

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2024.0449

茄子反向温敏雄性不育系内源激素含量及相关基因表达分析

张敬敬, 李冰, 高秀瑞, 田鹏, 刘伟, 赵鑫泽, 刘会茹, 潘秀清, 武彦荣

(河北省农林科学院经济作物研究所 石家庄 050051)

摘要: 雄性不育对杂交育种至关重要, 挖掘茄子雄性不育关键候选基因有助于定向改良不育材料。以长茄温敏型雄性不育系 05ms 及其同源可育系 S63 为材料, 对不育系 05ms 和可育系 S63 减数分裂时期(II)的花药进行转录组测序, 并对 05ms 春季低温不育(ML)和夏季高温可育(MH)阶段的花粉母细胞时期(I)、减数分裂期(II)、小孢子时期(III)和成熟花粉粒(IV) 4 个花药发育时期的内源激素含量进行检测。结果表明, 差异表达基因主要富集在戊糖和葡萄糖酸酯的转化、类胡萝卜素的生物合成和植物激素信号转导等代谢通路, *Smechr0702283*、*Smechr0801802*、*Smechr0600105*、*Smechr0802213*、*Smechr0302844*、*Smechr0601316*、*Smechr0401804* 等基因为茄子温敏雄性不育的关键调控基因, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)结果表明, 转录组数据可靠。激素代谢物检测结果表明, 生长素类激素 ICAld 和乙烯前体 ACC 含量在 4 个时期中 ML 均显著高于 MH, 而 ML 的生长素 IAA 含量低于 MH。从代谢水平和转录水平解析了茄子花药的败育机制, 研究结果为进一步揭示茄子温敏雄性不育调控机制奠定了理论基础。

关键词: 茄子; 转录组; 代谢组; 温敏雄性不育; 激素

中图分类号: S641.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)11-027-11

Analysis of endogenous hormones content and related gene expression in reverse thermo-sensitive genic male sterile line of eggplant

ZHANG Jingjing, LI Bing, GAO Xiurui, TIAN Peng, LIU Wei, ZHAO Xinze, LIU Huiru, PAN Xiuling, WU Yanrong

(Institute of Cash Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, Hebei, China)

Abstract: Male sterility is crucial for hybrid breeding, and digging key candidate genes for male sterility of eggplant is helpful to directional improvement of male sterile materials. In this experiment, using the thermo-sensitive male sterile line 05ms and the fertile line S63 as experimental materials, transcriptome sequencing was performed on the anthers of sterile line 05ms and fertile line S63 at meiosis stage(II), and the endogenous hormone contents of the pollen mother cell stage(I), meiosis stage(II), microspore stage(III) and mature pollen grain stage(IV) of 05ms under low-temperature sterility period(ML) in spring and high-temperature fertility period(MH) in summer were detected. The results showed that differential expressed genes were mainly concentrated in the metabolic pathways of pentose and gluconate conversion, carotenoid biosynthesis and plant hormone signal transduction. The key regulatory genes of thermo-sensitive male sterility in eggplant, such as *Smechr0702283*, *Smechr0801802*, *Smechr0600105*, *Smechr0802213*, *Smechr0302844*, *Smechr0601316*, *Smechr0401804*, were identified by qRT-PCR, which confirmed the reliability of the transcriptome data. The results of hormone metabolite detection showed that the content of auxin hormone ICAld and ethylene precursor ACC in ML were significantly higher than those in MH at all of the four stages, while the content of auxin IAA in ML were lower than those in MH. The author analyzed the mechanism of anther abortion in eggplant at the metabolism and transcription level, which laid a theoretical foundation for further revealing the regulatory mechanism of thermo-sensitive male sterility in eggplant.

Key words: Eggplant; Transcriptomic; Metabolomic; Thermo-sensitive male sterility; Hormone

收稿日期: 2024-07-20; 修回日期: 2024-09-03

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2023301109); 河北省省级科技计划资助项目(21326309D); 河北省露地蔬菜创新团队项目(HBCT2024140202); 河北省农林科学院现代农业科技创新专项课题资助项目(2022KJXCZX-JZS-2)

作者简介: 张敬敬, 女, 副研究员, 主要从事茄子、西瓜育种研究。E-mail: 1109jing@163.com

通信作者: 武彦荣, 女, 研究员, 主要从事茄子、西瓜和甜瓜育种、栽培研究及推广工作。E-mail: wuyanrong-68@163.com

茄子(*Solanum melongena* L.)属茄科茄属作物,是我国主要的蔬菜之一。我国茄子的栽培面积占世界42%以上,是茄子种植面积最大的国家^[1]。茄子具有较强的杂种优势,生产中使用的杂交种多采用人工去雄方法获得。人工去雄不仅成本高、劳动强度高,而且存在去雄不彻底的情况,影响杂交种纯度和质量^[2]。茄子雄性不育系是杂种优势利用的重要工具,可以简化制种程序、提高种子纯度、降低制种成本^[3],具有重要的生产应用价值。

植物内源激素对雄性不育的发生起着重要的调节作用,对雄蕊和花粉发育具有重要影响^[4-6]。已有研究表明,茄子雄性不育发生常伴有内源激素含量变化,郭丽娟等^[7]测定不育系和保持系花蕾不同发育阶段的生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)和玉米素核苷(ZR)含量,结果表明,不育系和保持系存在明显不同。Yuan等^[8]采用转录组测序的方法研究茄子雄性不育,KEGG结果表明,差异表达基因聚集到激素代谢通路。Wang等^[9]通过测定茄子不育系和可育系茉莉酸(JA)、IAA、GA和ABA含量,发现IAA、GA和ABA含量存在显著差异。但目前关于茄子反向温敏雄性不育系(rTGMS

系)内源激素的研究还鲜有报道,温度对不育系花药中内源激素的代谢有待进一步研究。反向温敏雄性不育在低温条件下不育,高温条件下可育。水稻中J207S是一个反式温敏核雄性不育(rTGMS)材料,表现为在低温下不育,高温下可育^[10]。反向温敏雄性不育为两系法育种开辟了新的路径。鉴于此,笔者采用转录组测序和代谢组对茄子反向温敏雄性不育系05ms进行研究,旨在探讨茄子rTGMS系05ms响应温度的内源激素代谢特点,挖掘相关的关键候选基因,丰富茄子雄性不育的理论内容,为加快茄子两系杂交育种进程奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以河北省农林科学院经济作物研究所瓜类室创制的长茄温敏雄性不育系05ms和可育系S63为试验材料(图1)。不育系05ms的原始株由S63品系中自然突变而来。当日最低气温低于18℃时雄蕊败育,无花粉;当日最低气温高于19.5℃时,雄蕊完全恢复正常,具有成熟花粉粒。试验材料于2022—2023年种植于河北省农林科学院经济作物



