CGATTGGGCCTCAGACCTTT
M11	GCCAAAGCCGGGAATATCCT	TCCCTTCGGATTCTGTCCCT
M12	TTCCACAAACAGGTGCTACCGACA	GGGACAAAGAAGATATCAGAAAAGT

94 表中标记 M1、M2、M10、M11 和 M12 为 InDel 标记, 其余标记为 SNP 标记

95 M1, M2, M10, M11 and M12 are InDel markers, and the others are SNP markers in this table

## 96 1.6 实时荧光定量 PCR

97 取中绿 5 号和 *ms2* 开花前 1 d 的花蕾用于 qRT-PCR (Quantitative real time -PCR) 实验, 分析基因的表达  
98 量。每个材料取 3 次生物学重复, 每个重复包含 10 朵花蕾, 液氮低温速冻后, 放置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。  
99 RNA 提取使用试剂盒 OmniPlant RNA Kit(康为世纪生物科技股份有限公司), 反转录使用试剂盒 EasyScript  
100 One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (北京全式金生物技术股份有限公司), 具体操作方  
101 法参考试剂盒说明书。荧光定量 PCR 试剂盒为 TransStart Green qPCR SuperMix (北京全式金生物技术股份  
102 有限公司), 检测仪器为 LightCycler96。反应体系 (20  $\mu$ L) 包括: 模板 cDNA 2  $\mu$ L, 2 $\times$ Top Green EX-Taq Mix  
103 10  $\mu$ L, 正向和反向引物 (10  $\mu$ mol/L) 各 0.5  $\mu$ L, 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L。qRT-PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;  
104 94 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 61 $^{\circ}$ C 退火 35 s, 40 次循环。PCR 反应完成后分析溶解曲线, 利用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算基因相对表达  
105 量<sup>[27]</sup>。qRT-PCR 引物信息见表 2, *Vrtubulin* (*LOC106761971*) 为内参基因。

106 表 2 qRT-PCR 引物信息

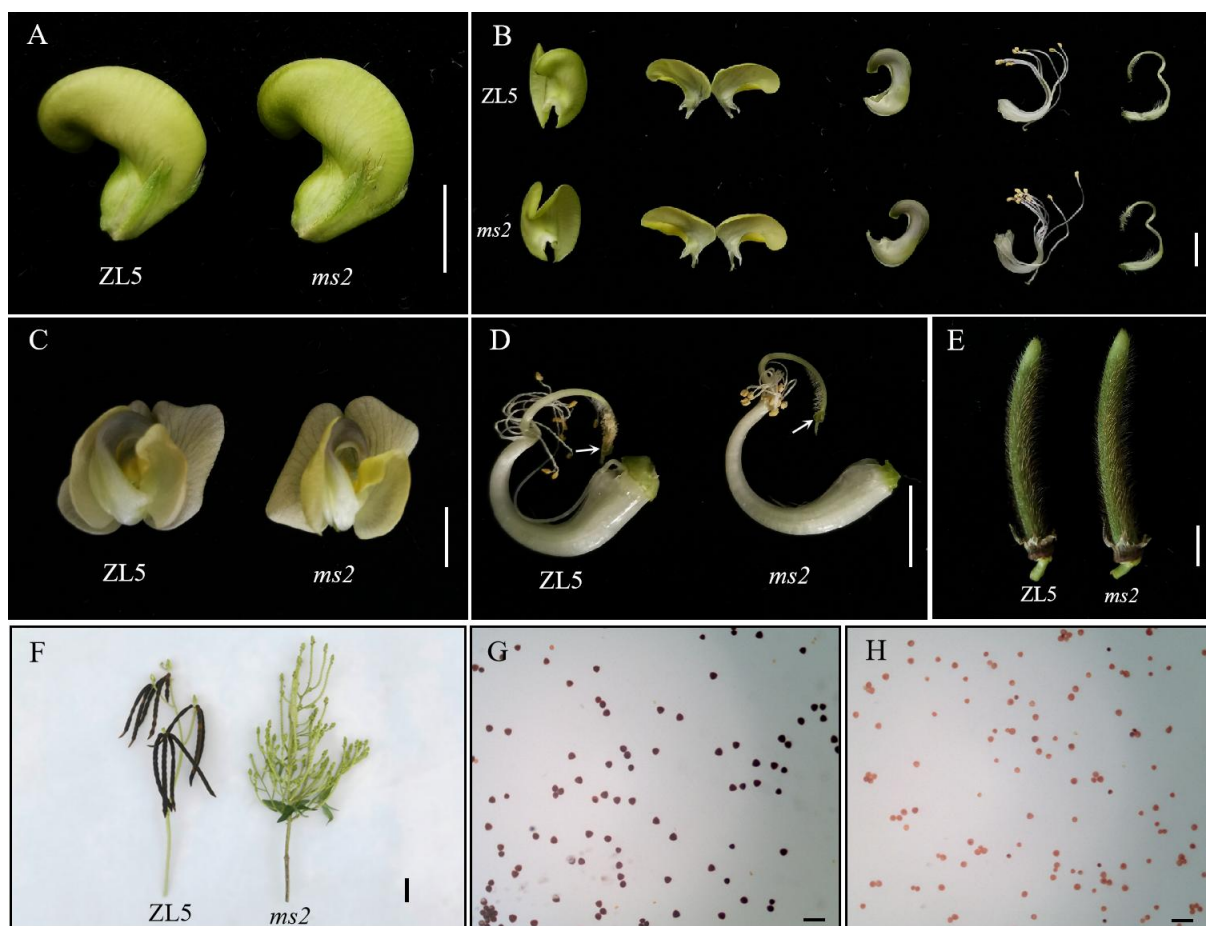
107 Table 2 Primer information used for qRT-PCR in this study

