

# 陆地棉洞 A 不育与可育花药中激素相关基因的转录差异分析

刘冬梅<sup>1,2</sup> 陈鹏<sup>1</sup> 周步进<sup>1</sup> 孔祥军<sup>1</sup> 周瑞阳<sup>1\*</sup>

(1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 商丘师范学院, 河南 商丘 476000)

**摘要** 以陆地棉洞 A 为材料, 取不育株和可育株小孢子单核早期花药进行转录组测序。结果表明: 在获得注释的 66 535 个 Unigene 中, 有 51 个激素相关基因差异表达, 其中不育花药上调表达的有 23 个, 可育花药上调表达的有 28 个。本研究首次分析了该时期激素相关基因在转录组水平上的差异, 并对其中 2 个关键基因进行了验证, 为深入研究陆地棉洞 A 的不育机理和挖掘关键基因奠定基础。

**关键词** 棉花; 雄性不育; 激素; 转录组; 差异表达

中图分类号 S 562

文章编号 1007-4333(2013)05-0009-06

文献标志码 A

## Different transcriptomic expression in both male sterile and fertile anthers of upland cotton Dong A

LIU Dong-mei<sup>1,2</sup>, CHEN Peng<sup>1</sup>, ZHOU Bu-jin<sup>1</sup>, KONG Xiang-jun<sup>1</sup>, ZHOU Rui-yang<sup>1\*</sup>

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China)

**Abstract** Male sterile anthers and fertile anthers were used in RNA sequencing in early microspores phase of upland cotton 'Dong A'. Results showed that 51 out of the total 66 535 annotated hormone related unigenes expressed differentially, with 23 genes up-regulated and 28 genes down-regulated in sterile anthers. Based on our available information, this study is the first to investigate hormone related genes expression via transcriptome sequencing, and two of these genes were identified. It may shed light onto the dissection of male sterility mechanisms and catching sight of key genes in upland cotton 'Dong A'.

**Key words** cotton; male sterility; hormone; transcriptom; different expression

陆地棉洞 A 是 1972 年在陆地棉‘洞庭一号’中发现的 1 个天然不育突变株, 经过连续回交选育而获得的<sup>[1]</sup>。其雄性不育受 1 对隐性核基因控制, 被初步命名为 *ms1*<sup>[2]</sup>。1992 年, 该基因被鉴定为新基因, 正式定名为 *ms14*<sup>[3]</sup>。洞 A 是一系两用, 其不育株与可育株除了在育性上存在差异外, 在遗传背景上高度同源, 是研究棉花花药与花粉发育相关基因的理想材料。但目前对于洞 A 育性机理的研究仅限于细胞形态学和生理生化水平。洞 A 不育株从小孢子母细胞到小孢子成熟的各个时期都产生不同程度的败育, 最主要败育时期为小孢子单核时期<sup>[4]</sup>。不育株花药内壁的绒毡层细胞解体慢且不彻底, 致

使小孢子的营养供应受阻是小孢子败育的原因之一<sup>[4-5]</sup>。氨基酸含量分析表明, 不育花药的游离氨基酸总含量不断减少, 水解蛋白质和结合氨基酸含量不断降低<sup>[6]</sup>, 说明蛋白质正处在进行破坏性的分解过程中, 特别是与育性有关的脯氨酸的降低, 是造成败育的生理原因。前人关于洞 A 花粉发育的分子生物学研究基础较薄弱, 目前仅限于胡磊使用 BSA 法获得 2 个与 *ms14* 基因连锁的标记 BNL3971 和 NAU663, 根据已公布的棉花图谱将 *ms14* 基因定位在了 Chr2 上<sup>[7]</sup>。另外, 侯磊等用 cDNA-AFLP 技术分析洞 A 雄性不育、可育材料花粉发育相关基因表达的差异, 得到 64 条差异片段<sup>[8]</sup>。到目前为止,

收稿日期: 2013-02-27

基金项目: 广西研究生教育创新计划(GXU11T32559)