图1 茄子试验材料

Fig. 1 Experimental materials of eggplant

研究所试验园区,每年1月上旬温室穴盘育苗,3月20日左右定植于试验园区大棚,行距80 cm,株距45 cm,高垄栽培,双秆整枝,常规管理。

1.2 RNA-seq 测序

1.2.1 测序样品的采集 分别采集雄性不育材料05ms低温阶段(ML)、高温阶段(MH)和可育材料S63低温阶段(CL)和高温阶段(CH)减数分裂时期的花药,每个样品取0.3 g,设置3次重复,共12个样品,取样后放入2 mL的PE管中,液氮速冻,保存于-80℃冰箱备用。

1.2.2 转录组测序分析 委托诺禾致源生物科技有限公司开展茄子花药RNA提取和测序,构建测

序文库并进行质量检测,利用Illumina HiSeq 4000测序平台进行样品转录组测序。使用诺禾云平台进行生物信息学分析,所测数据以茄子基因组为参考基因组(<http://eggplant-hq.cn/Eggplant/home/index>)进行比对分析,差异表达基因通过DESeq2-edgeR软件进行筛选与检测,再利用GOseq R和KOBAS软件包对获得的差异基因进行GO富集分析、KEGG富集分析。

1.2.3 实时荧光定量PCR验证差异表达基因 随机挑选6个差异基因进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)验证,采用赛诺生物SN0309植物总RNA提取试剂盒提取不育材料05ms和可育材料

S63 花药的 RNA,再用康为试剂 Cat# CW2582MH-iFiScriptT 快速去除基因组,利用 cDNA 第一条链合成试剂盒进行反转录,合成 cDNA 后作为模板,最后采用 UltraSYBR Mixture 试剂,以 β -actin 基因作为内参基因,在 ABI7500 (Applied Biosystems,

USA)实时荧光定量 PCR 仪上进行 qRT-PCR,每个基因设置 3 次生物学重复,按以下程序进行:95 °C, 15 min; 40 个 PCR 循环(95 °C, 10 s; 58 °C, 30 s; 72 °C, 30 s)。荧光定量数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量计算,各引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequence of qRT-PCR

基因 Gene	正向引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')	扩增片段长度 Amplified fragment length/bp
β -actin	AGCTCAGTCTAAAAGAGGTA	TGTAATAATGTATGATGCCAA	104
<i>Smechr0100159</i>	ATCAGTCAAATGCTCCGTCAT	TCAAATACTTAGCTCGCACCAC	145
<i>Smechr0100790</i>	ATCTCGACTGGGACCCTCTTC	CTCACCTCAAATCTCATCTTAAAC	144
<i>Smechr0100692</i>	TGATCTTCTTTTGCCTGGTAC	TCCTCTTGCTTGACTTTCTGA	129
<i>Smechr0303640</i>	GCACCAGCTACCATTTCTGT	TATGTCTGTTCTCGCCTCA	150
<i>Smechr1201595</i>	GATTGTGTATGGGAAGTGATG	AGCTGAGGAAGAAGGGTTTG	197
<i>Smechr0701288</i>	AGGCTCGGTTTGATGCTTT	CTTTGCCGCTTTTGTCGC	167

1.3 内源激素检测

1.3.1 检测样品的采集 采集不育材料 05ms 低温阶段(ML)和高温阶段(MH)的花粉母细胞时期(I)、减数分裂时期(II)、小孢子时期(III)和成熟花粉粒时期(IV)的花药,分别命名为 ML1~ML4 和 MH1~MH4,每个样品取 0.5 g,设置 3 次重复,共 24 个样品,取样后放置 2 mL 带封口 PE 管中,液氮速冻,保存于-80 °C冰箱备用。

1.3.2 内源激素代谢物的检测 委托迈维代谢生物科技有限公司开展茄子花药激素代谢物的提取和检测。将样品用研磨仪(MM400, Retsch)在 30 Hz 条件下研磨 1 min 至粉末状,称取 50 mg 研磨后的样本,加入适量内标,用 1 mL 甲醇/水/甲酸(15:4:1, v/v/v)进行提取,提取液浓缩后用 100 μ L 80%甲醇溶液复溶,过 0.22 μ m 滤膜,置于进样瓶中,用于 LC-MS/MS 分析。样品提取液使用超高效液相色谱(UPLC, ExionLC™ AD, <https://sciex.com.cn/>)和串联质谱(MS/MS, QTRAP® 6500+, <https://sciex.com.cn/>)进行检测,液相条件主要包括色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 柱(1.8 μ m, 100 mm \times 2.1 mm i.d.);流动相:A 相,超纯水(加入 0.04%的乙酸);B 相,乙腈(加入 0.04%的乙酸);梯度洗脱程序:0 min A/B 为 95:5(V/V),1.0 min A/B 为 95:5(V/V),8.0 min 为 5:95(V/V),9.0 min 为 5:95(V/V),9.1 min 为 95:5(V/V),12.0 min 为 95:5(V/V);流速 0.35 mL \cdot min⁻¹;柱温 40 °C;进样量 2 μ L。质谱条件主要包括:电喷雾离子源(ESI)温度 550 °C,正离子模式下质谱电压 5500 V,负离子模式下质谱电压-4500 V,气帘气(CUR)35 psi。在 Q-Trap

6500+中,每个离子对根据优化的去簇电压(DP)和碰撞能(CE)进行扫描检测。

2 结果与分析

2.1 基于 RNA-seq 测序结果分析

2.1.1 差异基因分析 RNA-seq 检测 24 个样本,共获得 83.69 Gb 高质量 Clean data 数据,Q30 在 92%以上,GC 含量在 41%~43%之间,基因组比对率在 90%以上。采用 DESeq2 软件对基因表达进行差异分析,以 $|\log_2(\text{FoldChange})| \geq 2$ 和 $p\text{-value} \leq 0.05$ 为标准,筛选差异表达基因(DEG)。由图 2 可知,不育材料 05ms 在低温不育和高温可育中筛选出 3965 个 DEGs,其中 1154 个上调,2811 个下调(图 2-A);可育材料 S63 在低温和高温条件下筛选出 7555 个 DEGs,其中 2754 个上调,4801 个下调(图 2-B);低温条件下不育材料 05ms 和可育材料 S63 中筛选出 2439 个 DEGs,其中 1177 个上调,1262 个下调(图 2-C);高温条件下不育材料 05ms 和可育材料 S63 中筛选出 4099 个 DEGs,其中 1811 个上调,2288 个下调(图 2-D)。