基因名称	正向引物	反向引物
Gene name	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<i>Vradi06g05610</i>	GGTGCAGATTGAGGATGGAA	TCTCTCAGCAACATGCCAAAC
<i>Vradi06g05620</i>	CCATACCAGTCGAACCTGGA	CCCACCACCGTGAAGTTGTT
<i>Vradi06g05630</i>	CAATTGGAGTTCTGGCCTGA	GACCAAGTTTCCGAGCCATT
<i>Vradi06g05640</i>	CTGTTGGATGGCCTCTTGGT	CCCGAAAGCCTTGTTAGCAC
<i>Vradi06g05650</i>	ATGGGGGAAGCAGACATTGA	GCGCATTGTCCTGAGATTTC
<i>Vradi06g05660</i>	TCGGACGGGACATTGTGAAC	ACCGGGCATCACTTCTCCAT
<i>Vr tubulin</i>	AGTTCACTGCTATGTACAGGCGCA	CTGCAGTTGCATCTTGGTACTGCT

## 113 2 结果与分析

### 114 2.1 *ms2* 表型分析

115 营养生长期 *ms2* 的株型、叶型等性状与中绿 5 号无显著差异。盛花期 *ms2* 花器官外观形态发育正常（图  
116 1A-C）。解剖刚盛开的花朵发现，中绿 5 号柱头上附着有大量鲜黄色花粉，而突变体 *ms2* 的柱头上几乎没  
117 有花粉附着（图 1D），表明突变体的花药不能正常散粉。花荚期，中绿 5 号植株上的豆荚发育正常，籽粒  
118 逐渐膨大饱满。而 *ms2* 植株上仅有少量的嫩荚（图 1E），且在后期自然脱落，仅有极少数在生育末期长出  
119 的嫩荚可发育至成熟。在成熟期，野生型中绿 5 号叶片正常衰老脱落，植株上可见大量成熟黑荚。而 *ms2*  
120 依然生长旺盛、叶片滞绿不凋敝，表现出典型的不育系特征。由于 *ms2* 花朵不能正常受精发育成荚，突变  
121 体持续开花，花梗数目增多，花梗长度较野生型长（图 1F）。I<sub>2</sub>-KI 染色发现，中绿 5 号花粉形状规则，可  
122 被正常染色，96.6%花粉显示可育。*ms2* 花粉染色异常，为浅黄色，花粉败育率高达 96.4%。将 *ms2* 植株上  
123 收获的少量成熟荚播种后发现多数植株表现可育，且幼茎色、株高、开花期等性状与 *ms2* 不一致，表明 *ms2*  
124 植株上收获的成熟荚为田间自然杂交的结果。



125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

A: 花蕾; B: 花蕾解剖图, 从左至右依次为旗瓣、翼瓣、龙骨瓣、雄蕊和雌蕊; C: 盛开的花朵; D: 盛开花朵中的雄蕊和雌蕊, 白色箭头指示柱头部位; E: 嫩荚; F: 花梗和成熟的豆荚; G: 中绿 5 号成熟花粉 I<sub>2</sub>-KI 染色; H: *ms2* 成熟花粉 I<sub>2</sub>-KI 染色。A-F 图中标尺为 0.5 cm; G 和 H 图中的标尺为 100 μm

A: flower buds; B: anatomy of the flower buds, from left to right in order: standard petal, wing petal, keel petal, stamen and pistil; C: opening flowers; D: stamen and pistil in opening flowers, white arrows indicate stigma; E: immature pods; F: flower stalks and mature pods; G: I<sub>2</sub>-KI staining of ZL5 mature pollen; H: I<sub>2</sub>-KI staining of *ms2* mature pollen. In figure A-F, bars=0.5 cm; in figure G and H, bars=100 μm

图 1 绿豆雄性不育突变体 *ms2* 表型分析

Fig. 1 Phenotypic analysis of the mung bean male sterile mutant *ms2*

## 2.2 *ms2* 的遗传分析

在诱变 M<sub>2</sub> 世代, *ms2* 所在的育性分离株行共有 5 株表现不育, 17 株可育。将可育株按单株种植成株行, 衍生的 17 个 M<sub>2:3</sub> 株系中有 11 个株系表现育性分离, 其中 180 个单株可正常结荚, 51 个单株表现不育。卡方检验结果表明可育株数与不育株数符合 3:1 的分离比 (表 3), 表明突变体 *ms2* 的不育性状由一对隐性核基因控制。*ms2* 和 WK3 杂交获得的 F<sub>1</sub> 育性表现正常, 在 F<sub>2</sub> 群体中调查了 152 个植株的表型, 其中可育株 118 株, 不育株 34 株。经卡方分析, 可育株与不育株比例也符合 3:1 的理论分离比 ( $\chi^2=0.56 < \chi^2_{3:1}=3.84$ )

140 (表 3)，验证了用  $M_{2:3}$  株系检测的结果。

141 表 3 绿豆不育突变体  $ms2$  的遗传分析

142 Table 3 Genetic analysis of mung bean male sterile mutant  $ms2$

群体	总株数	可育植株数	不育植株数	期望比	$\chi^2_{3:1}$ 值	$P$ 值
Population	Total number	Number of fertile plants	Number of sterile plants	Expected ratio	$\chi^2_{3:1}$ value	$P$ value
$M_{2:3}$	241	180	51	3:1	1.05	0.31
$ms2/WK3$	152	118	34	3:1	0.56	0.45

