

西葫芦雄性不育理化特性与转录组分析

盖少杰, 申琼, 刘江涛, 武峻新

(山西农业大学园艺学院, 太原 030031)

摘要: 西葫芦(*Cucurbita pepo* L.)雄性不育败育发生机理的研究对推动其杂交种选育及制种具有重要价值。以西葫芦雄性不育株(X-MS)和可育株(X-MF)为试材, 通过转录组测序及内源激素含量、抗氧化酶活性、蔗糖和淀粉含量测定, 结果表明: 从四分体时期(T1)、单核早期(T2)、单核中后期(T3)、双核期(T4)到开花前两天时期(T5), X-MS 内源激素含量随着花蕾发育过程呈现亏缺等异常、抗氧化酶活性呈现异常改变及淀粉和蔗糖含量总体呈现亏缺的变化趋势。从 T1 到 T3, 转录组测序共鉴定到 1947 个差异表达基因, 911 个上调, 1036 个下调。GO 富集分析表明催化活性、结合功能、细胞过程、代谢过程是分子功能、生物过程注释最多条目。KEGG 注释发现, 差异基因主要富集在植物激素信号传导、苯丙烷类生物合成、淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢等通路。通过对富集基因数目较多的植物激素信号传导、苯丙烷类生物合成、淀粉和蔗糖代谢途径进行分析, 进一步筛选出与过氧化物酶、蔗糖合酶、生长素相关的基因。这些基因可能在雄性不育西葫芦花粉发育过程中起到重要的作用, 此研究为进一步研究西葫芦雄性不育的分子机制提供了参考。

关键词: 西葫芦; 雄性不育; 生理生化; 转录组测序; 差异表达基因

Physiological and Biochemical Characteristics and Transcriptome

Analysis of Male Sterility in Zucchini (*Cucurbita pepo* L.)¹

GAI Shaojie, SHEN Qiong, LIU Jiangtao, WU Junxin

(College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031)

Abstract: Research on abortion and the mechanism of *Cucurbita pepo* L male infertility is of great value for promoting breeding and hybrids production. Taking the male sterile plants (X-MS) and fertile plants (X-MF) of zucchini as test materials, through transcriptome sequencing, as well as the determination of endogenous hormone contents, antioxidant enzyme activities, sucrose and starch contents, the results showed that from the tetrad stage (T1), early uninucleate stage (T2), middle to late uninucleate stage (T3), binucleate stage (T4) to two days before flowering stage (T5), the endogenous hormone contents in X-MS showed deficits and other as the development of flower buds, the antioxidant enzyme activities showed abnormal changes, and starch and sucrose contents generally showed a shortfall trend. From T1 to T3, 1,947 differentially expressed genes were identified through transcriptome sequencing, among which 911 were up-regulated and 1036 were down-regulated. GO enrichment analysis indicated that catalytic

¹ 收稿日期: 2025-01-03 网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为园艺植物生物技术及遗传改良, E-mail: g18335634900@163.com

通信作者: 武峻新, 研究方向为南瓜属分子遗传育种, E-mail: wujunxin@126.com

基金项目: 山西农业大学生物育种工程(YZGC118); 山西省现代农业产业技术体系建设专项(2024CYJSTX08-02)

Foundation projects: Shanxi Agricultural University Bio-breeding Project(YZGC118); Earmarked Fund for Modern Agro-industry Technology Research System of Shanxi Province(2024CYJSTX08-02)

activity, binding function, cellular process, and metabolic process were the most annotations in molecular function and biological process. KEGG annotation found that the differential genes were mainly enriched in pathways such as plant hormone signal transduction, phenylpropanoid biosynthesis, starch and sucrose metabolism, and amino sugar and nucleotide sugar metabolism. By analyzing the pathways of plant hormone signal transduction, phenylpropanoid biosynthesis, and starch and sucrose metabolism, further screening for genes related to peroxidase, sucrose synthase, and IAA. These genes may play important roles in the pollen development process of zucchini of male sterile, and provide a reference for further research on the molecular mechanism of male sterility in zucchini.

Key words: zucchini(*Cucurbita pepo* L.); male sterility; physiological and biochemical; transcriptome sequencing; differentially expressed genes

西葫芦(*Cucurbita pepo* L.), 别名美洲南瓜, 来源于美洲, 是重要的葫芦科南瓜属蔬菜之一。1976年山西省农业科学院蔬菜研究所育成我国第一个西葫芦一代杂交种早青一代新品种, 1995年“育成早青一代西葫芦及大面积推广”获得国家科技进步三等奖, 杂种优势利用为我国西葫芦产业健康发展起到极其重要作用^[1]。“十三五”以来, 我国在西葫芦育种技术与种质资源评价等方面取得一些成绩, 获得了与小西葫芦黄化花叶病毒(ZYMV)、番木瓜环斑病毒西瓜株系(PRSV-W)抗性基因连锁分子标记^[2-3]; 重要的外观品质之一的嫩瓜皮色呈色机理研究进一步深入^[4-5]。但至今, 西葫芦一代杂交种依然是通过选育出父母本自交系的育种过程而育成^[6-7]。在制种过程中, 母本自交系要人工去雄。存在着制种成本高、纯度问题, 也存在着父母本自交系极易被盗取问题。雄性不育系在蔬菜一代杂交种选育及杂交制种中具有重要价值, 一直是蔬菜育种研究的热点及方向, 并已展现出巨大的利用效果^[8-9]。但与甘蓝、大白菜、萝卜、辣椒等雄性不育研究相比, 瓜类蔬菜雄性不育研究相对滞后。至于西葫芦雄性不育, 对其认知及研究极其有限^[10-11]。对造成西葫芦雄性不育败育的生理生化及分子机制研究仍是未知数, 至今无利用雄性不育系育成西葫芦品种并在生产上应用的相关报道^[12]。

蔬菜的雄性不育主要表现为花药、花粉败育、无花粉散出等特点; 败育主要发生在花粉母细胞期、四分体、单核小孢子等时期, 涉及代谢途径和绒毡层发育异常等现象^[13-14]。对于瓜类蔬菜, 雄性不育多为隐性基因控制^[15-17]; 赤霉素、生长素等内源激素含量, 过氧化物酶(POD, peroxidase)、过氧化氢酶(CAT, catalase)等活性与雄性不育有关, 而且内源激素、氧化还原酶等相关差异表达基因对于甜瓜、西瓜的不育系败育形成起到一定作用^[18-20]。

山西农业大学园艺学院(山西省农业科学院蔬菜研究所)南瓜属创新团队武峻新研究员在法国 Tezier 公司的西葫芦品种法拉利生产田中发现一突变株, 在对其进行连续自交中发现西葫芦雄性不育株, 并随后通过多代杂交选育出隐性雄性不育系。根据本团队前期对不同时期雄性不育株和可育株的花蕾直径及花粉发育相关研究结果, 本研究拟从雄性不育株及可育株小孢子发育的四分体时期开始进行研究。通过转录组测序及内源激素含量、抗氧化酶活性、蔗糖和淀粉含量测定, 从转录水平、生化生理水平探讨内源激素、抗氧化酶、蔗糖和淀粉等与西葫芦败育的关系, 以期推进西葫芦优质品种改良及杂交种生产开发应用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以山西农业大学东阳试验基地春大棚定植的西葫芦雄性不育株(编号‘X-MS’)和可育株(编号‘X-MF’)为试验材料。试验材料来源于山西农业大学园艺学院(山西省农业科学院蔬菜研究所)南瓜属创新团队。2023年采用春温室 50 孔穴盘育苗, 大棚内平畦地膜覆盖定植 30 株, 株距 0.6 m, 行距 0.65 m, 常规栽培管理; 2024 年采用春温室 50 孔穴盘育苗, 大棚内平畦地膜覆盖定植 60 株, 株距 0.6 m, 行距 0.65 m, 常规栽培管理。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉活力鉴定 上午 9:30 前取当天开花雄花, 通过 TTC 法检测花粉活力^[21]。以花粉被染为红色为活力强; 淡红色次之; 无色者为无活力。