通过比对不育材料和可育材料在低温和高温条件下的差异基因(图 3),可知不育材料在低温不育和高温可育条件下(ML vs MH)和低温条件下两材料(ML vs CL)组合共同的 DEGs 有 754 个,这些基因可能与育性有关;除去和可育条件下的两组合(MH vs CH)和(CL vs CH)中共有的 508 个 DEGs 后,剩下的 246 个 DEGs 即是与茄子温敏雄性不育相关的候选基因。

2.1.2 DEGs 的 GO 富集分析 利用 GO(Gene On-

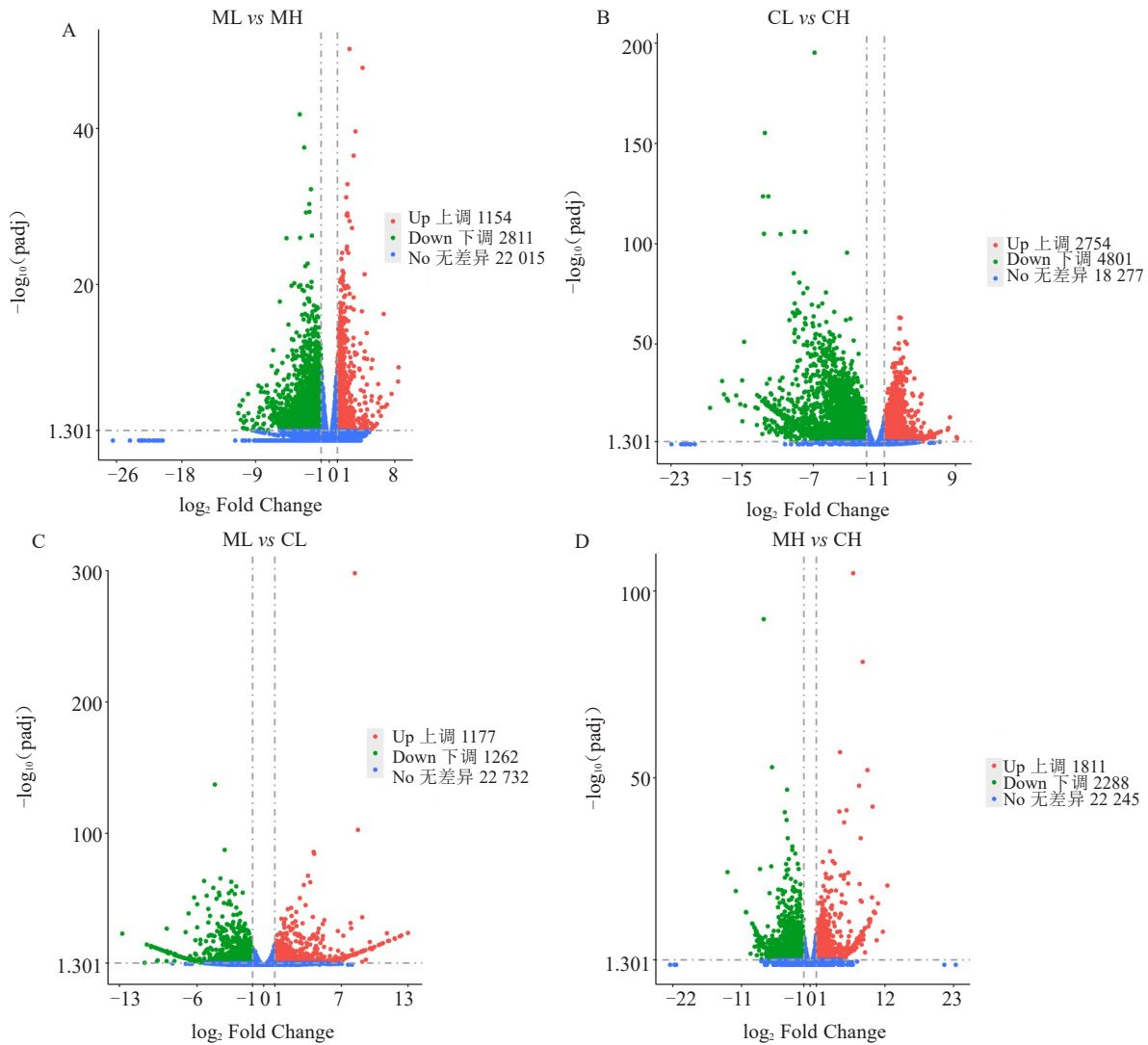


图2 不同组合间的 DEGs 火山图

Fig. 2 Volcano map of DEGs between different comparisons

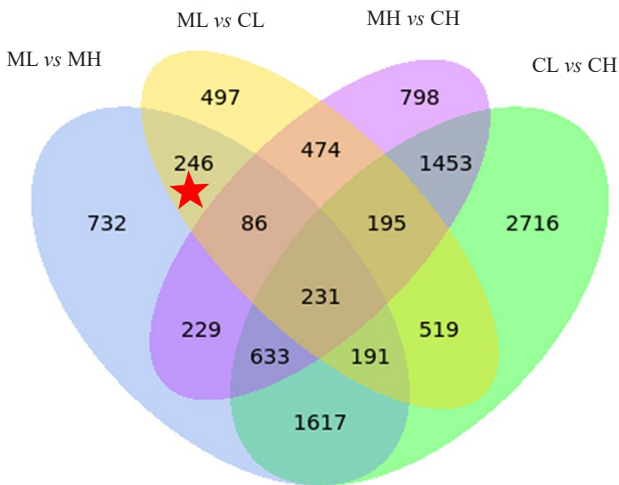


图3 不同组合间 DEGs 韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of DEGs among different combinations

tology)数据库对获得的 246 个差异基因进行富集分析,DEGs 被注释在生物学过程(biological process)、细胞组分(cellular compent)及分子功能(molecular function)3 大功能方面,分别对这 3 大功能富集程度高的前 10 个 GO 条目作柱形图(图 4),生物学过程类 DEGs 富集在胺代谢过程(amine metabolic process, 2 个)、磷脂信号转导系统(phosphorelay signal transduction system, 2 个)、金属离子运输(metal ion transport, 1 个)等条目;细胞组分类 DEGs 富集在微管复合物(microtubule associated complex, 1 个)、光系统(photosystem, 2 个)、光合膜(photosynthetic membrane, 2 个)等条目;分子功能类 DEGs 富集在 DNA 结合转录因子活性(DNA-binding transcription factor activity, 10 个)、转录调节活性(transcription regulator activity, 10 个)、DNA 结合序列特异性(sequence-specific DNA binding, 6 个)、转移酶活性(transferase activity, 6 个)等条目。