### 143 2.3 测序质量评估

144 Wild-pool、 $ms2$ -pool 与亲本均进行基因组重测序，测序数据统计结果如表 4 所示。原始测序数据处理  
145 后最终得到 78.34 Gb 高质量的 clean base。ZL5 和 WK3 的 clean reads 分别为 161048864 和 106731472；  
146 wild-pool 和  $ms2$ -pool 的 clean reads 分别为 158572486 和 104017872。各样品比对至参考基因组上的 reads 比  
147 例均超过 99%，GC 含量为 34.93~35.77。各样品  $Q_{20} \geq 96.93\%$ ， $Q_{30} \geq 91.57\%$ 。表明测序数据质量较高，适  
148 合进一步的分析。

149 表 4 测序数据统计分析

150 Table 4 Statistical analysis of the sequence data

样品	高质量序列数	高质量序列碱基数 (Gb)	比对序列数	平均测序深度	GC 含量 (%)	Q20(%)	Q30(%)
Sample	Clean reads	Clean base	Mapped-sequence number	Ave-depth	GC content		
$ms2$ -pool	161,048,864	23.79	160,007,426	41.2	34.94	97.25	92.24
WK3	106,731,472	15.78	105,789,275	28.02	35.77	97.41	92.67
Wild-pool	158,572,486	23.40	157,301,357	41.2	34.93	96.93	91.57
$ms2$	104,017,872	15.37	103,441,258	29.05	35.22	97.7	92.10

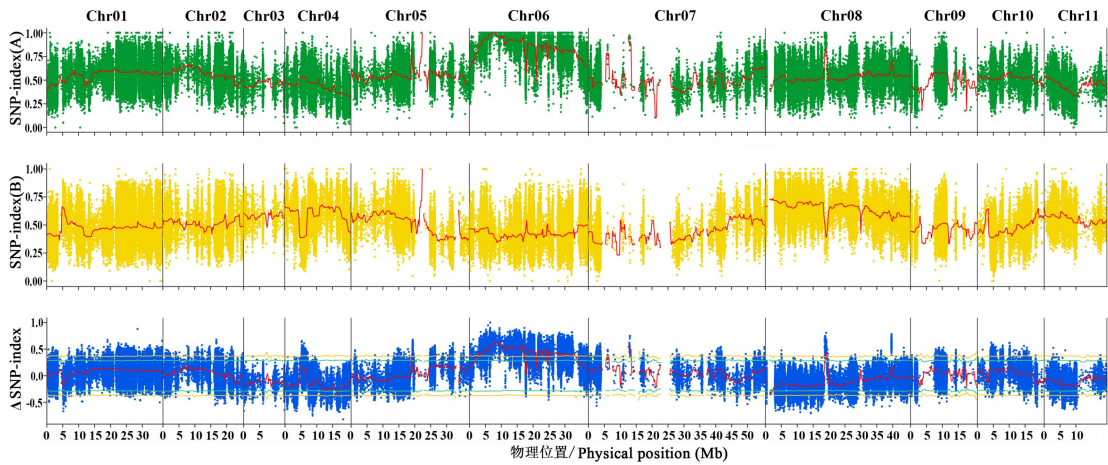
151 Wild-pool: 野生型子代混池;  $ms2$ -pool: 雄性不育表型子代混池

152 Wild-pool: mixing pool consisted of the wild-type offspring;  $ms2$ -pool: mixing pool consisted of male sterile offspring

### 153 2.4 基因精细定位

154 将 Wild-pool、 $ms2$ -pool 及其双亲的测序数据用于变异位点检测，共鉴定出 212513 个 InDel 和 939972  
155 个 SNP 位点。经筛选后，获得 546136 个 SNP 位点用于 BSA-seq 分析。 $\Delta$ SNP-index 分析结果显示，第 6 染  
156 色体 5.0 Mb 至 17.5 Mb 的区间与雄性不育表型相关性最强（图 2）。根据 BSA-seq 的定位结果，利用 WK3  
157 和  $ms2$  在定位区间内的 DNA 序列差异开发了 15 对多态性分子标记。利用定位区间两侧的 InDel 标记 M1  
158 和 M12 对  $F_2$  群体中 21 个不育表型的单株进行连锁分析。结果显示，M1（图 3）和 M12 与  $ms2$  均表现为连  
159 锁关系，并根据标记在染色体上的位置和交换单株的发生情况，将  $ms2$  定位在 M1 和 M12 之间。然后用开  
160 发的 InDel 和 SNP 标记（表 1）对 489 个不育表型的  $F_2$  单株进行基因型分析。根据定位标记的位置和交换  
161 单株数量变化情况，最终将  $ms2$  定位在标记 M5 和 M8 之间 66.7kb 的区间内（图 4）。通过查询绿豆基因组

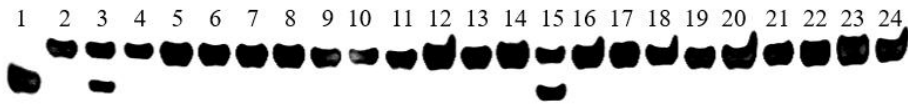
162 数据库网站 (<https://legacy.legumeinfo.org/genomes/jbrowse/?data=Vr1.0>), 发现定位区间内共有 6 个编码基  
 163 因 (图 4)。



164  
 165 SNP-index (A) 和 SNP-index (B) 分别表示 SNP 位点在 *ms2*-pool 和 Wild-pool 中的 SNP-index 值; 横坐标为染色体物理位置, 纵坐标为 SNP-index 或  
 166  $\Delta$ SNP-index 值; 蓝线和橙线代表 95%和 99%置信水平阈值线  
 167 SNP-index (A) and SNP-index (B) represent SNP-index value of SNP site in *ms2*-pool and Wild-pool, respectively; abscissa is the chromosome physical position,  
 168 and ordinate is the SNP-index or  $\Delta$ SNP-index value; blue and orange lines represent thresholds of 95% and 99% confidence levels, respectively