1.2.2 扫描电子显微镜观察 上午 9:30 前取雄花开放前两天时期(T5)的花蕾, 只留雄蕊。4%戊二醛固定, 随后放在 4°C 的冰箱中 6 h; 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液漂洗 15 min, 重复 3 次; 用 30%、50%、70%、80%、95%、100%乙醇梯度脱水各 15 min; 放在 CO₂ 临界点干燥仪(Leica EM CPD300)中干燥 2 h; 在离子溅射仪中(JEC-3000FC)喷金抽真空; 置于扫描电子显微镜(JSM-IT300LA)下观察, 并拍照。

1.2.3 激素含量测定 上午 9:30 前分别取四分体时期(T1); 单核早期(T2)、单核中后期(T3)、双核期(T4)、开花前两天时期(T5) 5 个时期的 X-MS 与 X-MF 的雄花蕾(去掉花萼片), 保存于-80°C 冰箱备用。使用 SpectraMax Plus 酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司), 按照植物赤霉素(GA3, gibberlin A3)、生长素(IAA, indole-3-acetic acid)、脱落酸(ABA, abscisic acid)、茉莉酸(JA, jasmonic acid)酶联免疫分析 ELISA 检测试剂盒(上海通蔚实业有限公司)产品说明书测定。试验设 3 次重复。

1.2.4 抗氧化酶活性测定 取样同 1.2.3。按照生工生物工程(上海)股份有限公司超氧化物歧化酶(SOD, superoxide dismutase)、过氧化物酶、过氧化氢酶活性检测试剂盒(比色法)产品说明书测定。酶活性单位为 U/g。试验设 3 次重复。

1.2.5 蔗糖和淀粉测定 取样同 1.2.3。使用 SpectraMax Plus 酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司), 利用北京索莱宝科技有限公司生产的植物蔗糖含量检测试剂盒, 按照说明书测定蔗糖含量。试验设 3 次重复。

取样同 1.2.3。使用 SpectraMax Plus 酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司), 利用北京索莱宝科技有限公司生产的淀粉含量检测试剂盒, 按照说明书测定淀粉含量。试验设 3 次重复。

1.2.6 转录组测序及差异表达基因的筛选 上午 9:30 前分别取四分体时期(T1)、单核早期(T2)、单核中后期(T3)X-MS 与 X-MF 雄花蕾, 重复 3 次。委托北京百迈客生物科技有限公司进行 RNA 提取、cDNA 文库构建和测序。

利用百迈客云平台以 Fold Change ≥ 2 且 Pvalue <0.05 作为筛选标准筛选差异基因，用 DESeq2 软件进行基因差异表达分析，以筛选的基因进行转录因子预测。差异基因富集分析(使用 ClusterProfiler 包采用超几何检验方法富集分析，使用 RStudio 软件 ggplot2 包作图)。西葫芦 *CpActin* 为内参，生工生物工程(上海)股份有限公司合成由 Primer3(v.0.4.0)设计的 qRT-PCR 引物(表 1)。使用 PrimeScript™ RT reagent Kit 试剂盒将提取的总 RNA 反转录成 cDNA。利用 TB Green® Premix Ex Taq™ II 试剂盒，通过实时荧光定量 PCR 系统进行 PCR 扩增，3 次技术重复。计算基因相对表达量时采用的方法为 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法，绘图工具使用的为 GraphPad Prism10。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table1 Primer sequences for qRT-PCR

基因名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
Gene name	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
<i>CpActin</i>	CACACAGGATACGAGTGG	GCAATATCCTCATA CGGTGG
<i>Cp4.1LG15g02520</i>	TTGGTTTACTCAGTGC GGC	CGGCAACAGCATCGGATTTA
<i>Cp4.1LG04g11350</i>	CCCTCGAGAAGTTCCTTGGT	CAAAGCACGAACTTGGTCCA
<i>Cp4.1LG01g13870</i>	AAGGAAAGGGGAGAATGGG	GCTCATCCTCTCCCCATAC
<i>Cp4.1LG03g02890</i>	GTCCACGGCCAGTAATTC	CGGAAGCGTCAAGGTGAAAA
<i>Cp4.1LG10g02290</i>	AGTCCAAGATTCCCGTCGTT	ATCAGTTTCTCTCCCCAGC

1.3 数据分析

使用 SPSS 22.0 软件对数据进行方差分析和差异显著性检验，利用 Origin 2022 软件绘制柱形图。。

2 结果与分析

2.1 X-MS 和 X-MF 雄花蕾、开放的雄花观察及鉴定

2.1.1 X-MS 和 X-MF 雄花蕾、开放的雄花观察及花粉活力鉴定 西葫芦 X-MS 和 X-MF 雄蕊在雄花开放前后存在着显著差异(图 1)。在 T5，X-MS 雄蕊明显小于 X-MF 雄蕊，X-MF 雄蕊饱满，颜色偏黄(图 1A)；在雄花开放当天，X-MS 雄花花瓣小于 X-MF，雄蕊明显小于 X-MF，花药颜色偏绿，退化明显，且无花粉散出；而 X-MF 雄蕊正常，且正常散粉(图 1B)。当天开放的雄花的花粉活力鉴定结果也表明，X-MS 未有染色情况，花粉可育率为 0，为全不育水平，而 X-MF 花粉呈红色，平均花粉活力在 93.98%，具有较强的花粉活力(图 1C)。

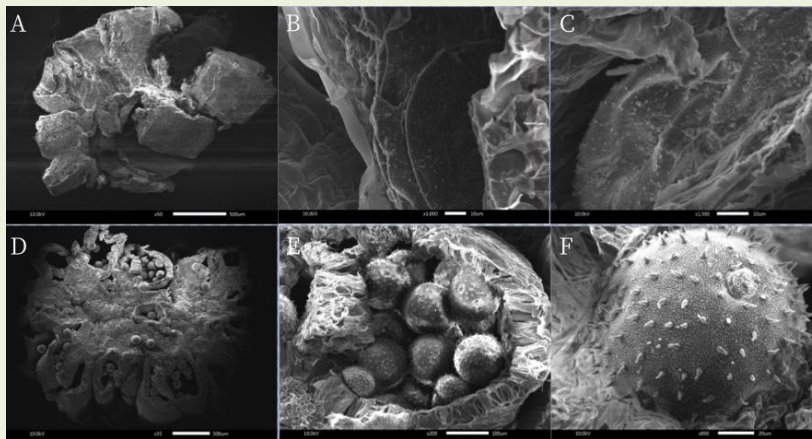


A: T5 的 X-MS(左)和 X-MF(右); B: 当天开花的 X-MS(左)和 X-MF(右); C: X-MS(左)和 X-MF(右)花粉活力鉴定
 A: X-MS(L) and X-MF(R) at T5; B: X-MS(L) and X-MF(R) bloom on the same day; C: Pollen viability identification of X-MS (L) and X-MF(R)

图 1 X-MS 和 X-MF 雄花蕾和开放的雄花差异及花粉活力鉴定

Fig.1 Male flower bud and blooming flowers differences and pollen viability identification between X-MS and X-MF

2.1.2 X-MS 和 X-MF 雄蕊扫描电镜观察 T5 的 X-MS 和 X-MF 的雄蕊扫描电镜观察见图 2。其中，X-MS 的雄蕊横切面，花粉囊药室多粘连，花粉囊内空，偶有少量瘪状花粉粒，无刺突，花粉孔不可见(图 2 A、B、C)。X-MF 雄蕊横切面，花粉囊里面布满饱满的花粉粒，花粉粒球体带刺突，有花粉孔(图 2 D、E、F)。