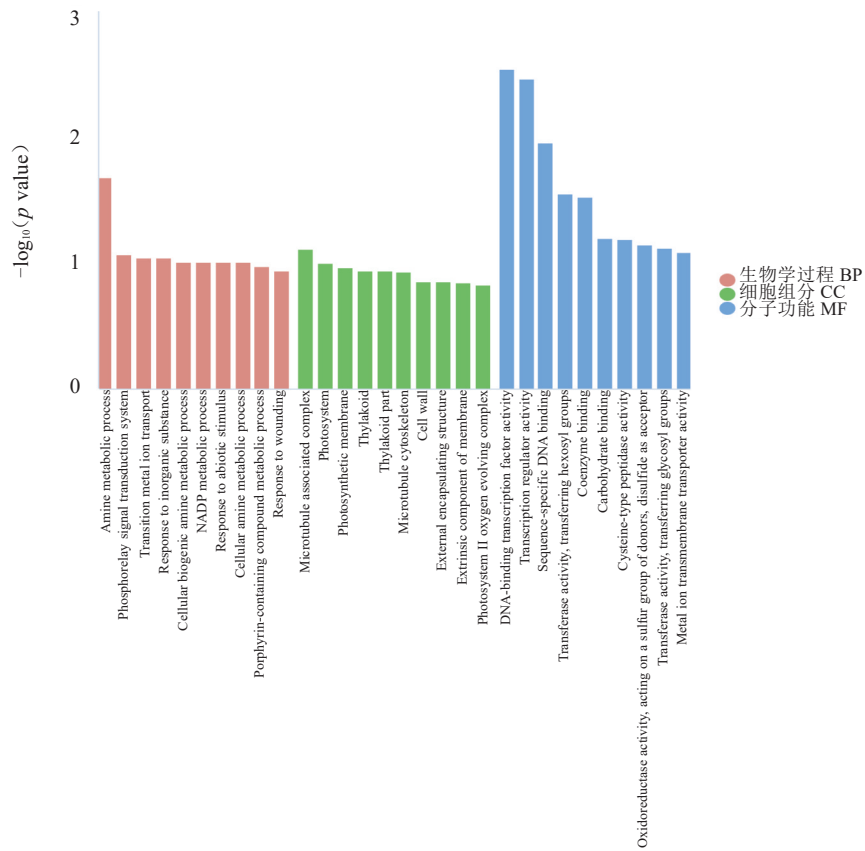


图 4 246 个 DEGs 的 GO 富集分析
Fig. 4 GO enrichment analysis of 246 DEGs

2.1.3 DEGs 的 KEGG 富集分析 利用 KEGG 数据库,246 个差异基因被富集到 41 条代谢通路中,选择富集程度前 20 条代谢通路进行散点作图(图 5),差异基因主要在戊糖和葡萄糖酸酯的转化(5

个)、类胡萝卜素的生物合成(2 个)、植物激素信号转导(5 个)、类黄酮代谢(2 个)等通路富集,其中戊糖和葡萄糖酸酯的转化(sly00040)、类胡萝卜素的生物合成(sly00906)通路显著富集。前期研究已对

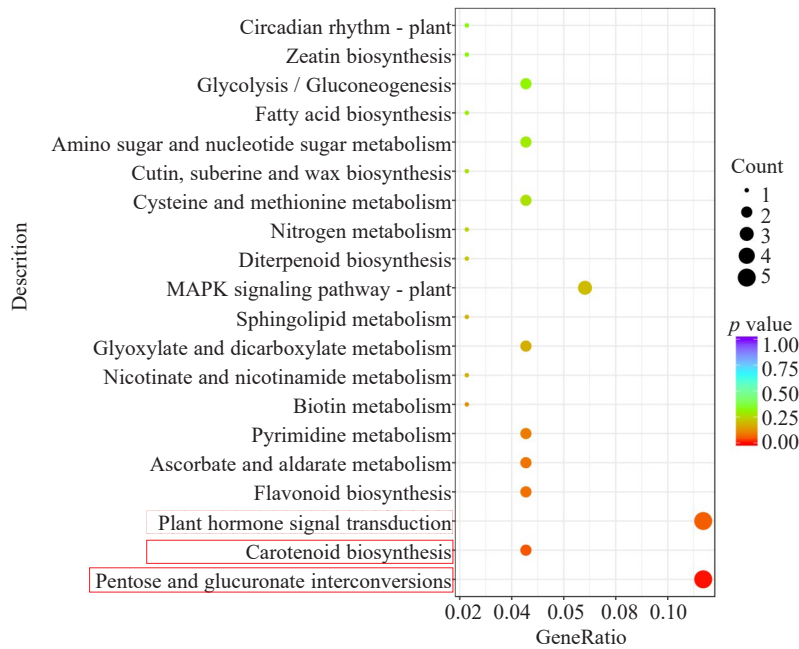


图 5 246 个 DEGs 的前 20 条 KEGG 功能分类
Fig. 5 Top 20 KEGG functional classifications of 246 DEGs

戊糖和葡萄糖酸酯的转化(sly00040)代谢通路进行了分析,现对类胡萝卜素的生物合成(sly00906)代谢通路进行分析。

2.1.4 类胡萝卜素生物合成和植物激素信号转导通路 DEGs 分析 通过分析类胡萝卜素生物合成途径(图6),发现2个差异基因(*Smechr0702283*和*Smechr0801802*)在不育材料05ms中下调表达,主要

负责调控下游脱落酸(abscisic acid)代谢产物红花菜豆酸(phaseic acid)积累。脱落酸属于植物激素之一,与植物激素信号转导代谢路径有关。经分析,5个差异基因(*Smechr0600105*、*Smechr0802213*、*Smechr0302844*、*Smechr0601316*和*Smechr0401804*)被富集到植物激素信号转导路径(图7),基因*Smechr0600105*和*Smechr0802213*与细胞生长素(aux-