图 2 SNP-index 和  $\Delta$ SNP-index 分析结果

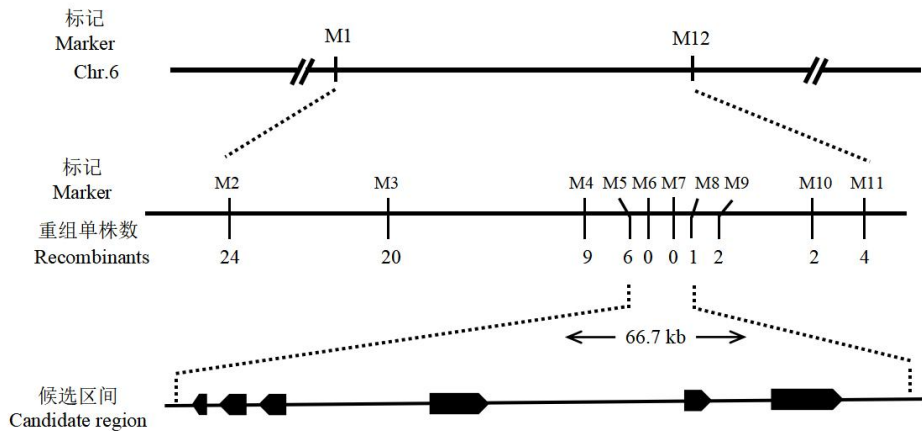
Fig. 2 Analysis result of SNP-index and  $\Delta$ SNP-index



171  
 172 1: 皖科绿 3 号; 2: *ms2*; 3: F<sub>1</sub>; 4-24: F<sub>2</sub> 群体中不育表型的单株; 15 为单交换单株  
 173 1: WK3; 2: *ms2*; 3: F<sub>1</sub>; 4-24: F<sub>2</sub> individuals with male sterile phenotype; 15 was the single exchange plant

图 3 标记 M1 对 BSA-seq 的定位结果验证

Fig. 3 Verification for the BSA-seq mapping result with marker M1



176  
 177 图 4 *ms2* 的精细定位

Fig. 4 Fine mapping for *ms2*

178



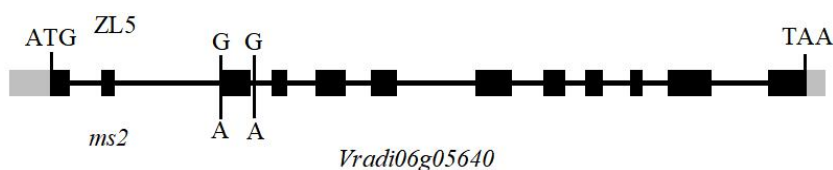
179 2.5 候选基因分析

180 定位区间内基因功能注释如表 5 所示。基因测序结果表明，只有编码谷氨酰胺合成酶的基因  
 181 *Vradi06g05640* 在 *ms2* 和中绿 5 号间存在两个碱基的变异，分别位于第 2 和第 3 内含子上，均是 G→A 突变  
 182 （图 5）。谷氨酰胺合成酶对花粉的正常发育至关重要<sup>[28-29]</sup>。qRT-PCR 分析发现，*Vradi06g05640* 和  
 183 *Vradi06g05650* 的表达量在 *ms2* 中下调，且与中绿 5 号的差异达极显著水平，其余基因的表达量在 *ms2* 和中  
 184 绿 5 号间差异不显著（图 6）。根据基因功能预测、序列变异和表达量分析结果，将 *Vradi06g05640* 作为 *ms2*  
 185 的优选候选基因。

186 表 5 定位区间内基因功能注释

187 Table 5 Function description of genes in the mapping interval

188 编号	基因符号	基因功能描述
189 No.	Gene symbol	Gene function description
190 1	<i>Vradi06g05610</i>	15.7 kDa 热休克蛋白，过氧化物酶体 15.7 kDa heat shock protein, peroxisomal
191 2	<i>Vradi06g05620</i>	类富含半胱氨酸重复分泌蛋白 60 Cysteine-rich repeat secretory protein 60-like
192 3	<i>Vradi06g05630</i>	线粒体样 Nudix 水解酶 18 Nudix hydrolase 18, mitochondrial-like
193 4	<i>Vradi06g05640</i>	谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase
194 5	<i>Vradi06g05650</i>	ADP-核糖基化因子 GTP 酶激活蛋白 AGD12 ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein AGD12
195 6	<i>Vradi06g05660</i>	谷氨酰胺合成酶胞质同工酶 2 Glutamine synthetase cytosolic isozyme 2