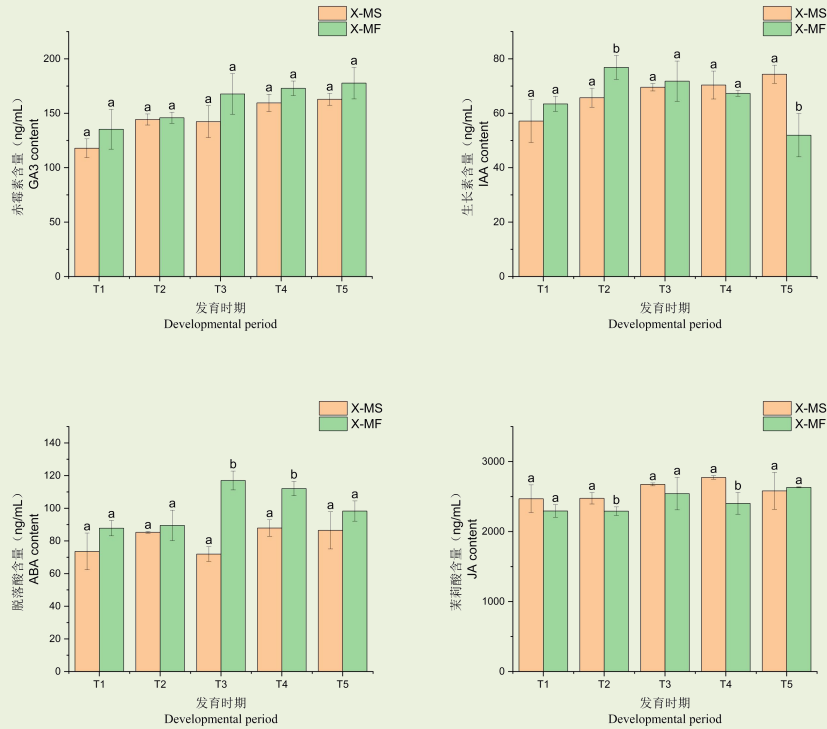
A、B、C 分别是 T5 的 X-MS 雄蕊横切面、花粉囊、干瘪花粉粒; D、E、F 分别是 T5 的 X-MF 雄蕊横切面、花粉囊、花粉粒
 A,B and C are respectively stamen cross-section pollensac and wizened pollen grain of X-MS at T5; D,E and F are respectively stamen cross-section pollensac and pollen grain of X-MF at T5

图 2 T5 的 X-MS 和 X-MF 雄蕊横切面扫描电镜观察

Fig.2 Scanning electron microscope observation of stamen cross-section of X-MS and X-MF at T5

2.2 不同时期 X-MS 和 X-MF 雄花蕾内源激素含量的变化

为了更好地了解内源激素中赤霉素 GA3、生长素、脱落酸和茉莉酸含量对 X-MS 花蕾发育影响，对其四分体时期(T1)、单核早期(T2)、单核中后期(T3)、双核期(T4)、开花前两天时期(T5) 5 个时期进行了相关测定，结果见图 3。



误差线代表标准误差，不同小写字母表示同期 X-MS and X-MF 内源激素水平差异显著($P < 0.05$)；下同

The error line represents the standard error, and different lowercase letters indicated a significant difference of endogenous hormone contents($P < 0.05$) between X-MS and X-MF at a same stage; The same as below

图 3 X-MS 和 X-MF 雄花蕾不同时期内源激素含量的变化

Fig. 3 Endogenous hormone content changes in male flower buds of X-MS and X-MF at different stages

X-MS 与 X-MF 花蕾的赤霉素 GA3 含量变化趋势基本一致，呈现逐渐上升趋势。在 X-MS 花蕾中相对较低，然而两材料同时期的差异均不显著。通过进一步不同时期显著性分析表明，T5 的 X-MS 花蕾的赤霉素 GA3 含量显著高于 T1 的 X-MS；同样 T5 的 X-MF 花蕾的赤霉素 GA3 含量显著高于 T1 的 X-MF。

X-MS 与 X-MF 花蕾的生长素含量呈现的变化趋势不同。X-MS 花蕾的生长素含量呈现逐渐上升趋势；而 X-MF 花蕾的生长素含量呈现先上升后下降趋势。在 T2，X-MF 的生长素含量显著高于 X-MS；在 T5，则相反。

X-MS 花蕾的脱落酸含量在 5 个时期都低于 X-MF 花蕾的脱落酸含量。其中在 T3 达到最低值，显著低于 X-MF，仅为此时期 X-MF 花蕾的 61.48%。

X-MS 花蕾的茉莉酸含量呈先升高后下降的趋势，X-MF 花蕾的茉莉酸含量呈先升高后下降最后再升高的趋势。X-MS 花蕾的茉莉酸含量在前 4 个时期都高于 X-MF 花蕾的茉莉酸含量。

综上所述，除 X-MS 花蕾的茉莉酸含量表现盈额外（T5 除外），其他 3 个内源激素含量基本表现亏缺。在 T2，X-MF 较 X-MS 花蕾的生长素含量显著高，后期反之；在 T3，X-MF 也较 X-MS 花蕾的脱落酸含量显著高。内源激素亏缺及动态平衡等可能与 X-MS 雄蕊发育有关。

2.3 不同时期 X-MS 和 X-MF 雄花蕾抗氧化酶活性的变化

为了更好地了解抗氧化酶中过氧化物酶、超氧化物酶、过氧化氢酶活性对 X-MS 花蕾发育影响，在其 5 个时期进行了相关测定，结果见图 4。

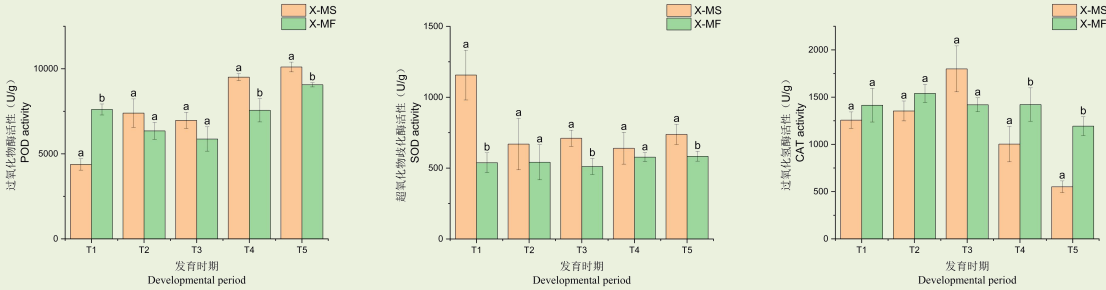


图 4 X-MS 和 X-MF 雄花蕾不同时期抗氧化酶活性的变化

Fig. 4 Changes in antioxidant enzyme activity in male flower buds of X-MS and X-MF at different stages

X-MS 花蕾的过氧化物酶活性与 X-MF 花蕾的过氧化物酶活性在五个时期变化趋势有所不同，呈现出明显的上升趋势。在 T1，X-MS 花蕾的过氧化物活性显著低于 X-MF 花蕾的过氧化物活性；而到 T4 和 T5，其显著高于 X-MF 花蕾的过氧化物酶活性。通过进一步不同时期显著性分析表明，后两个时期 X-MS 花蕾的过氧化物酶活性显著高于前三个时期；而在 T2 和 T3，其活性也显著高于 T1 时。

X-MS 花蕾的超氧化物歧化酶活性在五个时期都比 X-MF 花蕾的超氧化物歧化酶活性高，其中三个时期表现为显著高。通过进一步不同时期显著性分析表明，X-MS 花蕾的超氧化物歧化酶活性在 T1 是显著高于 X-MS 其后 4 个时期。

在五个时期，X-MS 花蕾的过氧化氢酶活性与 X-MF 花蕾的过氧化氢酶活性呈现出相对平缓变化不同，从 T3 开始呈现急剧下降的趋势，在 T4 和 T5 显著低于 X-MF 花蕾的过氧化氢酶活性。