第一作者: 刘冬梅, 博士研究生, E-mail: liudongmei1997@hotmail.com

通讯作者: 周瑞阳, 教授, 主要从事棉麻种质资源创新研究, E-mail: ruiyangzhou@yahoo.com.cn

与棉花花粉败育相关基因的克隆和分析较少,加强这方面的研究将有助于更好地了解花粉发育过程中的分子机理。

Mascarenhas<sup>[9]</sup>将花粉形成过程中的基因表达分成早晚2个时期:在减数分裂后即小孢子单核期早期基因开始表达,而这些基因在成熟花粉中减少或完全消失;小孢子有丝分裂时期花粉发育晚期基因开始表达,并且随着花粉的成熟继续积累。一般认为早期基因可能编码细胞骨架蛋白和参与细胞壁形成、淀粉积累的蛋白质,晚期基因表达的蛋白质则在花粉成熟和花粉萌发时起作用。侯磊用 cDNA-AFLP 技术,分析洞 A 雄性不育株与可育株花粉发育相关基因表达的差异,结果表明:在花药发育的相同时期,不育和可育花粉的谱带在单核期的差异大于减数分裂期<sup>[8]</sup>。

转录组测序技术以其高通量的优势,首先在人、拟南芥、酵母和小白鼠等模式生物上成功应用。迄今,已经有多个物种通过该技术进行了转录组分析。激素在植物育性转换过程中发挥着决定性作用,但关于洞 A 不育株与可育株花粉发育过程中各个激素相关基因的表达差异尚未见报道。本研究通过对陆地棉洞 A 不育株与可育株小孢子单核早期花药转录组测序(RNA-Seq),分析激素相关基因的表达差异,旨在为陆地棉洞 A 的不育机理研究及不育相关基因发掘奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以陆地棉洞 A 为材料,于始花期分别标记不育株和可育株。分别选取直径为 3~4 mm 的不育株和可育株花蕾,此时期的花药处于小孢子单核早期,也是花粉败育初期,是挖掘不育相关基因的最佳时期<sup>[10]</sup>。冰上剥取花药并保存在 RNA-Locker 保存液(上海生工)中,用于 RNA 提取。转录组测序委托深圳华大基因有限公司完成(<http://www.genomics.cn/index.php>)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 RNA 提取和建库

采用 TRIzol 试剂盒(Invitrogen 公司)分别提取不育株和可育株花药总 RNA,Agilent 2100 分析仪检测总 RNA 质量。取质量满足转录组测序要求的总 RNA 各 20  $\mu\text{g}$ ,用带有 Oligo(dT)(Illumina)的磁珠富集真核生物 mRNA。为了避免合成

cDNA 时具有偏向性,纯化后的 mRNA 首先在  $1\times$  fragmentation buffer 下打断成 100~400 bp 的短片段(二价离子,94  $^{\circ}\text{C}$ ,5 min)。然后使用 SuperScript Double-Stranded cDNA Synthesis kit(Invitrogen, Camarillo, CA)合成双链 cDNA,引物为随机六聚体引物(Illumina)。在经过 QiaQuick PCR 试剂盒纯化并加 EB 缓冲液洗脱之后做末端修复、加 A 并连接测序接头,然后用 2% TAE-琼脂糖凝胶电泳选择大小(200  $\pm$  25) bp 片段,最后使用 PCR Primer PE1.0 和 PCR Primer PE2.0(Illumina)进行扩增富集纯化的 cDNA 模板(15 个循环,Phusion DNA Polymerase)。

#### 1.2.2 测序和组装

建好的测序文库用 Illumina HiSeq<sup>TM</sup> 2000 进行测序。使用短 reads 组装软件 Trinity<sup>[11]</sup> 做转录组从头组装。首先将具有一定长度 overlap 的 reads 连成更长的片段-Contig;通过 paired-end reads 确定来自同一转录本的不同 Contig 以及这些 Contig 之间的距离。再将这些 Contig 连在一起,最后得到两端不能再延长的序列即 Unigene。组装得到的 Unigene,首先使用 Tgicl 将其去冗余和进一步拼接,然后再对这些序列进行同源转录本聚类,得到最终的 Unigene。Unigene 分为两部分,一部分是 clusters(以 CL 开头),另一部分是 singletons(以 Unigene 开头)。