199 黑色方框代表外显子，黑色线条代表内含子，灰色方框代表 5' UTR 和 3' UTR

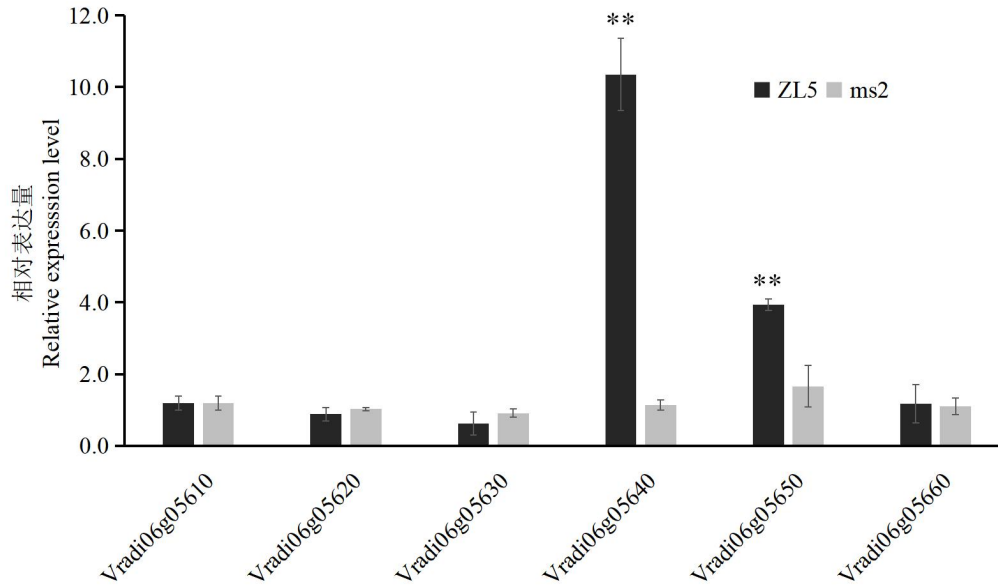
200 Black boxes represent exons, black lines represent introns, grey boxes represent 5' UTR and 3' UTR

201 图 5 候选基因 *Vradi06g05640* 的结构图和变异位点

202 Fig. 5 Gene structure and muntation site of the candidate gene *Vradi06g05640*

203

204



\*\*表示 *ms2* 和 ZL5 间有极显著差异 ( $P < 0.01$ )

\*\* means significant difference ( $P < 0.01$ ) between *ms2* and ZL5

图 6 候选区间内基因相对表达量分析

Fig. 6 Relative expression level analysis for genes in the candidate region

### 3 讨论

植物花药和花粉的发育涉及多个发育过程，受到多个基因和代谢通路的严格调控。育性突变体材料是珍贵的遗传资源，常用于遗传育种和功能基因挖掘<sup>[30]</sup>。绿豆 *ms* 突变体的花粉高度不育，花粉粒呈现不规则圆形，表面凹陷，未见明显的萌发孔<sup>[16]</sup>。利用多组学数据证明 *ms* 不育表型由核不育相关基因 *VrCyCA1* 控制<sup>[16]</sup>。雄性不育材料 *msm2015-1* 花药开裂异常，花粉几乎无活力，开花时柱头上无花粉附着，成熟的花粉粒中未检测到明显的细胞核。四分体时期，*msm2015-1* 花粉母细胞减数分裂过程出现异常，导致花粉败育，并且花药无法正常开裂散粉<sup>[17]</sup>。*vrnp1* 和 *vrnp* 都属于无花粉型雄性不育，且 *vrnp* 被定位在 LG06 连锁群上，推测定位区间内基因 *Vrmyb80* 序列和表达水平的变化影响了蛋白功能，从而产生无花粉不育表型<sup>[18-19]</sup>。目前，绿豆雄性不育研究虽有进展，但相对于大宗作物如水稻、玉米、小麦和大豆等依然滞后严重，急需更多的研究材料。本团队利用 EMS (1.0%, 10 h) 诱变中绿 5 号，与前期用 EMS 诱变皖科绿 3 号<sup>[31]</sup>的结果类似，获得多个株型、生育期、育性和花器官变异的突变体材料，为绿豆遗传学和基因组学研究提供科研材料。

开花期，*ms2* 的花药不能正常散粉， $I_2$ -KI 染色表明花粉高度败育，这些表型与 *msm2015-1* 类似，表明 *ms2* 可能与 *msm2015-1* 为同一类型的突变体。后续研究可利用扫描电镜观察花粉粒的形态结构，并对花粉发育早期细胞如花粉母细胞、四分体时期细胞和小孢子等进行染色观察，明确 *ms2* 花粉败育的原因。*ms2*

225 的座荚率极低，植株上前期生长的嫩荚基本在一周之内自然脱落，仅有少数在生育末期长出的嫩荚可发育  
226 至成熟。将 *ms2* 植株上收获的种子种植后，苗期可见部分植株幼茎色改变（*ms2* 幼茎色为绿色）。仅有个  
227 别植株在花荚期表现为不育表型，多数植株可正常开花结荚。部分植株长势旺盛，植株高大，分枝增多，  
228 单株荚数也较多，表现出明显的杂种优势的现象。因此，推测 *ms2* 在后期结的成熟荚多数不是自花授粉的  
229 结果，而是田间自然杂交导致的结荚。

230 豆科作物杂种优势明显，由于受到花器官结构和授粉方式等因素的影响，制种难度较大，限制了杂交  
231 种的推广种植。木豆是目前世界上唯一实现商业化杂交制种的豆科作物，木豆杂交种 ICPH2671 增产高达  
232 47%<sup>[32]</sup>。我国在大豆雄性不育种质利用方面处于国际领先水平，选育出的世界首个大豆杂交种“杂交豆 1  
233 号”，较对照品种可增产 20%以上<sup>[33]</sup>。至 2023 年底，利用“三系法”已育成大豆杂交种 45 个<sup>[34]</sup>。绿豆的  
234 天然异交率较低，约为 1.68%<sup>[35]</sup>，是杂交种制种的一个限制因素。Sorajjapinun 等<sup>[22]</sup>利用 $\gamma$ 射线诱变绿豆，鉴  
235 定一个缺失翼瓣和龙骨瓣的花开张突变体 *cha*，*cha* 的柱头和花药外露，可将异交率提高到 9.6%。Chen 等<sup>[23]</sup>  
236 将龙骨瓣缺失突变体 *cm*（与 *cha* 为同一突变）的突变基因定位在第 6 号染色体上，发现一个编码 YUCCA  
237 家族蛋白的候选基因与花器官发育异常有关。*ms2* 突变体高度不育，且育性稳定，可与本团队鉴定的柱头外  
238 露材料或 *cm*、*se1*、*se2* 等柱头外露突变体杂交构建双突，从而提高异交率，为绿豆杂交制种提供了优选方  
239 案。