可见，X-MS 花蕾的过氧化物酶活性、超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶活性呈现出不同的变化趋势。从 T1 到 T2，X-MS 花蕾的过氧化物酶活性的显著升高；后期较高的过氧化物酶和较低的过氧化氢酶活性，以及整体较高的超氧化物歧化酶活性可能与 X-MS 雄蕊发育有关。

2.4 不同时期 X-MS 和 X-MF 雄花蕾蔗糖及淀粉含量的变化

为了更好地了解蔗糖及淀粉含量对 X-MS 花蕾发育影响，在其 5 个时期进行了相关测定，结果见图 5。

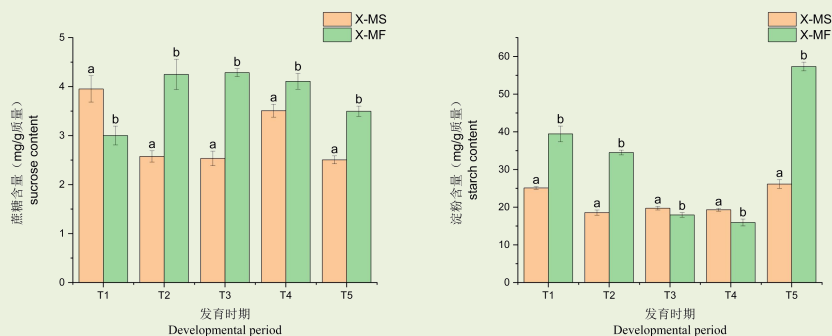


图 5 X-MS 和 X-MF 雄花蕾不同时期蔗糖及淀粉含量的变化

Fig. 5 Variation in sucrose and starch content in male flower buds of X-MS and X-MF at different stages

X-MS 花蕾的蔗糖含量除在 T1 显著高于 X-MF 花蕾的蔗糖含量外, 其余后 4 个时期都显著低于 X-MF; 通过进一步不同时期显著性分析表明, T1 的 X-MS 花蕾的蔗糖含量显著高于随后的四个时期的 X-MS。在 T1、T2 和 T5, X-MS 和 X-MF 花蕾的淀粉含量之间差异明显, X-MS 花蕾的淀粉含量显著低于 X-MF。综上所述, 从 T1 到 T2, X-MS 花蕾的蔗糖含量显著下降和随后时期的亏缺, 以及淀粉含量的亏缺可能与 X-MS 雄蕊发育有关。

2.5 转录组测序结果分析

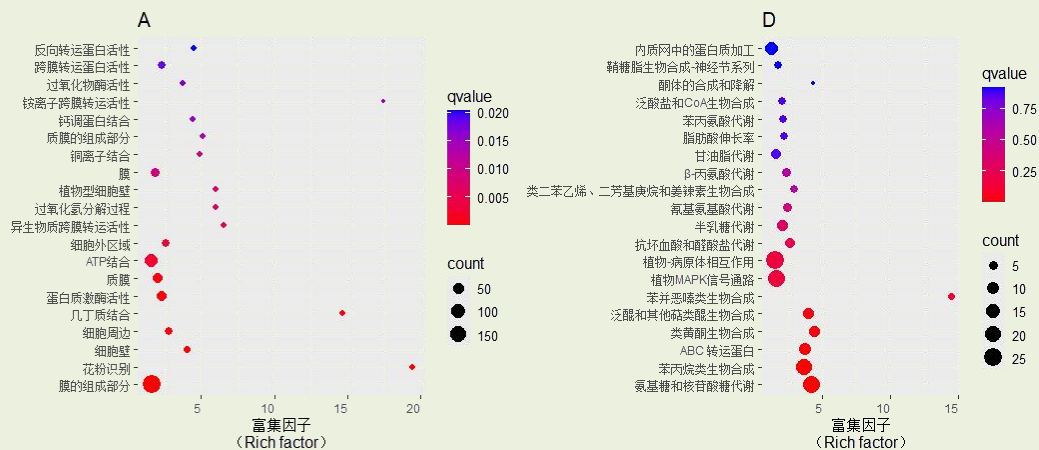
2.5.1 X-MS 和 X-MF 雄花蕾测序数据分析 利用 Illumina HiSeq 2500 测序平台对 T1、T2 和 T3 的 X-MS 和 X-MF 花蕾进行转录组测序, 共获得 114.84 Gb Clean Data(经过去除接头和低质量的数据), 各样品碱基测序质量值 Q30 在 94.96%以上。X-MS 平均获得 21,129,870 clean reads(高质量序列)。比对到参考基因组唯一位置的 reads(序列)数目为 37 768 723, 占有所有 reads 的 89.38%。X-MS 的 GC 平均含量为 45.18%。X-MF 平均获得 21 546 174 clean reads。比对到参考基因组唯一位置的 Reads 数目为 38 099 680, 占有所有 reads 的 88.53%。X-MF 的 GC 平均含量为 45.15%。

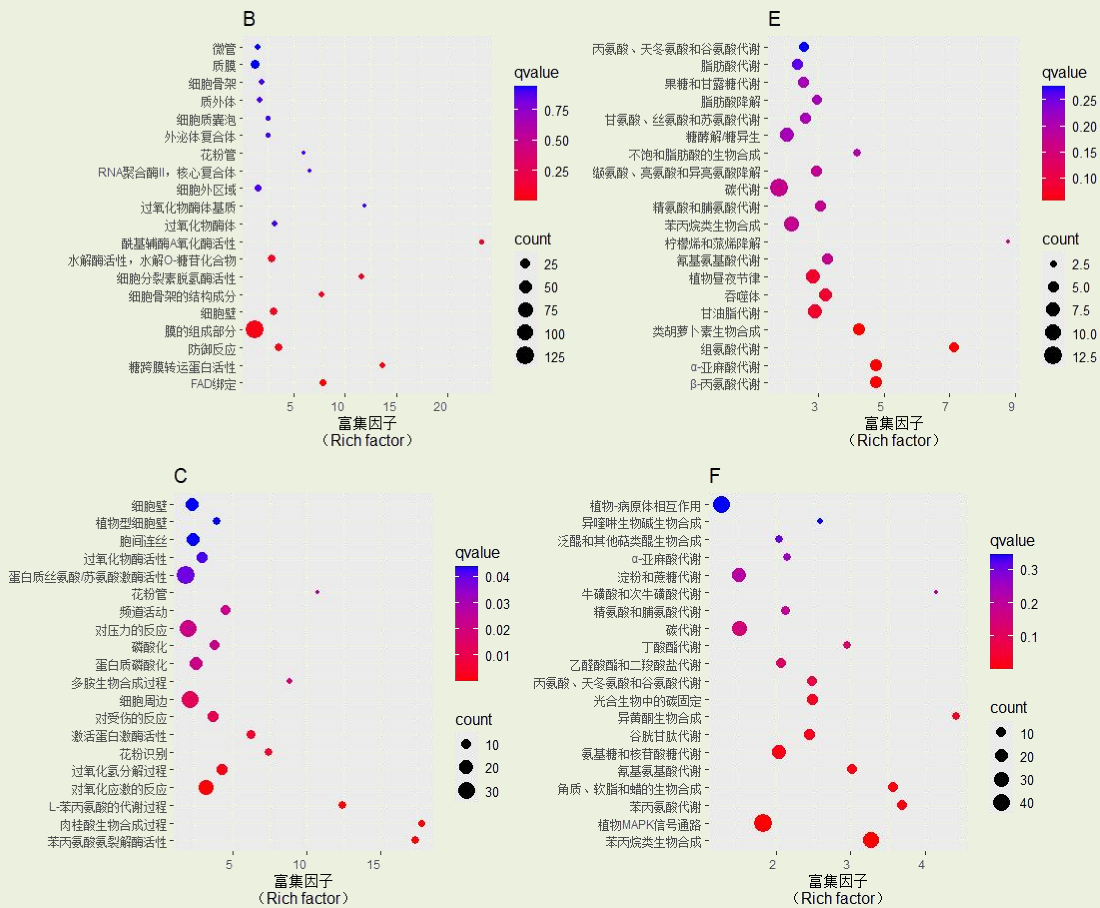
利用 DESeq2 软件进行不同时期差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)分析, 在 X-MF vs X-MS 的三个时期中, 共鉴定到 1947 个差异表达基因, 其中 911 个上调, 1036 个下调。在 T1, 共获得 561 个差异表达基因(173 个上调, 388 个下调); 在 T2, 共获得 529 个差异表达基因(215 个上调, 314 个下调); 在 T3, 共获得 1132 个差异表达基因(739 个上调, 393 个下调), 且前两个时期上调数量小于下调数量, 而第三个时期上调数量大于下调数量。随着花蕾发育, 差异表达基因表达明显活跃。