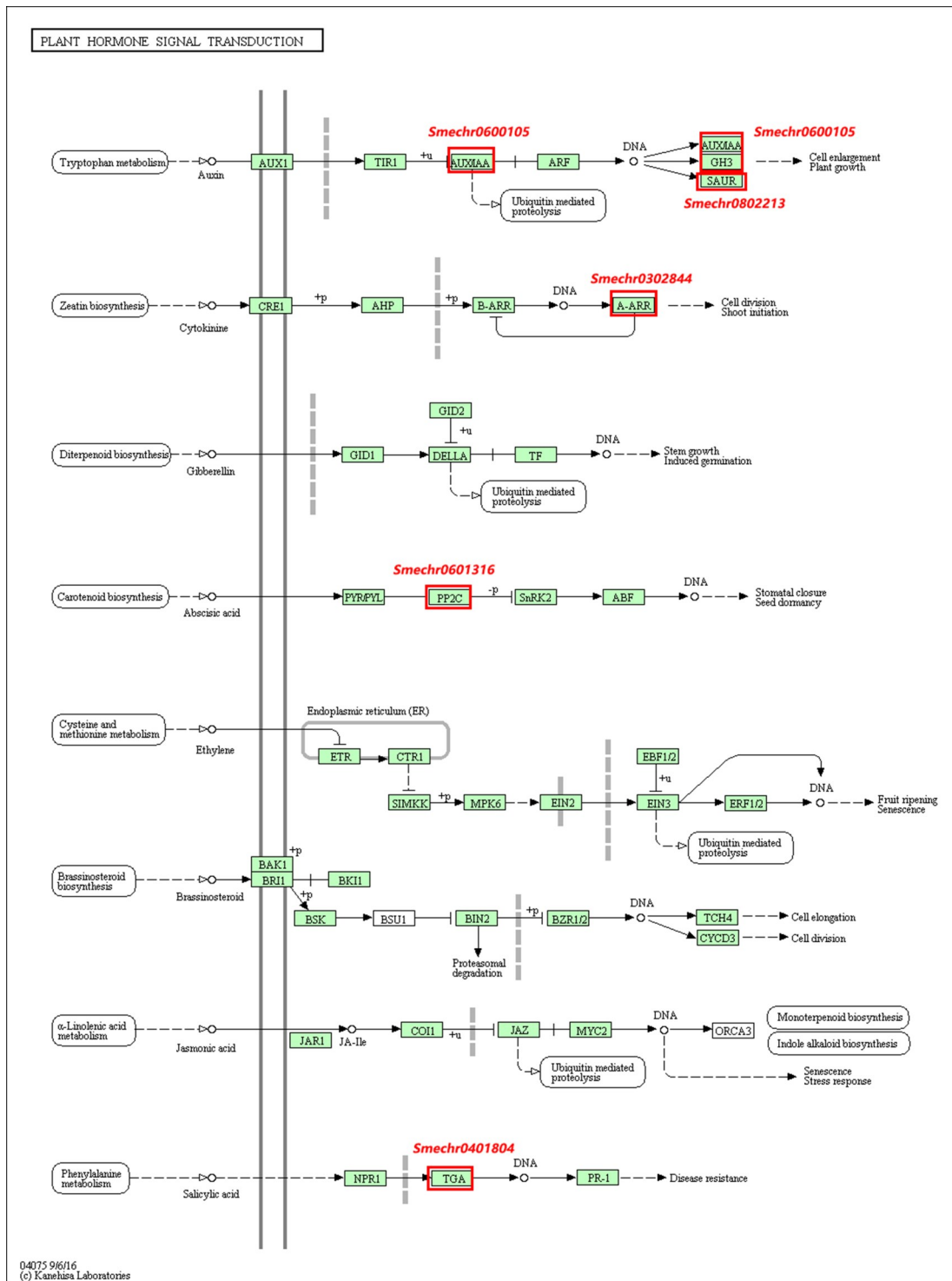


图7 植物激素信号转导路径中的差异表达基因

Fig. 7 DEGs in the plant hormone signal transduction pathway

in)相关,基因 *Smechr0302844* 与细胞分裂素(cytokinin)相关,基因 *Smechr0601316* 与脱落酸相关,基因 *Smechr0401804* 与水杨酸(salicylic acid)相关。

类胡萝卜素生物合成和植物激素信号转导通路的 7 个 DEGs 表达量见表 2, *Smechr0702283*、*Smechr0801802*、*Smechr0600105*、*Smechr0302844* 和 *Smechr0401804* 基因在低温阶段的不育材料 05ms 中均下调表达, *Smechr0802213* 和 *Smechr0601316* 基因在 05ms 中上调表达。 *Smechr0600105* 基因在低温阶段可育材料 S63 中的表达量是 05ms 的 40.94 倍,该基因在 05ms 中高温阶段表达量是低温阶段的 65.08 倍。

2.1.5 实时荧光定量 PCR 验证 为了验证转录组差异表达基因的准确性,随机挑选 6 个差异表达基因进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)验证,对转录组数据(RNA-seq)和 qRT-PCR 的结果进行相关性分析,低温阶段相关性系数为 0.860 7(图 8-A),高温阶段相

表 2 7 个差异基因相对表达量

Table 2 The relative expression levels of 7 differential genes

基因 Gene	ML_fpkm	MH_fpkm	CL_fpkm	CH_fpkm
<i>Smechr0702283</i>	1.482 1	4.909 5	5.854 6	3.219 5
<i>Smechr0801802</i>	0.018 8	0.502 5	0.359 3	0.045 9
<i>Smechr0600105</i>	0.063 8	4.152 1	2.611 9	2.774 4
<i>Smechr0802213</i>	9.300 5	3.302 5	3.385 5	1.732 5
<i>Smechr0302844</i>	3.319 9	12.521 7	9.154 0	10.249 8
<i>Smechr0601316</i>	7.753 5	2.512 3	2.813 7	1.268 0

关性系数为 0.883 0(图 8-B),表明转录组数据可靠。

2.2 激素代谢组结果分析

植物激素在花粉败育方面起重要作用。由于转录组研究发现脱落酸和生长素通路差异表达基因较多,为了更清楚地了解茄子温敏雄性不育代谢机制,笔者分析了不育材料 05ms 在低温和高温阶段花粉母细胞时期(I)、减数分裂期(II)、小孢子时期(III)和成熟花粉粒时期(IV)4 个花药发育时期中