240 基于二代测序的 BSA-seq 技术已被广泛应用于重要农艺性状调控基因的定位和克隆。 $\Delta$ SNP-index 关联  
241 分析法以高密度的 SNP 位点为基础，可高效、快速的发掘定位区间，避免了耗时、费力的 PCR 反应和凝胶  
242 电泳工作。BSA-seq 分析将突变位点定位在第 6 染色体上，利用图位克隆的方法最终将 *ms2* 定位在 M5 和  
243 M8 之间 66.7kb 的区间内。基因测序结果表明，编码谷氨酰胺合成酶的基因 *Vradi06g05640* 在 *ms2* 中存在两  
244 个碱基的变异，均位于内含子上。内含子是断裂基因上的非编码序列，可被转录到前体 RNA 中，在 mRNA  
245 加工过程中被剪切掉。内含子变异可能会引起剪接方式的变化，或影响基因的表达量。水稻中，*OSMADSI*  
246 第 7 内含子上的碱基变异改变剪接位点，产生截短的蛋白，增加粒厚<sup>[36]</sup>。苹果中，激酶 *MMK2(GS07G0097300)*  
247 第 4 内含子可转录为 non-coding RNA，正调控 *MMK2* 基因的表达，从而加深果皮颜色。该内含子上 209 bp  
248 （LTR/ Gypsy TE）的插入，降低了对基因表达的促进作用，影响果皮着色<sup>[37]</sup>。qRT-PCR 分析发现，  
249 *Vradi06g05640* 的表达量在 *ms2* 中显著下降，推测是由于内含子碱基变异导致的。谷氨酰胺合成酶是高等植  
250 物氨基酸代谢途径中的关键酶，催化谷氨酸合成谷氨酰胺。在烟草中，谷氨酰胺合成酶失活可造成雄性不  
251 育，通过喷施谷氨酰胺可恢复育性，表明谷氨酰胺对植物花粉正常发育至关重要<sup>[28-29]</sup>。因此，推测  
252 *Vradi06g05640* 表达量的降低影响了 *ms2* 中氨基酸的代谢，导致谷氨酰胺含量降低，花粉发育受阻，进而影  
253 响育性。在后续的研究中，需对 *ms2* 中谷氨酰胺含量进行测定。若谷氨酰胺含量较低，可通过喷施谷氨酰  
254 胺的方法观察育性恢复情况，为 *ms2* 留种和进一步的利用提供思路。

255 转录组学可从整体水平上研究细胞中基因转录情况，从而揭示基因转录调控规律以及代谢过程分子机  
256 理，常用于不同研究材料或不同处理条件下差异基因挖掘和代谢通路分析<sup>[38-39]</sup>。转录组分析发现 *vrnp1* 突变  
257 体和野生型的差异基因显著富集在氨基酸代谢、脂质代谢、糖代谢、类黄酮生物合成等代谢途径<sup>[18]</sup>。Liu 等  
258 <sup>[16]</sup>也发现在 *ms* 突变体中，氨基酸合成、脂质代谢和类黄酮生物合成途径发生改变。因此，下一步将对 *ms2*  
259 进行转录组分析，深入解析育性遗传调控网络，更全面揭示育性调控机制。上述结果为绿豆雄性不育相关  
260 基因的功能研究和杂种优势利用奠定了基础。

261

262

## 参考文献

263

[1] Hou D, Yousaf L, Xue Y, Hu J, Wu J, Hu X, Feng N, Shen Q. Mung bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive polyphenols, polysaccharides, peptides, and health benefits. *Nutrients*, 2019, 11(6): 1238

264

265

[2] 周素梅, 李若凝, 唐健, 侯殿志, 芦晶. 绿豆营养功能特性及其在植物基食品开发中的应用. *粮油食品科技*, 2022, 30(2): 16-23, 12

266

Zhou S M, Li R N, Tang J, Hou D Z, Lu J. Nutritional components and health functions of mung bean and its application in the development of plant-based food. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2022, 30(2): 16-23, 12

267

268

[3] 陈红霖, 胡亮亮, 杨勇, 郝曦煜, 李姝彤, 王素华, 王丽侠, 程须珍. 481 份国内外绿豆种质农艺性状及豆象抗性鉴定评价及遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2020, 21(3): 549-559

269

270

Chen H L, Hu L L, Yang Y, Hao X Y, Li S T, Wang S H, Wang L X, Cheng X Z. Evaluation and genetic diversity analysis of agronomic traits and bruchid resistance using 481 worldwide mungbean germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(3): 549-559

271

272

[4] 田静, 程须珍, 范保杰, 王丽侠, 刘建军, 刘长友, 王素华, 曹志敏, 陈红霖, 王彦, 王坤. 我国绿豆品种现状及发展趋势. *作物杂志*, 2021, 6: 15-21

273

274

Tian J, Cheng X J, Fan B J, Wang L X, Liu J J, Liu C Y, Wang S H, Cao Z M, Chen H L, Wang Y, Wang S. Current situation and development trend of mungbean varieties in China. *Crops*, 2021, 6: 15-21

275

276

[5] Tester M, Langridge P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*, 2010, 327(5967): 818-822

277

[6] Kim Y J, Zhang D. Molecular control of male fertility for crop hybrid breeding. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(1): 53-65

278

[7] Li G, Dong Y, Zhao Y, Tian X, Würschum T, Xue J, Chen S, Reif J, Xu S, Liu W. Genome-wide prediction in a hybrid maize population adapted to Northwest China. *The Crop Journal*, 2020, 8(5): 830-842