2.5.2 差异表达基因的富集分析 通过 X-MF vs X-MS 不同时期差异表达基因 GO 功能富集分析发现, 在 level 1 水平上, 在分子功能大类中注释最多的为催化活性和结合功能, 而在生物学过程大类中注释最多的为细胞过程和代谢过程。T1 有 143 个上调和 339 个下调差异表达基因参与了 31 个 GO 功能分类项。其中催化活性、结合功能、细胞过程、代谢过程分别有 248、225、241、204 个; T2 有 153 个上调和 249 个下调差异表达基因参与了 31 个 GO 功能分类项, 其中催化活性、结合功能、细胞过程、代谢过程分别有 198、179、187、165 个; T3 有 618 个上调和 295 个下调差异表达基因参与了 31 个 GO 功能分类项, 其中催化活性、结合功能、细胞过程、代谢过程分别有 469、425、432、384 个。在 level 2 水平上, T1 差异表达基因主要显著富集在膜的组成部分(GO:0016021)、花粉识别(GO:0048544)、过氧化氢分解过程(GO:0042744)等方面(图 6A)。在 T2, 差异表达基因主要显著富集在 FAD 绑定(GO:0071949)、糖跨膜转运蛋白活性(GO:0051119)、防御反应(GO:0006952)、膜的组成部分(GO:0016021)等方面(图 6B)。在 T3, 差异表达基因主要显著富集在苯丙氨酸氨裂解酶活性(GO:0045548)、肉桂酸生物合成过程(GO:0009800)、L-苯丙氨酸的代谢过程(GO:0006559)、

对氧化应激的反应(GO:0006979)、过氧化氢分解过程(GO:0042744)等方面(图 6C)。

为了进一步了解在 X-MF vs X-MS 中的差异表达基因的生物学功能，将鉴定到的差异表达基因进行 KEGG 分类注释。在 T1, 225 个差异表达基因被注释到 94 个 KEGG 一级通路。在环境信息处理类的通路中，主要有 21 个植物 MAPK 信号通路(9.33%)，14 个植物激素信号传导(6.22%)；在代谢类的通路中，主要有 24 个氨基糖和核苷酸糖代谢(10.67%)，20 个苯丙烷类生物合成(8.89%)，10 个淀粉和蔗糖代谢(4.44%)。在 T2, 171 个差异表达基因被注释到 94 个 KEGG 一级通路。在环境信息处理类的通路中，主要有 16 个植物激素信号传导(9.36%)，8 个植物 MAPK 信号通路(4.68%)；在代谢类的通路中，主要有 13 个碳代谢(7.60%)，9 个氨基酸的生物合成(5.26%)，9 个苯丙烷类生物合成(5.26%)，9 个淀粉和蔗糖代谢(5.26%)。在 T3, 442 个差异表达基因被注释到 112 个 KEGG 一级通路。在环境信息处理类的通路中，主要有 45 个植物 MAPK 信号通路(10.18%)，36 个植物激素信号传导(8.14%)；在代谢类的通路中，主要有 35 个苯丙烷类生物合成(7.92%)，28 个碳代谢(6.33%)，23 个氨基糖和核苷酸糖代谢(5.20%)，23 个淀粉和蔗糖代谢(5.20%)。结果发现，环境信息处理类中所占比例较多为植物 MAPK 信号通路、植物激素信号传导；代谢类中所占比例较多为苯丙烷类生物合成、淀粉和蔗糖代谢、碳代谢、氨基酸的生物合成、氨基糖和核苷酸糖代谢等。差异表达基因注释到代谢通路较多，表明西葫芦败育是多通路协调调控的复杂过程。将富集程度最显著的 20 条通路进行散点图绘制。结果显示，在 T1 主要有氨基糖和核苷酸糖代谢、苯丙烷类生物合成、ABC 转运蛋白等(图 6D)。在 T2 主要有 β -丙氨酸代谢、 α -亚麻酸代谢、组氨酸代谢、类胡萝卜素生物合成等(图 6E)。在 T3 主要有苯丙烷类生物合成、植物 MAPK 信号通路、苯丙氨酸代谢、淀粉和蔗糖代谢等(图 6F)。





A、B、C 分别是 T1、T2 和 T3 差异表达基因 GO 富集分析；D、E、F 分别是 T1、T2 和 T3 差异表达基因 KEGG 富集分析
A,B and C are respectively GO enrichment analysis of differentially expressed genes at T1, T2 and T3; D,E and F are respectively KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes at T1,T2 and T3

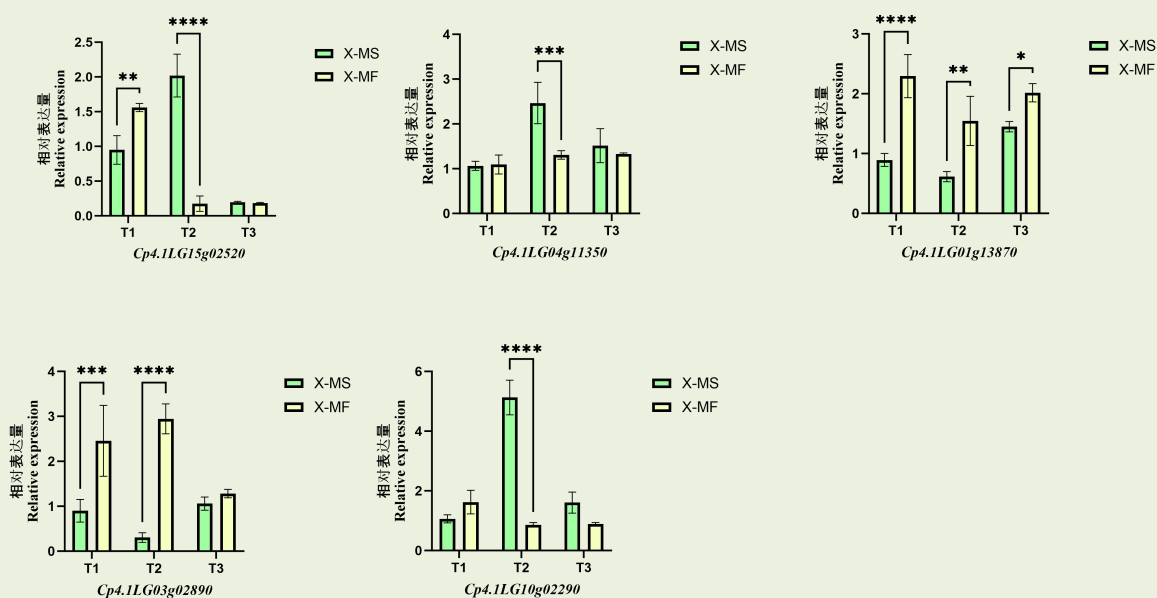
图 6 差异表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