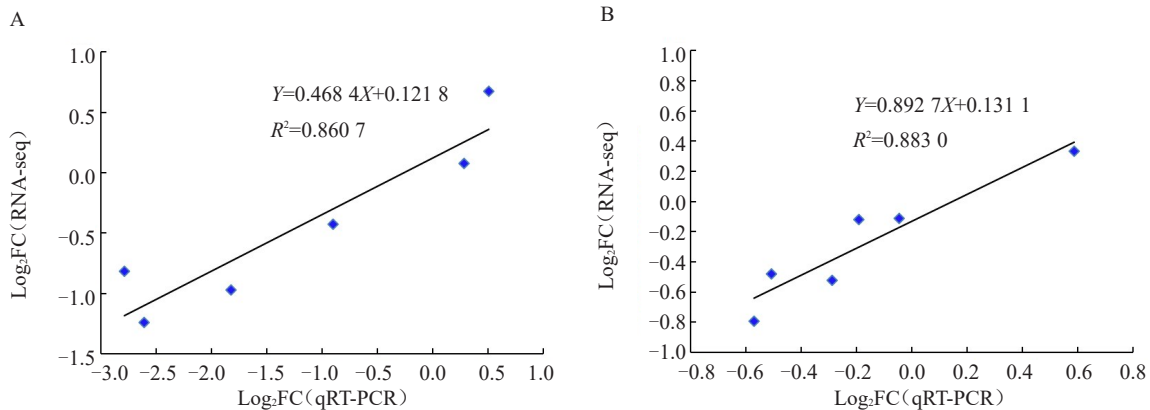


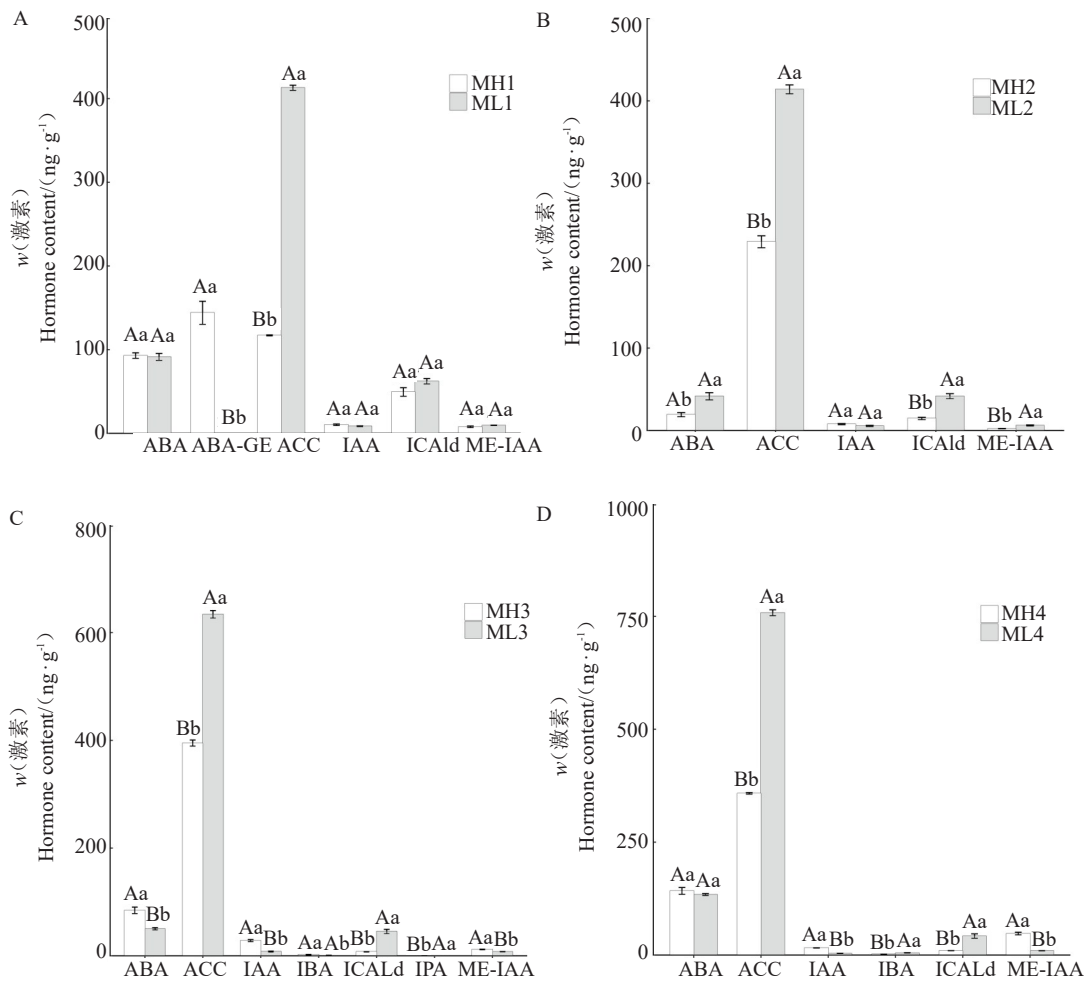
图 8 RNA-seq 和 qRT-PCR 相关性分析

Fig. 8 The correlation analysis results between RNA-seq and qRT-PCR

生长素、脱落酸和乙烯 3 类代谢物。结果表明(图 9),在低温和高温阶段共检测到吲哚-3-甲醛(ICAlD)、吲哚-3-乙酸甲酯(ME-IAA)、吲哚-3-乙酸(IAA)、吲哚-3-丁酸(IBA)、3-吲哚丙酸(IPA)等 5 种生长素;脱落酸(ABA)、脱落酸葡萄糖酯(ABA-GE)等 2 种脱落酸和 1 种乙烯中的 1-氨基环丙烷羧酸(ACC)。其中,生长素类的 IAA、ICAlD、ME-IAA,以及脱落酸类的 ABA 和 ACC 这 5 种激素在低温和高温阶段的 4 个时期均有检出;生长素类的 IBA 在低温和高温阶段的 III 和 IV 时期有检出,IBA 含量(w,后同)在低温阶段 III 时期为 0.95 ng·g⁻¹、IV 时期为 4.83 ng·g⁻¹,呈上升趋势,而在高温阶段 III 时期为 2.23 ng·g⁻¹、IV 时期为 1.74 ng·g⁻¹,呈下降趋