279

280

[8] Luo D, Xu H, Liu Z, Guo J, Li H, Chen L, Fang C, Zhang Q, Bai M, Yao N, Wu H, Wu H, Ji C, Zheng H, Chen Y, Ye S, Li X, Zhao X, Li R, Liu Y G. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice. *Nature Genetics*, 2013, 45(5): 573-577

281

282

[9] Whitford R, Fleury D, Reif J C, Garcia M, Okada T, Korzun V, Langridge P. Hybrid breeding in wheat: technologies to improve hybrid wheat seed production. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(18): 5411-5428

283

284

[10] Xing N, Fan C, Zhou Y. Parental selection of hybrid breeding based on maternal and paternal inheritance of traits in rapeseed (*Brassica napus* L.). *PLoS ONE*, 2014, 9(7): e103165

285

286

[11] Zhang T, Xuan L, Mao Y, Hu Y. Cotton heterosis and hybrid cultivar development. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(4): 89

287

[12] 史关燕, 杨成元, 麻慧芳, 李会霞, 王宏丽. 谷子两系杂交组合的杂种优势及亲本配合力分析. *核农学报*, 2019, 33(3): 446-454

288

Shi G Y, Yang C Y, Ma H F, Li H X, Wang H L. Analysis of heterosis and the parental combining ability on two-line hybrid foxtail millet. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(3): 446-454

289

290

[13] 朱玉雪, 黄圆圆, 徐研, 付爱根, 徐敏, 余君萍. 三个大豆 *ms3* 雄性不育突变体的等位突变分析. *植物遗传资源学报*, 2024, 25(6): 967-977

291

Zhu Y X, Huang Y Y, Xu Y, Fu A G, Xu M, Yu J P. Allelic mutation analysis of three male sterile *ms3* mutants in soybean. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(6): 967-977

292

293

[14] Chen X, Sorajjapinun W, Reiwthongchum S, Srinives P. Identification of parental mungbean lines for production of hybrid varieties. *CMU Journal*, 2003, 2(2): 97-106

294

295

[15] Kohakade S N, Kute N S, Karvar S H, Jadhav G N, Shinde G C. Heterosis studies for yield and yield components in greengram [*Vigna radiata* (L.)

- 296 Wilczek]. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2021, 10(1): 529-533
- 297 [16] Liu J, Lin Y, Chen J, Xue C, Wu R, Yan Q, Chen X, Yuan X. Identification and clarification of *VrCYCA1*: A key genic male sterility-related gene in  
298 mungbean by multi-omics analysis. *Agriculture*, 2022, 12: 686
- 299 [17] 吴然然, 林云, 陈景斌, 薛晨晨, 袁星星, 闫强, 高营, 李灵慧, 张勤雪, 陈新. 绿豆雄性不育突变体 *msm2015-1* 的遗传学与细胞学分析. *作物学报*,  
300 2021, 47(5): 860-868
- 301 Wu R R, Lin Y, Chen J B, Xue C C, Yuan X X, Yan Q, Gao Y, Li L H, Zhang Q X, Chen X. Genetic and cytological analysis of male sterile mutant  
302 *msm2015-1* in mungbean. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(5): 860-868
- 303 [18] 宋梦媛. 绿豆杂种优势及雄性不育突变体转录组分析. 长春:吉林农业大学, 2024
- 304 Song M Y. Heterosis analysis of mungbean and transcriptome analysis of a male sterile mutant. Changchun: Jilin Agricultural University, 2024
- 305 [19] 王茜. 绿豆雄性不育突变基因 *vrnp* 连锁标记的开发及应用. 南京:南京农业大学, 2022
- 306 Wang Q. Development and application of linked marker for male sterility mutant gene *vrnp* in mung bean. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022
- 307 [20] Lin Y, Laosatit K, Chen J, Yuan X, Wu R, Amkul K, Chen X, Somta P. Mapping and functional characterization of *Stigma Exposed 1*, a *DUF1005* gene  
308 controlling petal and stigma cells in mungbean (*Vigna radiata*). *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 575922
- 309 [21] 宋梦媛, 郭中校, 苏禹霏, 邓昆鹏, 兰天骄, 程钰鑫, 包淑英, 王桂芳, 窦金光, 姜泽锴, 王明海, 徐宁. 一种绿豆柱头外露突变体的转录组分析.  
310 *作物学报*, 2024, 50(4): 957-968
- 311 Song M Y, Guo Z X, Su Y F, Deng K P, Lan T J, Cheng Y X, Bao S Y, Wang G F, Dou J G, Jiang Z K, Wang M H, Xu N. Transcriptome analysis of a  
312 stigma exertion mutant in mungbean. *Acta Agronomica Sinica*, 2024, 50(4): 957-968
- 313 [22] Sorajjapinun W, Srinives P. Chasmogamous mutant, a novel character enabling commercial hybrid seed production in mungbean. *Euphytica*, 2011,  
314 181(2): 217-222
- 315 [23] Chen J, Somta P, Chen X, Cui X, Yuan X, Srinives P. Gene mapping of a mutant mungbean (*Vigna radiata* L.) using new molecular markers suggests a  
316 gene encoding a YUC4-like protein regulates the chasmogamous flower trait. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 830
- 317 [24] Kang Y J, Kim S K, Kim M Y, Lestari P, Kim K H, Ha B K, Jun T H, Hwang W J, Lee T, Lee J, Shim S, Yoon M Y, Jang Y E, Han K S, Taepayoon P,  
318 Yoon N, Somta P, Tanya P, Kim K S, Gwang J G, Moon J K, Lee Y H, Park B S, Bombarely A, Doyle J J, Jackson S A, Schafleitner R, Srinives P,  
319 Varshney R K, Lee S H. Genome sequence of mungbean and insights into evolution within *Vigna* species. *Nature Communications*, 2014, 5: 5443
- 320 [25] Fekih R, Takagi H, Tamiru M, Abe A, Natsume S, Yaegashi H, Sharma S, Sharma S, Kanzaki H, Matsumura H, Saitoh H, Mitsuoka C, Utsushi H,  
321 Uemura A, Kanzaki E, Kosugi S, Yoshida K, Cano L, Kamoun S, Terauchi R. MutMap+: Genetic mapping and mutant identification without crossing in  
322 rice. *PLoS ONE*, 2013, 8(7): e68529
- 323 [26] Takagi H, Abe A, Yoshida K, Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Utsushi H, Tamiru M, Takuno S, Innan H, Cano L M, Kamoun S, Terauchi R.  
324 QTL-seq: Rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations. *The Plant Journal*, 2013,  
325 74(1): 174-183
- 326 [27] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. *Methods*, 2001, 25(4):  
327 402-408
- 328 [28] Ribarits A, Mamun A N, Li S, Resch T, Fiers M, Heberle-Bors E, Liu CM, Touraev A. Combination of reversible male sterility and doubled haploid  
329 production by targeted inactivation of cytoplasmic glutamine synthetase in developing anthers and pollen. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, 5(4):  
330 483-494
- 331 [29] Mamun A N. Reversible male sterility in transgenic tobacco carrying a dominant-negative mutated glutamine synthetase gene under the control of  
332 microspore-specific promoter. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2007, 45(12): 1022-1030
- 333 [30] 李增辉, 王诗音, 庞玉辉, 马指挥, 李家创, 王黎明, 董普辉. 小麦雄性不育突变体 *4167ms* 的遗传定位. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(2):357-364  
334 Li Z H, Wang S Y, Pang Y H, Ma Z H, Li J C, Wang L M, Dong P H. Genetic mapping of a male sterility mutant *4167ms* in wheat. *Journal of Plant*  
335 *Genetic Resources*, 2023, 24(2): 357-364
- 336 [31] 叶卫军, 杨勇, 张丽亚, 田东丰, 张玲玲, 周斌. 绿豆 EMS 诱变突变体库的构建及表现分析. *中国农学通报*, 2020, 36(17):36-41  
337 Ye W J, Yang Y, Zhang L Y, Tian D F, Zhang L L, Zhou B. Construction of EMS mutagenesis mung bean mutant library and phenotypic analysis. *Chinese*  
338 *Agricultural Science Bulletin*. 2020, 36(17):36-41
- 339 [32] Saxena K B, Kumar R V, Tikle A N, Saxena M K, Gupta P. ICPH2671-the world's first commercial food legume hybrid. *Plant Breeding*, 2013, 12:479-485