#### 1.2.3 Unigene 功能注释

功能注释信息给出 Unigene 的蛋白功能注释、Pathway 注释、COG 功能注释和 Gene Ontology (GO)功能注释。首先,通过 Blastx( $E$  value  $< 10^{-5}$ )将所有 Unigene 序列比对到蛋白数据 Nr(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、SwissProt(<http://www.expasy.ch/sprot>)、KEGG(<http://www.genome.jp/kegg>)和 COG(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cog>),得到跟给定 Unigene 具有最高序列相似性的蛋白,从而得到该 Unigene 的蛋白功能注释信息。

#### 1.2.4 Unigene 表达量注释和差异基因的筛选

Unigene 表达量的计算使用 FPKM 法(Fragments Per kb per Million fragments)<sup>[12]</sup>。参照 Audic 等人发表在 Genome Research 上的基于测序的差异基因检测方法<sup>[13]</sup>,筛选不育和可育花药间的差异表达基因。

#### 1.2.5 RT-PCR 验证激素相关差异表达基因

采用 TRIzol 试剂盒(Invitrogen 公司)提取小

孢子单核早期不育株和可育株花药总 RNA,核酸蛋白分析仪(BIO-RAD)检测总 RNA 浓度。分别取 1 μg 总 RNA 进行反转录,体系及程序参照 PrimerScript™ Reverse Transcriptase 说明书(Takara)。

选取在不育株中特异表达的 Unigene57058(陆地棉几丁质酶基因,ETH 相关)进行 RT-PCR 验证。引物序列为 57058-F: ACTCGCAAGAGGG-AAATAG 和 57058-R: CCAGGAGAACAAGGG-TAAT,产物片段大小为 173 bp。反应体系 10 μL: cDNA 0.5 μL, 10×PCR Buffer 1 μL, dNTP(10 mmol/L), 0.2 μL 引物(10 μmol/L) 0.3 μL, Taq(5 U/μL, Takara) 0.1 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.9 μL。扩增条件为: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 45 s, 52 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。

同时选取不育株中上调表达基因 Unigene47518(吲哚乙酸合成酶 GH3 家族基因, IAA 相关), 采用半定量 RT-PCR 进行验证。引物分别为: 47518-F: ATCTCCTCCCCAGTTCCTC-

TTCTAT 和 47518-R: CCAAAATCTTATCCGA-CTCTGCG; 产物片段大小为 384 bp。以陆地棉持家基因组蛋白为内参, 基因登录号为 AF024716。设计的引物分别为 HF: GAAGCCTCATCGA-TACCGTC 和 HR: CTACCACTACCATCAT-GGC, 组蛋白扩增片段大小约为 412 bp。反应体系 10 μL: cDNA 0.2 μL, 10×PCR Buffer 1 μL, dNTP(10 mmol/L) 0.2 μL, 引物(10 μmol/L) 0.3 μL, Taq(5 U/μL, Takara) 0.1 μL, ddH<sub>2</sub>O 8.2 μL。扩增条件为: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 45 s, 51 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 40 个循环(内参 32 个循环) 72 °C 延伸 10 min。

PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外凝胶成像仪(BIO-RAD)观察结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品总 RNA 质量检测及转录组测序结果统计

不育株和可育株花药总 RNA 经 Agilent 2100 分析仪检测满足转录组测序要求(表 1)。

表 1 用于测序的 RNA 质量检测结果

Table 1 Quality testing of RNA using in sequencing

样品名称 Samples	质量浓度/(ng/μL) Concentration	RNA 总量/μg Total RNA	RIN	28S : 18S	OD <sub>260/280</sub>	OD <sub>260/230</sub>	检测结论 Test conclusion
可育株花药	3 839	153.56	9.1	2.0	1.86	0.90	合格
不育株花药	2 332	69.96	8.6	1.6	1.89	0.84	合格