势;IPA 只在低温不育阶段 III 时期有检出,含量为 0.5 ng·g⁻¹;脱落酸类的 ABA-GE 只在高温可育阶段的 I 时期有检出,含量为 144 ng·g⁻¹。

在 I 时期(图 9-A),低温阶段 ACC 含量为 413.00 ng·g⁻¹,显著高于高温阶段,是高温阶段的 3.53 倍;在 II 时期(图 9-B),低温阶段 ICAlD、ME-IAA 和 ACC 含量极显著高于高温阶段,依次为高温阶段的 2.85、2.67 和 1.81 倍,低温阶段 ABA 含量显著高于高温阶段;在 III 时期(图 9-C),低温阶段 ICAlD 含量为 41.6 ng·g⁻¹,是高温阶段的 6.16 倍(高温阶段含量为 7.34 ng·g⁻¹),低温阶段的 ACC 和 ICAlD 含量极显著高于高温阶段,而 ABA、IAA 和 ME-IAA 在低温阶段的含量极显著低于高温阶段;



注:A~D 分别代表花粉母细胞时期、减数分裂期、小孢子时期和成熟花粉粒时期的内源激素含量。不同大写、小写字母分别表示在 0.01 水平和 0.05 水平差异显著。

Note: A-D represents endogenous hormone content of pollen mother cell stage (I), meiosis stage (II), microspore stage (III) and mature pollen grain stage (IV), respectively. Different capital and small letters indicate significant difference at 0.01 and 0.05 level, respectively.

图 9 低温和高温阶段 05ms 在 4 个时期的内源激素含量

Fig. 9 Endogenous hormone content in 05ms during four stages of low and high temperature stage

在 IV 时期(图 9-D),ME-IAA 和 IAA 在低温阶段的含量极显著低于高温阶段,分别为高温阶段的 22%和 20%,而 ACC、IBA 和 ICAld 在低温阶段的含量极显著高于高温阶段,分别是高温阶段的 2.12、2.78 和 4.35 倍。

3 讨论与结论

植物内源激素的平衡对生长发育至关重要,可以维持正常的生理活动,保证植物正常发育^[1]。目前已有研究表明,植物激素对雄性不育的发生同样起着重要的调节作用^[12]。本研究结果表明,在 05ms 和 S63 不同材料的 ML 和 MH 阶段存在 5 个与植物激素信号转导代谢通路相关的 DEGs,其中 *Smechr0600105* 基因为调控生长素/吲哚乙酸(AUX/IAA)基因,*Smechr0600105* 基因在不育材料 05ms

低温不育阶段下调表达。在没有生长素的情况下,AUX/IAA 与 ARF 结合,ARF 对下游基因的调控能力被抑制,生长素信号通路关闭;加入生长素后,AUX/IAA 蛋白被泛素蛋白酶途径降解,释放出 ARF,ARF 对下游基因的调控能力恢复,下游的生长素响应基因表达发生改变,生长素信号被打开^[13]。*Smechr0802213* 基因参与调控生长素中的 SAUR 基因,该基因在不育材料 05ms 低温不育阶段上调表达。SAUR 基因家族是生长素响应中最大的家族^[14],Kathare 等^[15]研究表明,SAUR 表达量升高干扰生长素正常运输,负向调节生长素运输。*ASUR62/75* 与其相互作用蛋白 RPL12 在花粉管生长和核糖体组装中发挥重要作用^[16]。*Smechr0601316* 基因为调控脱落酸 ABA 途径中的 PP2C 基因,该基因在 05ms 低温不育阶段上调表

达。ABA受体 *PYL* 和下游复合体 *PP2C/SnRK2* 共同传递 ABA 诱导的低温信号。*PP2C* 编码蛋白磷酸酶,通过催化低温蛋白的磷酸化和去磷酸化反应来调控植物的逆境信号途径^[17]。*Smechr0302844* 基因是调控细胞分裂素(CKs)代谢路径中的 *A-ARR* 基因,*Smechr0401804* 基因则是调控水杨酸(SA)代谢路径中的 *TGA* 基因,这两个基因在 05ms 低温不育阶段下调表达。

目前已有研究表明,植物内源激素如 IAA、ABA、GA、JA、ZR 等含量的过高或过低会引起植物的雄性不育^[18-24]。本研究中对茄子 rTGMS 系 05ms 在低温不育和高温可育阶段的花药(4 个时期)进行了靶向激素检测,结果表明,乙烯类激素 ACC 含量在 4 个时期中 ML 均极显著高于 MH,生长素类激素 ICA1d 含量在 4 个时期中 ML 高于 MH,且在 II、III、IV 时期显著高于 MH,而生长素 IAA 含量 ML 低于 MH,且在 III 和 IV 时期呈极显著差异。这与前人在西瓜^[22]、芝麻^[25]、玉米^[26]等不育系中发现的 IAA 含量低于可育系的结果一致,IAA 的亏损可能破坏了植物维管束的正常发育,影响营养物质在花药中的正常分配,导致花药败育。本试验中生长素 IAA 在 ML 中含量低而生长素类激素 ICA1d 含量高,可能由于 IAA 降解生成大量 ICA1d。胡一兵等^[27]在生长素与乙烯信号途径及其相互关系的研究进展中指出,生长素能促进乙烯的合成,乙烯也能引起植物体内生长素含量的升高,乙烯反应更有可能位于生长素途径的上游,乙烯对生长素的影响应该是发生在生长素的合成或分解过程中,或者是在生长素的极性运输层面上。本试验中测定的内源激素 ACC 属于乙烯类激素,其含量与生长素 ICA1d 含量存在协同关系,与胡一兵等^[27]的研究结果一致。

联合分析转录组和代谢组结果,低温不育阶段 05ms 中生长素 IAA 含量低于高温可育阶段,低温不育阶段 *Smechr0600105*(*Aux/IAA*)基因在 05ms 中的表达量为 0.063 8,几乎为 0。这可能是在低浓度生长素 IAA 水平下,ARF 蛋白通过与 Aux/IAA 结构域 III 和 IV 互作使其被招募到含有生长素响应元件(AuxRE, TGTCTC)基因的启动子上,由于 Aux/IAA 蛋白的结构域 I 中包含 EAR 结构域,通过该结构域 Aux/IAAs 可以招募共抑制子 TPL 并形成高级复合物,促进转录的抑制^[28],进而抑制植物细胞增长,影响花药发育,从而引发败育。低温不育阶段 *Smechr0802213*(*SAUR*)基因在 05ms 中上调表达,*SAUR* 表达量升高,干扰生长素正常运输,负向