- 340 [33] 赵丽梅, 孙寰, 王曙明, 王跃强, 黄梅, 李建平. 大豆杂交种杂交豆1号选育报告. 中国油料作物学报, 2004, 26(3): 15-17
- 341 Zhao L M, Sun H, Wang S M, Wang Y Q, Huang M, Li J P. Breeding of hybrid soybean hybrid1. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(3):
- 342 15-17
- 343 [34] 张春宝, 孙妍妍, 赵丽梅. 大豆细胞质雄性不育遗传基础与育种应用. 植物遗传资源学报, 2024, 25(6): 857-869
- 344 Zhang C B, Sun Y Y, Zhao L M. Genetic basis and breeding application of cytoplasmic male sterility in soybean. Journal of Plant Genetic Resources, 2024,
- 345 25(6): 857-869
- 346 [35] Sangiri C, Kaga A, Tomooka N, Vaughan D, Srinives P. Genetic diversity of the mungbean (*Vigna radiata*, Leguminosae) gene pool on the basis of
- 347 microsatellite analysis. Australian Journal of Botany, 2007, 55: 837-847
- 348 [36] Liu R, Zhao D, Li P, Xia D, Feng Q, Wang L, Wang Y, Shi H, Zhou Y, Chen F, Lou G, Yang H, Gao H, Wu B, Chen J, Gao G, Zhang Q, Xiao J, Li X,
- 349 Xiong L, Li Y, Li Z, You A, He Y. Natural variation in *OsMADS1* transcript splicing affects rice grain thickness and quality by influencing monosaccharide
- 350 loading to the endosperm. Plant Communications. 2025, 6(1):101178
- 351 [37] Wang T, Duan S, Xu C, Wang Y, Zhang X, Xu X, Chen L, Han Z, Wu T. Pan-genome analysis of 13 *Malus* accessions reveals structural and sequence
- 352 variations associated with fruit traits. Nature Communications, 2023, 14(1):7377
- 353 [38] 毛立彦, 檀小辉, 龙凌云, 黄秋伟, 邓有展, 於艳萍, 丁丽琼, 韦勇杰. 睡莲品种保罗蓝花器官不同部位的转录组测序分析. 植物遗传资源学报,
- 354 2024, 25(4): 647-659
- 355 Mao L Y, Tan X H, Long L Y, Huang Q W, Deng Y Z, Yu Y P, Ding L Q, Wei Y J. Sequencing analysis of transcriptome in different parts of *Nymphaea*
- 356 'Paul Stetson' flower. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(4): 647-659
- 357 [39] 肖世卓, 张毅, 戴习彬, 周志林, 孙健, 曹清河. 甘薯储藏期低温胁迫的转录组分析和关键基因挖掘. 植物遗传资源学报, 2024, 25(7): 1163-1174
- 358 Xiao S Z, Zhang Y, Dai X B, Zhou Z L, Sun J, Cao Q H. Transcriptome analysis and key gene mining of sweetpotato under low temperature stress during
- 359 storage. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(7): 1163-1174