注: 华大基因转录组测序样品检测标准: 浓度 ≥ 400 ng/μL, 总量 ≥ 20 μg, RIN ≥ 6.5, 28S/18S ≥ 1.0, OD 值标准: 1.8 ≤ OD<sub>260/280</sub> ≤ 2.2, OD<sub>260/230</sub> ≥ 1.8。

Note: RNA samples test standard of BIG using in RNA sequencing: Concentration ≥ 400 ng/μL, Total RNA ≥ 20 μg, RIN ≥ 6.5, 28S/18S ≥ 1.0, standard of OD: 1.8 ≤ OD<sub>260/280</sub> ≤ 2.2, OD<sub>260/230</sub> ≥ 1.8。

通过转录组测序获得了 4G 的数据量(表 2), 共有 66 535 个 Unigene 获得注释, 其中 65 327 个基因表达无差异, 1 208 个基因出现了差异表达。在差

异表达基因中, 包含了 51 个激素相关基因, 占差异表达基因的 4.22%, 其中不育株表达上调的基因有 23 个, 可育株表达上调的基因有 28 个。

表 2 RNA 测序数据统计

Table 2 Output statistics of RNA sequencing

样品 Samples	粗读数 Total Raw Reads	净读数 Total Clean Reads	净核苷酸数/nt Total Clean Nucleotides	Contig/条 Number of Contig	Unigene/个 Number of Unigene	Unigene 均长度/bp Mean length
可育株花药	56 901 660	53 467 262	4 812 053 580	182 872	102 015	594
不育株花药	57 825 142	54 338 402	4 890 456 180	225 806	126 218	530

## 2.2 激素相关差异表达基因

### 2.2.1 IAA 相关差异表达基因

与 IAA 相关的差异表达基因中, 不育株花药有 5 个基因上调表达(表 3), 其中 2 个 IAA 应答蛋白

基因和 2 个吲哚乙酸合成酶 GH3 家族基因。而在可育株花药中有 4 个上调表达基因, 其中 2 个为生长素抑制蛋白基因, 1 个为 IAA 诱导蛋白 ARGF 基因(表 4)。

表3 洞A不育株花药中上调表达的激素相关基因

Table 3 Up regulated hormone related genes in sterile anthers of Dong A

激素 Hormone	相关基因 Hormone related genes	数目 Number	参与的生物学过程 GO-Biological Process	调节方向 Regulation
IAA	吡啶乙酸合成酶 GH3 家族基因	2	GO:0009734	
	IAA 应答蛋白	2	GO:0009734	
	胞外信号调节激酶	1	GO:0009734	
ABA	蛋白磷酸化酶	2	GO:0009738	
	同源亮氨酸拉链蛋白	1	GO:0009738	
GA	酸性磷酸酶	1	GO:0009740	
JA/SA	突触融合蛋白 1B/2/3	3	GO:0009867/GO:0009863	
SA	未知	1	GO:0009863	
ETH	EREBP 类因子	2	GO:0010105	—
	乙烯应答转录因子 2	1	GO:0009873	
	几丁质酶	1	GO:0009871	

注:表中“+”代表起正调控作用的基因,“—”代表起负调控作用的基因。下表同。

Note:“+”means positive regulation genes,“—”means negative regulation genes. The same as in the following table.

表4 洞A可育株花药中上调表达的激素相关基因

Table 4 Up regulated hormone related genes in fertile anthers of Dong A

激素 Hormone	相关基因 Hormone related genes	数目 Number	参与的生物学过程 GO-Biological Process	调节方向 Regulation
IAA	IAA 诱导蛋白 ARG7	1	GO:0009734	
	生长素抑制蛋白	2	GO:0009734	—
	有丝分裂活性蛋白激酶	1	GO:0009734	
ABA	蛋白磷酸酶 2C	3	GO:0009788	—
	法呢酰基转移酶/牻牛儿基牻牛儿基转移酶	1	GO:0009788	—
	半乳糖肌醇-蔗糖半乳糖基转移酶 5	2	GO:0007165	
	ABA 受体 PYL9	1	GO:0009789	+
JA/SA	谷氧还蛋白-C9	2	GO:0009867/GO:0009863	
ETH/JA	乙烯应答转录因子 2	1	GO:0009873/GO:0009864	
BR	未知	1	GO:0009742	
ETH	乙烯应答转录因子 3	1	GO:0009873	
	EIN3-绑定 F-box 蛋白 1	2	GO:0010105	—
	乙烯敏感性抑制蛋白	1	GO:0010105	—