Fig.6 GO and KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes

2.5.3 与育性相关的差异表达基因分析 对苯丙烷类生物合成、淀粉和蔗糖代谢、植物激素信号传导通路中的差异表达基因进行功能注释。在苯丙烷类生物合成途径中，16 个差异表达基因注释为过氧化物酶相关基因 (*Cp4.1LG05g05190*、*Cp4.1LG15g02380*、*NewGene_3039*、*Cp4.1LG13g00920*、*Cp4.1LG10g02170*、*Cp4.1LG08g10960*、*Cp4.1LG16g09040*、*Cp4.1LG05g05170*、*Cp4.1LG10g02630*、*NewGene_345*、*Cp4.1LG16g04490*、*Cp4.1LG10g12320*、*Cp4.1LG15g02520*、*NewGene_354*、*Cp4.1LG02g05520*、*NewGene_253*)；在蔗糖和淀粉代谢中，3 个差异表达基因注释为蔗糖合酶相关基因(*Cp4.1LG04g11350*、*NewGene_5273*、*Cp4.1LG18g02810*)；1 个差异表达基因注释为 α -淀粉酶相关基因(*Cp4.1LG10g08420*)；1 个差异表达基因注释为 β -淀粉酶相关基因(*Cp4.1LG08g07020*)。在植物激素信号传导中，4 个差异表达基因注释为生长素流入载体 (AUX1/ LAX 家族) 相关基因 (*Cp4.1LG13g01180*、*Cp4.1LG19g02880*、*Cp4.1LG01g20210*、*Cp4.1LG03g02890*)；6 个差异表达基因注释为生长素反应蛋白 IAA 相关基因 (*Cp4.1LG08g03670*、*Cp4.1LG12g11380*、*NewGene_3484*、*NewGene_5532*、*Cp4.1LG01g13870*、*Cp4.1LG18g05170*)，2 个差异表

达基因注释为生长素响应性 GH3 基因家族相关基因(*Cp4.1LG10g02290*、*Cp4.1LG16g04550*), 2 个差异表达基因注释为脱落酸受体 PYR/PYL 家族相关基因(*Cp4.1LG06g02330*、*Cp4.1LG19g02690*)。

对核心基因表达及转录组结果进行进一步的验证。选取上述的过氧化物酶相关基因(*Cp4.1LG15g02520*)、蔗糖合酶相关基因(*Cp4.1LG04g11350*)、生长素反应蛋白 IAA 相关基因(*Cp4.1LG01g13870*)、生长素流入载体 (AUX1/LAX 家族) 相关基因 (*Cp4.1LG03g02890*)、生长素响应性 GH3 基因家族相关基因 (*Cp4.1LG10g02290*)5 个差异表达基因进行 qRT-PCR 验证(图 7)。结果表明 *Cp4.1LG15g02520* 基因、*Cp4.1LG04g11350* 基因和 *Cp4.1LG10g02290* 基因在 X-MS 花蕾不同发育时期表达量不同, *Cp4.1LG01g13870* 和 *Cp4.1LG03g02890* 基因在 X-MS 花蕾发育进程中表达量低于同期 X-MF。经和转录组数据比较, 这些基因的表达水平与转录组测序结果基本一致, 进一步表明本研究用于过氧化物酶相关基因、蔗糖合酶相关基因和生长素相关基因的转录组测序数据较为可靠。



*、**、***、**** 分别代表在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$ 水平差异显著

*, **, *** and **** indicate significant differences at the levels of $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ and $P < 0.0001$, respectively

图 7 5 个差异表达基因实时荧光定量 PCR 结果

Fig. 7 qRT-PCR results of 5 differentially expressed genes

2.5.4 转录因子分析 在花药发育中转录因子起重要调控作用。对 KEGG 前 20 条富集通路结果进行转录因子分析结果表明, 在 T1 共鉴定到 37 个差异表达转录因子, 主要属于 RLK-Pelle 家族(67.57%)、bHLH 家族(13.51%)、WRKY 家族(5.41%); STE-STE-PI 和 STE-STE11 家族(5.41%)、CAMK 家族(5.41%); 在 T2 共鉴定到 3 个差异表达转录因子, 分别属于 bHLH 家族、C2C2-Dof 家族和 Pseudo ARR-B 家族; 在 T3 共鉴定到 50 个差异表达转录因子, 主要属于 RLK-Pelle 相关亚家族(54.00%)、WRKY 家族(16.00%)、STE-STE-PI 和 STE-STE11 家族(12.00%)、bHLH 家族(8.00%)等。总体, 这些差异表达转录因子在 RLK-Pelle 家族、bHLH 家族、WRKY 家族的占比较高。可能涉及受体激酶功能障碍、bHLH 蛋白的表达或功能异常、育性缺陷等

方面，从而引发西葫芦雄性不育。

3 讨论

对西葫芦雄性不育的了解及相关机理研究是推进西葫芦杂种优势利用的重要基础之一，有重要的理论和现实意义。本研究选择不同育性的西葫芦为材料，研究雄花不同发育阶段的表型特征，抗氧化酶活性、植物内源激素含量及淀粉和蔗糖含量变化；通过比较转录组测序，分析过氧化物酶、蔗糖合酶、生长素相关的基因的表达，了解这些基因在西葫芦雄性不育花粉发育过程中的可能作用。

与李桂琴等西葫芦雄蕊观察一致，本研究所用可育材料雄蕊中花药集中，花粉粒大且紧密^[22]。本研究雄性不育西葫芦雄花能正常开放，但花瓣明显变小，花药退化变小，与西瓜雄性不育表现相同^[23]。雄性不育西葫芦开花前 2 天(T5)扫描电镜观察，花粉囊干瘪，无开裂现象，与甜瓜雄性不育表现类似^[17]；但此时期西葫芦可育株与甜瓜可育株的表现不同。尽管此时粒大、表面具刺、有萌发孔的圆形花粉粒饱满、集中，但花粉囊无开裂现象。西葫芦花粉、花药的发育、雄蕊的形态变化与其雄性不育性密切相关。

内源激素含量亏缺等表现异常、抗氧化酶活性异常改变及淀粉和蔗糖含量降低趋势可能与西葫芦雄性不育有关。雄性不育常受多种内源激素及其相互之间平衡的调节，早期生长素亏缺、脱落酸剧减及赤霉素不足导致水稻农垦 58S 雄性败育；而西瓜雄性不育受生长素和赤霉素等亏缺、茉莉酸升高、脱落酸异常波动等调控^[15, 24]。本研究中，西葫芦雄性不育也表现出早期生长素亏缺、脱落酸缺乏等变化，营养的不足，抗性减弱可能导致雄性不育。作为主要的抗氧化物质，过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等与西瓜雄性不育发生密切相关，不育株过氧化物酶活性高而过氧化氢酶活性降低^[15]。本研究中，与西瓜研究结果类似，雄性不育株花蕾的过氧化物酶活性(除 T1 外)和超氧化物歧化酶活性高于可育株，而过氧化氢酶活性呈现下降趋势。表现出西葫芦雄性不育过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶活性应对膜脂的过氧化保护反应。但辣椒雄性不育过氧化氢酶活性研究存在相反结论^[25]；作为花粉发育过程中重要的营养物质之一，可溶性糖和淀粉转存异常等会造成大豆雄性不育^[26]。本研究中同样在雄性不育花粉发育过程中，蔗糖、淀粉亏缺，不能很好地提供发育所需碳源和能量。

苯丙烷类化合物作为植物次级代谢产物的一部分，对植物的生长发育等有重要作用。在甘蓝型油菜化学诱导出的雄性不育和陕 2A(细胞质雄性不育)两种不育类型的转录组测序中已鉴定到的基因大多被注释为黄酮及苯丙烷类生物合成路径基因^[27]。在甜瓜雄性可育株与不育株差异基因表达中，发现 3 个过氧化物酶基因下调，6 个为上调，氧自由基积累使不育系的膜脂过氧化水平异常升高^[19]。在茄子功能雄性不育系 S13 开花的前 8 d、5 d 和开花当天的花蕾过氧化物酶基因(*F01_transcript_115385*)表达量都有所上调^[28]。本研究中，部分差异表达基因富集在苯丙烷类生物合成通路中，过氧化物酶相关差异基因在雄性不育花蕾不同发育时期表达量不同(T1 下调表达，T2 和 T3 上调表达)，其表达趋势与过氧化物酶含量的变化趋势相一致。