调节生长素运输,导致低温阶段生长素 IAA 含量低于高温阶段。*Smechr0601316*(*PP2C*)基因为 ABA 代谢路径的关键调控基因,在 05ms 中的低温阶段上调表达;而减数分裂时期脱落酸 ABA 含量在低温阶段高于高温阶段,ABA 受体 *PYL* 和下游复合体 *PP2C/SnRK2* 共同传递 ABA 诱导的低温信号,使 *PP2C* 基因表达上调,最终影响气孔闭合代谢路径,这可能是花药败育的原因之一。上述研究结果表明内源激素代谢对花药发育具有重要影响。

综上所述,茄子温敏雄性不育系 05ms 通过响应戊糖和葡萄糖酸酯的转化、类胡萝卜素的生物合成和植物激素信号转导等通路相关基因的表达,进而调控茄子花药发育。下一步,笔者将对水杨酸代谢路径中的 *TGA* 基因进行深入研究,以期为进一步揭示茄子温敏雄性不育调控机制奠定理论基础。

参考文献

- [1] 刘富中,舒金帅,张映,等.“十三五”我国茄子遗传育种研究进展[J].中国蔬菜,2021(3):17-27.
- [2] 李冰,潘秀清,武彦荣,等.茄子雄性不育应用基础研究进展[J].中国瓜菜,2020,33(3):1-5.
- [3] 何长征,萧浪涛,刘志敏,等.植物激素与雄性不育关系的研究进展[J].中国农学通报,2002,18(3):65-69.
- [4] 裴红霞,李生梅,武旭霞,等.辣椒核雄性不育系 pby-1 形态学及生理生化特性分析[J].新疆农业科学,2023,60(3):624-632.
- [5] 何德鑫,李志刚,赵丽梅,等.大豆不育系内源激素及基因表达与衰老的关系[J].大豆科学,2020,39(2):205-211.
- [6] 洪奔,陶建敏,农慧兰,等.‘阳光玫瑰’雄性不育株花蕾发育期抗氧化酶活性和内源激素含量的变化[J].西北植物学报,2022,42(3):444-452.
- [7] 郭丽娟,申书兴,陈雪平,等.茄子雄性不育系花蕾内源激素研究[J].植物遗传资源学报,2006,7(4):434-436.
- [8] YUAN C, ZHANG S W, HU R L, et al. Comparative transcriptome analysis provides insight into the molecular mechanisms of anther dehiscence in eggplant (*Solanum melongena* L.)[J]. Genomics, 2021, 113(2):497-506.
- [9] WANG Z M, YUAN C, ZHANG S W, et al. Screening and interaction analysis identify genes related to anther dehiscence in *Solanum melongena* L. [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 648193.
- [10] JIA J H, ZHANG D S, LI C Y, et al. Molecular mapping of the reverse thermo-sensitive genic male-sterile gene (*rtms1*) in rice[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(4):607-612.
- [11] 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[D].陕西杨陵:西北农林科技大学,2020.
- [12] MIN L, LI Y Y, HU Q. Sugar and auxin signaling pathways respond to high-temperature stress during anther development as revealed by transcript profiling analysis in cotton[J]. Plant Physiology, 2014, 164(3):1293-1308.
- [13] GUILFOYLE T J, HAGEN G. Auxin response factors[J]. Cur-

- rent Opinion in Plant Biology, 2007, 10(5):453-460.
- [14] 季雨佳,赵琳.植物生长素响应基因 *SAUR* 的功能及其在大豆中的研究进展[J].大豆科技,2024(1):32-38.
- [15] KATHARE P K, DHARMASIRI S, DHARMASIRI N. *SAUR53* regulates organ elongation and apical hook development in *Arabidopsis*[J]. Plant Signaling and Behavior, 2018, 13 (10) : e1514896.
- [16] HE S L, HSIEH H L, JAUH G Y, et al. Small auxin up RNA62/75 are required for translation of transcripts essential for pollen tube growth[J]. Plant Physiology, 2018, 178(2):626-640.
- [17] LI L B, ZHANG Y R, LIU K C, et al. Identification and bioinformatics analysis of *SnRK2* and *CIPK* family genes in sorghum[J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(1):19-30.
- [18] 陶兴林,侯栋,朱惠霞,等.花椰菜温敏雄性不育系 GS-19 花药败育的细胞学及转录组分析[J].中国农业科学,2017,50(13):2538-2552.
- [19] 蒋会兵,杨盛美,刘玉飞,等.厚轴茶雄性不育株花药败育的生物学特性和细胞学研究[J].作物学报,2020,46(7):1076-1086.
- [20] 刘海英,冯必得,茹振钢,等.BNS 和 BNS366 小麦雄性不育与内源激素的关系[J].中国农业科学,2021,54(1):1-18.
- [21] 许小勇,张静,孙希禄,等.大白菜 CMS7311 雄性不育的发生与花蕾内源激素含量变化的关系研究[J].华北农学报,2014,29(6):177-182.
- [22] 王永琦,杨小振,莫言玲,等.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[J].园艺学报,2016,43(11):2161-2172.
- [23] 郭航,王志敏,汤青林,等.茉莉酸调控花药开裂的研究进展[J].生物技术通报,2015,31(2):10-17.
- [24] 曹墨菊,程江,汪静,等.太空诱变玉米核雄性不育与植物激素的关系[J].核农学报,2010,24(3):447-452.
- [25] 刘红艳,吴坤,杨敏敏,等.芝麻显性细胞核雄性不育系内源激素、可溶性糖和淀粉含量变化[J].中国油料作物学报,2014,36(2):175-180.
- [26] 赵玉锦,童哲,陈华君,等.内源植物激素与光敏核不育水稻农垦 58S 育性的关系[J].植物学报,1996,31(12):936-941.
- [27] 胡一兵,刘炜,徐国华.生长素与乙烯信号途径及其相互关系研究进展[J].植物学报,2011,46(3):338-349.
- [28] 李艳艳,齐艳华.植物 *Aux/IAA* 基因家族生物学功能研究进展[J].植物学报,2022,57(1):30-41.