### 2.2.2 ABA 相关差异表达基因

与 ABA 相关的差异表达基因中,不育株花药有 3 个基因上调表达(表 3),可育株花药共有 7 个基因上调表达(表 4),共有 4 个负调控因子,包括 3 个蛋白磷酸酶 2C 和 1 个法呢酰基转移酶/牻牛儿基牻牛儿基转移酶;1 个正调控因子是 ABA 受体 PYL9。

### 2.2.3 GA 相关差异表达基因

与 GA 相关的差异表达基因中,1 个酸性磷酸酶基因在不育株花药中上调表达(表 3),而在可育

株花药中没有差异表达基因。

### 2.2.4 ETH 相关差异表达基因

与 ETH 相关的差异表达基因中,不育株花药有 2 个负调控因子(EREBP 样因子)进行调控(表 3),而在可育花药中有 3 个负调控基因(2 个 EIN3 绑定 F-box 蛋白和 1 个乙烯敏感性抑制蛋白)(表 4)。

### 2.2.5 JA/SA 相关差异表达基因

与 JA/SA 相关的差异表达基因中,突触融合蛋白 1B/2/3 在不育花药中上调表达(表 3),谷氧还蛋

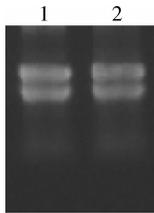
白-C9 在可育花药中上调表达(表 4)。

### 2.2.6 其他激素相关差异表达基因

不育花药中 1 个与 SA 相关未知基因上调表达(表 3),而在可育花药中 1 个与 BR 相关未知基因上调表达(表 4)。

### 2.3 RT-PCR 验证激素相关基因的差异表达

提取不育株和可育株花药总 RNA,分别取 2  $\mu$ L 进行琼脂糖凝胶电泳,从电泳图(图 1)可以看出,2 个样品提取的总 RNA 的 28S、18S 带型整齐,无拖尾,说明 RNA 降解少,不含多糖和蛋白等杂质;样品 OD<sub>260/230</sub> 值都在 1.8~2.2 之间,OD<sub>260/280</sub> 值都在 1.9~2.0 之间,浓度分别为 856 和 774 ng/ $\mu$ L,浓度和质量满足反转录要求。



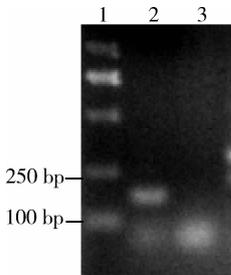
1. 不育株 RNA;2. 可育株 RNA。

1. RNA of sterile anthers;2. RNA of fertile anthers.

图 1 不育株与可育株花药 RNA 电泳图

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of RNA of sterile anthers and fertile anthers

从图 2 中可以看出,不育株花药在 173 bp 处扩增出条带,而在可育株未扩增出条带,证明了 Unigene57058(陆地棉几丁质酶基因)在不育花药中的特异表达。



1. Marker DL2000;2. 不育株;3. 可育株。

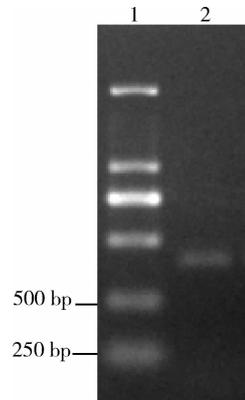
1. Marker DL2000;2. Sterile anthers;3. Fertile anthers.