对此类过氧化物酶相关差异基因的进一步研究将有助于揭示次生代谢产物在西葫芦花粉败育中的作用。

蔗糖合酶是蔗糖代谢中起重要作用的一类关键酶，蔗糖合酶的合成活性涉及合成蔗糖，而分解活性涉及合成淀粉等代谢途径^[29]。在大豆雄性不育研究中部分差异表达基因显著富集在淀粉和蔗糖代谢等糖类代谢相关通路中，花粉败育可能由基因异常表达产生^[30]。本研究中，部分差异表达基因与大豆结果类似，也同样显著富集在淀粉和蔗糖代谢相关通路中。注释到的 1 个蔗糖合酶相关基因在雄性不育花蕾不同发育时期表达量不同（T1 下调表达，T2 和 T3 上调表达），其表达趋势与蔗糖含量的变化趋势相反，推测在此时以蔗糖合酶分解活性为主。但该相关推测尚待进一步全面研究。

生长素代谢通路中，如 *SUPERMAN* 基因(*NitMADS115*)具有生长素响应元件 AuxRR，生长素可能在烟草细胞质逆行调控细胞核中起重要作用^[31]；生长素反应因子 5 表达量在 3 个时期的茄子功能雄性不育系花蕾中都有所上调^[28]。作为跨膜蛋白，AUX1/LAX 将生长素运输到植物不同组织器官^[32]。本研究中，不同发育时期雄性不育花蕾中生长素流入载体(AUX1/LAX 家族)和生长素反应蛋白 IAA 表达量都下调表达，与生长素含量变化规律一致。推测这些基因的低水平表达影响了花粉正常的发育，导致西葫芦雄性不育花粉败育。

植物雄性生殖发展涉及到从雄蕊原基分生组织到花粉粒形成和之后的授粉过程，其中任何过程的缺陷都可以产生雄性不育，在水稻中鉴定了一个 *OsNPI* 核基因，并构建成雄性不育系，可大规模地利用^[33]。本研究差异表达基因注释到的代谢通路较多，涉及到的植物次级代谢产物及碳水化合物等一般是在花药能量储备和营养物质供应与分配中起重要作用，决定花药是否能正常发育；同时鉴定到一些在花药发育中起重要调控作用的转录因子。进一步发掘出西葫芦雄性不育关键基因并用于西葫芦杂种优势育种是今后进一步研究的方向。

参考文献

- [1] 武峻新, 申琼, 董晓飞, 侯岗. 山西省西葫芦产业发展存在的问题及对策. 山西农业科学, 2018, 46(7): 1222-1225
Wu J X, Shen Q, Dong X F, Hou G. Problems and countermeasures in the development of *Cucurbita pepo* industrialization in Shanxi. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46(7): 1222-1225
- [2] 张沙沙. 西葫芦 ZYMV 抗病基因紧密连锁分子标记的开发及育种应用. 邯郸: 河北工程大学, 2020
Zhang S S. Development of molecular markers tightly linked to resistance genes of ZYMV and their application in breeding. Handan: Hebei University of Engineering, 2020
- [3] 王凯玥. 西葫芦 PRSV-W 抗病基因紧密连锁分子标记的开发与育种应用. 邯郸: 河北工程大学, 2020
Wang K Y. Development of molecular markers tightly linked to resistance genes of Papaya Ringspot Virus-Watermelon strain (PRSV-W) and their application in breeding. Handan: Hebei University of Engineering, 2020
- [4] Xu X Y, Lu X N, Tang Z L, Zhang X N, Lei F J, Hou L P, Li M L. Combined analysis of carotenoid metabolites and the transcriptome to reveal the molecular mechanism underlying fruit colouration in zucchini (*Cucurbita pepo* L.). Food Chemistry: Molecular Sciences, 2021, 2: 100021
- [5] 李可悦, 王丹丹, 刘江涛, 申琼, 盖少杰, 武峻新. 西葫芦嫩瓜皮叶绿素合成代谢与其皮色形成的关联性研究. 植物遗传资源学报, 2024, 25(8): 1336-1346
Li K Y, Wang D D, Liu J T, Shen Q, Gai S J, Wu J X. Study on the correlation between chlorophyll synthesis metabolism and skin color formation in skin of tender fruit of Zucchini (*Cucurbita pepo* L.). Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(8): 1336-1346

- [6] 王炳琴, 李娜, 董振虎, 王萍, 张均杰. 西葫芦新品种舜禾 3065. 中国种业, 2023, 334(1): 135-137
Wang B Q, Li N, Dong Z H, Wang P, Zhang J J. A new variety Shunhe3065 of summer squash. China seed industry, 2023, 334(1): 135-137
- [7] 李海真, 张帆, 张国裕, 田佳星, 贾长才, 谢水. 西葫芦新品种京葫 42 的选育. 中国蔬菜, 2024, (3): 125-127
Li H Z, Zhang F, Zhang G Y, Tian J X, Jia C C, Xie S. A new squash F1 hybrid — 'Jinghu 42'. China Vegetables, 2024, (3): 125-127
- [8] 方智远, 刘玉梅, 杨丽梅, 王晓武, 庄木, 张扬勇, 孙培田. 甘蓝显性核基因雄性不育与胞质雄性不育系的选育及制种. 中国农业科学, 2004, (5): 717-723
Fang Z Y, Liu Y M, Yang L M, Wang X W, Zhuang M, Zhang Y Y, Sun P T. Breeding and seed production technique of dominant genic male sterile (DGMS) line and cytoplasmic male sterile (CMS) line in cabbage. Scientia Agricultura Sinica, 2004, (5): 717-723
- [9] 邹学校, 胡博文, 熊程, 戴雄泽, 刘峰, 欧立军, 杨博智, 刘周斌, 索欢, 徐昊, 朱凡, 远方. 中国辣椒育种 60 年回顾与展望. 园艺学报, 2022, 49(10): 2099-2118
Zou X X, Hu B W, Xiong C, Dai X Z, Liu F, Ou L J, Yang B Z, Liu Z B, Suo H, Xu H, Zhu F, Yuan F. Review and prospects of pepper breeding for the past 60 years in China. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2099-2118
- [10] Eisa H M, Munger H M. Male sterility in *Cucurbita pepo*. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 1968, 92: 473-479
- [11] Carle R B. Bisex sterility governed by a single recessive gene in *Cucurbita pepo* L. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 1997, 20: 46-47
- [12] Pradeepkumar T, Lekshmanan D K. Mechanism of hybrid seed production in cucurbitaceous vegetables. Euphytica, 2024, 220: 17
- [13] 柳李旺, 李冰霜, 董俊辉, 张晓莉, 王燕, 徐良. 萝卜细胞质雄性不育性遗传机制及其利用研究进展. 南京农业大学学报, 2022, 45(5): 883-897
Liu L W, Li B S, Dong J H, Zhang X L, Wang Y, Xu L. Advances on genetic mechanism and utilization of cytoplasmic male sterility in radish. Journal of Nanjing Agricultural University, 2022, 45(5): 883-897
- [14] 郭晶心, 孙日飞, 宋家祥, 张淑江. 大白菜雄性不育系小孢子发生的细胞形态学研究. 园艺学报, 2001, (5): 409-414
Guo J X, Sun R F, Song J X, Zhang S J. Microsporogenesis of several male-sterile lines in *Brassica rapa* L. ssp. Pekinensis, Acta Horticulturae Sinica, 2001, (5): 409-414
- [15] 王永琦, 杨小振, 莫言玲, 郑俊骞, 张勇, 马建祥, 李好, 张显. 西瓜雄性不育系 'Se18' 抗氧化酶活性和内源激素含量变化分析. 园艺学报, 2016, 43(11): 2161-2172
Wang Y Q, Yang X Z, Mo Y L, Zheng J J, Zhang Y, Ma J X, Li H, Zhang X. Analysis of the changes in antioxidant enzymes activities and endogenous hormones contents in watermelon male sterile line Se18 during bud development. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(11): 2161-2172
- [16] 杨志敏, 岳宏忠, 张海强, 李玉红. 黄瓜雄性不育突变体 C0128 的鉴定与不育基因的初步定位. 西北植物学报, 2022, 42(6): 0901-0908
Yang Z M, Yue Z H, Zhang H Q, Li Y H. Identification of male sterile mutant C0128 and preliminary mapping of *MS-4* gene in cucumber. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2022, 42(6): 0901-0908
- [17] 盛云燕, 常薇, 矫士琦, 戴冬洋. 甜瓜雄性不育植株雄蕊发育结构及生理生化特征. 植物生理学报, 2016, 52(7): 1028-1034
Sheng Y Y, Chang W, Jiao S Q, Dai D Y. Stamen structure development and physiological and biochemical characteristics in male sterile melon. Plant Physiology Journal, 2016, 52(7): 1028-1034
- [18] 盛云燕, 何兴佳, 戴冬洋, 曾双, 谭力. 甜瓜雄性不育两用系转录组测序与激素含量研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2018, 30(4): 18-25
Sheng Y Y, He X J, Dai D Y, Zeng S, Tan L. Study on the transcriptome sequencing and hormone content in male sterile and fertile plants in melon (*Cucumis melo* L.). Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2018, 30(4): 18-25
- [19] 王昱丹, 何兴佳, 康艺楠, 周姜睿航, 王喜庆, 盛云燕, 靳亚忠, 廉华. 甜瓜雄性不育两用系转录组分析与抗氧化酶活性研究. 农业生物技术学报, 2018, 26(2): 194-204
Wang Y D, He X J, Kang Y N, Zhou J R H, Wang X Q, Sheng Y Y, Jin Y Z, Lian H. Transcriptome analysis and study of antioxidant enzyme activities on male sterile AB lines in melon (*Cucumis melo*). Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26(2): 194-204
- [20] 王永琦. 西瓜核雄性不育两用系 Se18 不育特性的生理生化与分子机制研究. 咸阳: 西北农林科技大学, 2020
Wang Y Q. Studies on the physiological, biochemical and molecular mechanisms of the sterility characteristics of watermelon genic male sterile line Se18. Xianyang: Northwest A&F University, 2020
- [21] 许利彩, 李海真, 沈火林. 西葫芦花粉活力测定方法及最佳授粉时间的研究. 河南农业科学, 2009, (8): 120-124
Xu L C, Li H Z, Shen H L. Determination methods of pollen viability and the optimum pollination time of summer squash (*Cucurbita pepo* L.). Journal of Henan Agricultural Sciences, 2009, (8): 120-124