图 2 RT-PCR 验证 Unigene57058 在不育花药中的特异表达

Fig. 2 RT-PCR proved Unigene57058 specific expression in sterile anthers

以不育株 cDNA 为模板,在 384 bp 处扩增出目的条带(图 3)。从图 4 可以看出,Unigene47518(吡

啉乙酸合成酶基因)在不育株花药中扩出清晰条带,而在可育株花药中隐约有一条带,几不可见,证明该基因表达水平在 2 个样品中存在很大差异。

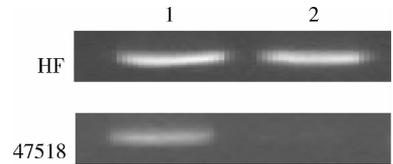


1. Marker DL2000;2. 不育株为模板。

1. Marker DL2000;2. Sterile anthers.

图 3 Unigene47518 PCR 产物电泳图

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of Unigene47518 PCR product



1. 不育株;2. 可育株。

1. Sterile anthers;2. Fertile anthers.

图 4 半定量 RT-PCR 验证 Unigene47518 的差异表达

Fig. 4 Semiquantitative RT-PCR proved differential expression of Unigene47518

## 3 讨论

生长素的重要生理作用之一是促进植物维管束发育,IAA 含量降低常常导致雄性不育<sup>[14]</sup>。在水稻<sup>[15]</sup>、椒<sup>[16]</sup>不育系成熟花药中的 IAA 含量显著降低,表明雄性不育的发生与花药中生长素的亏缺有关。在玉米<sup>[17]</sup>和榨菜<sup>[18]</sup>CMS 系中,小孢子发育的整个时期,IAA 含量均低于可育系。在本研究中,与 IAA 相关的吡啉乙酸合成酶 GH3 在不育株中上调表达,两个生长素抑制蛋白在可育株中起负调控作用,抑制了 IAA 的产生,从正反两方面验证 IAA 增加导致不育的结果,表明其生长素与雄性不育的关系与上述 IAA 亏缺理论不同。也有证据显示了这样的结果,例如:番茄雄性不育突变体 sl2 以及油

菜 GMS 和 CMS 系雄蕊中生长素的含量高于其可育系<sup>[19-20]</sup>。在小麦中<sup>[21]</sup>,随着小孢子的发育,不育系花药内 IAA 含量同保持系一样逐渐升高,到花药成熟时又有所下降;当小孢子处于四分体时期时,K 型不育系花药内 IAA 含量高出其保持系 1.96 倍,其余各时期均低于保持系。在洞 A 不育花药主要败育时期之前,不育花药中 IAA 的含量是显著偏低的<sup>[22]</sup>,说明 IAA 含量变化与洞 A 核雄性不育系花药败育密切相关,但关于洞 A 不育株和可育株花药发育的不同时期,其生长素水平的变化规律还有待于进一步研究。在可育株花药中,与 ABA 相关的有 4 个负调控因子抑制 ABA 的产生。EIN3 是乙烯信号途径的重要组件,EIN3 绑定 F-box 蛋白与之结合,抑制了下游由乙烯调控的一系列反应;更为重要的是乙烯敏感性抑制蛋白提高了对乙烯浓度的敏感性,可以更加有效的控制乙烯的产生,避免了乙烯对可育株的毒害作用。本研究结果与 Sawhney 等<sup>[23]</sup>提出生长素的增加、ABA 的表达量上升和乙烯的过渡产生将导致雄性不育一致。

植物体内各种激素都不是单独存在的,它们通过相互促进或者拮抗对植物的生长发育起调控作用,所以雄性不育的发生不仅取决于某种激素含量的增加或减少,更重要的是取决于激素间的平衡<sup>[24]</sup>,仅仅研究某一激素水平的变化,得到的结论可能是不准确的。由于不同激素与雄性不育的关系十分复杂,迄今为止,对植物激素与雄性不育发生之间在分子水平上的联系仍不太明了,本研究结果为分析各激素间的联系及其与雄性不育的关系奠定了基础。

## 参 考 文 献

- [1] 唐雯,张相琼.棉花“洞 A”型核雄性不育形态及机理研究现状[J].安徽农业科学,2008,36(4):1402-1404
- [2] 黄观武,张东铭,苟云高,等.对我国陆地棉雄性不育基因的初步分析[J].四川农业科技,1982(2):1-4
- [3] 张天真,冯义军,潘家驹.我国发现的 4 个棉花核雄性不育系的遗传分析[J].棉花学报,1992(4):1-8
- [4] 汤泽生,杜素琼,王祖秀,等.棉花“洞 A”小孢子发育的细胞形态学研究补遗[J].西华师范大学学报,1982(2):28-31
- [5] 汤泽生,杜素琼,王祖秀,等.棉花“洞 A”雄性不育小孢子败育的细胞学研究[J].中国农业科学,1981(5):47-51
- [6] 胡瑞娟,何纪荣,何奕,等.棉花“洞 A”雄性不育小孢子败育与蛋白质代谢关系的研究[J].西华师范大学学报,1985(1):43-50
- [7] 胡磊.棉花核雄性不育基因 ms\_(14)及农艺性状 SSR 分子标记定位的研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2009
- [8] 侯磊,肖月华,李先碧,等.棉花洞 A 雄性不育系花药发育 mRNA 差别显示[J].遗传学报,2002,29(4):359-363
- [9] Mascarenhas J P. Gene activity during pollen development[J]. Rev Plant Physiol,1990,41:317-338
- [10] 刘冬梅,周步进,靳明凯,等.陆地棉洞 A 育性研究时期的选择与花蕾外部形态指标间的关系[J].天津农业科学,2013,19(6):1-4
- [11] Grabherr M G, Haas B J. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome[J]. Nature Biotechnology,2011,10:1038-1042
- [12] Ali Mortazavi, Brian A Williams, Kenneth McCue, et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq[J]. Nature Methods,2008,5:621-628
- [13] Audic S, Claverie J M. The significance of digital gene expression profiles[J]. Genome Res,1997,10:986-995
- [14] 黄厚哲,楼仕林.植物生长素亏缺与雄性不育的发生[J].厦门大学学报:自然科学版,1984,23(1):82-97
- [15] 黄少白,周燮.水稻细胞质雄性不育与内源 GA1+4 和 IAA 的关系[J].华北农学报,1994,9(3):16-20
- [16] 高夕全,张子学,夏凯,等.雄性不育辣椒中几种内源激素的含量变化[J].植物生理学通讯,2001,37(1):31-32
- [17] 夏涛,刘纪麟.生长素和玉米素与玉米细胞质雄性不育性关系的研究[J].作物学报,1994,20(1):26-31
- [18] 陈竹君,张明方,汪炳良,等.榨菜胞质雄性不育及其农艺性状的研究[J].园艺学报,1995,22(1):40-46
- [19] Singh S, Sawhney V K, Pearce D W. Temperature effects on endogenous indole-3-acetic acid levels in leaves and stamens of the normal and male sterile “stamenless-2” mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) [J]. Plant, Cell and Environment,1992,15:373-377
- [20] Shukla A, Sawhney V K. Metabolism of dihydrozeatin in floral buds of wild-type and a genic male sterile line of rapeseed (*Brassica napus* L)[J]. Journal of Experimental Botany,1993,44(266):1497-1505
- [21] 李英贤,张爱民,黄铁城.小麦细胞质雄性不育与花药组织内源激素的关系[J].农业生物技术学报,1996,4(4):307-313
- [22] 宋宪亮,孙学振,王洪刚,等.棉花洞 A 型核雄性不育系花药败育过程中的生化变化[J].西北植物学报,2004,24(2):243-247
- [23] Sawhney V K, Shukla A. Male sterility in flowering plants; are plant growth substances involved[J]. Amer J Bot,1994,12:1640-1647
- [24] 童哲,邵慧德,赵玉锦,等.光敏核不育水稻中调节育性的第二信使[C]//袁隆平.两系法杂交水稻研究论文集,北京:农业出版社,1992:176-181