- [22] 李桂琴, 桂明珠. 西葫芦雄蕊与雄配子体发育的研究. 东北农业大学学报, 1997, (2): 82-88
Li G Q, Gui M Z. Studies on development of stamina and malegametophytes of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Journal of Northeast Agricultural University, 1997, (2): 82-88
- [23] 张显, 杨建强, 张进升, 张勇, 马建祥, 侯沛. Se18 西瓜雄性不育材料的植物学特征和遗传特性研究. 中国瓜菜, 2005, (5): 3-6
Zhang X, Yang J G, Zhang J S, Zhang Y, MA J X, Hou P. Studies on botanical character and genetic model of Se18 watermelon male sterile material. China Cucurbits and Vegetables, 2005, (5): 3-6
- [24] 赵玉锦, 童哲, 陈华君, 金幼菊. 内源植物激素与光敏核不育水稻农垦 58S 育性的关系. 植物学报, 1996, 38(12): 936-941
Zhao Y J, Tong Z, Chen H J, Jin Y J. Relationship between endogenous plant hormones and fertility of photosensitive nuclear sterile rice Nongken 58S. Chinese Bulletin of Botany, 1996, 38(12): 936-941
- [25] 裴红霞, 李生梅, 武旭霞, 耿世伟, 赖黎丽, 高晶霞, 董心久. 辣椒核雄性不育系 pby-1 形态学及生理生化特性分析. 新疆农业科学, 2023, 60(3): 624-632
Pei H X, Li S M, Wu X X, Gen S W, Lai L L, Gao J X, Dong X J. Morphological observation and physio-biochemical characteristics of hot pepper genic male-sterile line pby-1, Xinjiang Agricultural Sciences, 2023, 60(3): 624-632
- [26] 杨龙树, 李佳佳, 贺亭亭, 丁先龙, 张浩, 韩少怀, 盖钧镒, 杨守萍. 大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的生理生化特性比较分析. 大豆科学, 2017, 36(3): 391-398
Yang L S, Li J J, He T T, Ding X L, Zhang H, Han S H, Gai J Y, Yang S P. Comparative analysis of physiological and biochemical characteristics between cytoplasmic-nuclear male sterile line and its maintainer in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. Soybean Science, 2017, 36(3): 391-398
- [27] 宁露云. 甘蓝型油菜化学诱导的雄性不育与细胞质雄性不育分子机理的比较研究. 武汉: 华中科技大学, 2019
Ning L Y. Comparative study on the molecular mechanisms of chemical induced male sterility and cytoplasmic male sterility in brassica napus. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019
- [28] 王志敏, 袁超, 丁泽琴, 胡若琳, 牛义, 汤青林, 魏大勇, 宋明, 王永清, 田时炳. 功能雄性不育茄子差异基因及代谢途径分析. 生物工程学报, 2021, 37(1): 253-265
Wang Z M, Yuan C, Ding Z Q, Hu R L, Niu Y, Tang Q L, Wei D Y, Song M, Wang Y Q, Tian S B. Analysis of differential genes and metabolic pathway related to functional male sterility in eggplant. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(1): 253-265
- [29] 房经贵, 朱旭东, 贾海锋, 王晨. 植物蔗糖合酶生理功能研究进展. 南京农业大学学报, 2017, 40(5): 759-768
Fang J G, Zhu X D, Jia H F, Wang C. Research advances on physiological function of plant sucrose synthase. Journal of Nanjing Agricultural University, 2017, 40(5): 759-768
- [30] 高萌萌, 赵天宇, 焦馨悦, 林春晶, 关哲允, 丁孝羊, 孙妍妍, 张春宝. 大豆细胞质雄性不育系及其恢复系的比较转录组分析. 生物技术通报, 2024, 40(7): 137-149
Gao M M, Zhao T Y, Jiao X Y, Lin C X, Guan Z Y, Ding X Y, Sun Y Y, Zhang C B. Comparative transcriptome analysis of cytoplasmic male sterile line and its restorer line in soybean. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(7): 137-149
- [31] 崔芳芳, 孟林峰, 刘苗苗, 张建强, 王建革, 刘齐元. 烟草细胞质雄性不育系 K326 *MADS-box* 和 *SUPERMAN* 基因的特征. 作物学报, 2023, 49(12): 3204-3214
Cui F F, Meng L F, Liu M M, Zhang J Q, Wang J G, Liu Y Q. Characteristics of *MADS-box* and *SUPERMAN* genes in tobacco cytoplasmic male sterile line K326. Acta Agronomica Sinica, 2023, 49(12): 3204-3214
- [32] 杨影. 山核桃 AUX/LAX 家族基因克隆及其在非生物胁迫下的表达分析. 临安: 浙江农林大学, 2020
Yang Y. Gene cloning of Chinese hickory AUX/LAX family and its expression analysis under abiotic stress. Linan: Zhejiang A&F University, 2020
- [33] Chang Z Y, Chen Z F, Wang N, Xie G, Lu J W, Yan W, Zhou J L, Tang X Y, Deng X W. Construction of a male sterility system for hybrid rice breeding and seed production using a nuclear male sterility gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(49), 14145-14150