

网络出版时间:2022-05-27 12:34 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.12.012
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220525.1618.015.html

牡丹远缘杂交种子败育 *PsMTERF2* 基因的克隆、
表达与生理机制分析

贺 丹^{1,2},张明星¹,何松林²,曹健康¹,华 超¹,张佼蕊¹,刘艺平^{1,3}

(1 河南农业大学 风景园林与艺术学院,河南 郑州 450002;2 河南科技学院 园艺园林学院,河南 新乡 453003;
3 河南省优质花卉蔬菜种苗工程研究中心,河南 郑州 450002)

【摘 要】 【目的】探究 *PsMTERF2* 基因在牡丹远缘杂交种子发育过程中的分子及生理机制,为克服牡丹远缘杂交种子败育的研究提供理论依据。【方法】采用 RT-PCR 技术克隆得到牡丹 *MTERF2* 基因,并对其进行生物信息学分析;采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)技术检测并比较 *PsMTERF2* 基因在牡丹种子不同发育时期(‘风丹白’自交与‘风丹白’×‘粉玉奴’授粉后 14,18 和 28 d 的正常与败育种子)的表达与牡丹不同组织(根、茎、叶、花瓣、花药、鳞芽、柱头、种子)中的差异性表达;测定不同发育时期正常种子与败育种子中可溶性总糖、蔗糖、果糖、淀粉和可溶性蛋白的含量,并分析其与 *PsMTERF2* 基因表达量的相关性。【结果】牡丹 *MTERF2* 基因 CDS 全长 972 bp,编码 323 个氨基酸,相对分子质量为 3.77×10^4 D,理论等电点为 8.87,具有 3 个跨膜螺旋区,不具有信号肽切割位点;进化树及三级结构分析显示,牡丹 *MTERF2* 基因具有 7 个 MTERF 结构域,蛋白结构较为复杂,其碱基序列与 *AtMTERF2* 同源性较高,故命名为 *PsMTERF2*,GenBank 登录号为 MZ505000。*PsMTERF2* 基因在牡丹自交种子各发育时期的表达量均高于同一发育时期的杂交种子,且在种子发育后期二者差异更显著;*PsMTERF2* 基因在牡丹不同组织中均有表达,但在种子、柱头和花药中的表达水平相对较高。授粉后 14 和 28 d,可溶性总糖、蔗糖、果糖、淀粉和可溶性蛋白在自交正常种子中的含量均高于杂交败育种子,其中淀粉和可溶性蛋白含量与 *PsMTERF2* 基因相对表达量显著正相关,其余指标与 *PsMTERF2* 基因相对表达量正相关但相关性不显著($P>0.05$)。【结论】*PsMTERF2* 基因可能通过影响代谢产物的合成参与调控种子发育的后期进程。

【关键词】 牡丹育种;种子败育;远缘杂交;*PsMTERF2* 基因;基因表达分析

【中图分类号】 S685.11 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-9387(2022)12-0108-09

Cloning, expression and physiological mechanism of *Paeonia suffruticosa*
distant hybrid seeds abortion *PsMTERF2* gene

HE Dan^{1,2}, ZHANG Mingxing¹, HE Songlin², CAO Jiankang¹,
HUA Chao¹, ZHANG Jiaorui¹, LIU Yiping^{1,3}

(1 College of Architecture and Art, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;
2 Colleg of Horticulture Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, China;
3 Henan Province Quality Flower and Vegetable Seedling Engineering Research Center, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】 This study explored the molecular mechanism of *PsMTERF2* gene in seed development of *Paeonia suffruticosa* to provide basis for understanding seed abortion of distant hybridization. 【Method】 The bioinformatics and expression characteristics of the *PsMTERF2* gene cloned by RT-PCR technology were analyzed. The quantitative Real-time PCR technology were applied to assess and com-

【收稿日期】 2021-11-22
【基金项目】 国家自然科学基金项目(31600568,31870698);河南省科技攻关项目(202102110234)
【作者简介】 贺 丹(1983—),女,河南新乡人,副教授,博士,主要从事园林植物育种研究。E-mail:dandan990111@163.com
【通信作者】 何松林(1965—),男,河南郑州人,教授,博士,主要从事园林植物研究。E-mail:hsl213@yeah.net

pare the expression of *PsMTERF2* gene in different developmental stages of peony seeds (14, 18 and 28 d after pollination in *P. ostii* cv. ‘Phoenix White’ × *P. ostii* cv. ‘Phoenix White’ and *P. ostii* cv. ‘Phoenix White’ × *P. lactiflora* Fenyunu) and tissues of peony seeds (roots, stems, leaves, petals, anthers, scale buds, stigmas and mature seeds). Contents of total soluble sugar, sucrose, fructose, starch and soluble protein in normal seeds and aborted seeds at different developmental stages were determined for correlation analysis with *PsMTERF2* gene expression. 【Result】 The CDS of *MTERF2* was 972 bp in length, encoding 323 amino acids with the predicted molecular mass of 3.77×10^4 D, and its theoretical isoelectric point (pI) was 8.87. It had three transmembrane helical regions, but no signal peptide cleavage site. The phylogenetic tree and three-dimensional structure analysis indicated that *PsMTERF2* contained 7 MTERF domains and complicated protein structure. Phylogenetic analysis and homologous sequence analysis showed that there was high homology of base sequences between *PsMTERF2* and *AtMTERF2*, so it was named *PsMTERF2* with GenBank accession No. of MZ505000. The expression level of *PsMTERF2* in all stages of self-pollinated seeds was higher than that of cross-pollinated seeds in the same period, especially in the later stage of seed development. Expression of *PsMTERF2* was detected in different tissues with high level in seeds, anthers and stigmas. The contents of total soluble sugar, sucrose, fructose, starch and soluble protein in self-pollinated normal seeds were higher than those of cross-pollinated abortive seeds 14 and 28 days after pollination. Soluble protein and starch contents had significantly positive correlation with relative expression of *PsMTERF2* gene, while other indicators had insignificantly positive correlation with relative expression of *PsMTERF2* gene ($P > 0.05$). 【Conclusion】 *PsMTERF2* gene involved in regulating the seed development at late stages by affecting the synthesis of metabolites.

Key words: peony breeding; seed abortion; distant hybridization; *PsMTERF2* gene; gene expression analysis

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr.) 和芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 同为芍药科芍药属植物, 有“花王”和“花相”的美称, 是我国的传统名花。远缘杂交技术是丰富物种遗传多样性、扩大后代性状分离、创造新种质资源的重要途径^[1]。牡丹与芍药的远缘杂交后代植株形态优美、茎干挺拔、花头直立, 花期介于牡丹和芍药之间, 具有更强的抗性^[2]。但是牡丹远缘杂交存在严重的不亲和现象, 不亲和主要分为受精前障碍和受精后障碍^[3]。受精后障碍主要表现为种子败育, 即胚体异常降解或形成种子后无法发育成正常植株等^[4-5]。因此, 探寻牡丹远缘杂交种子败育的原因, 是芍药属植物杂交育种亟待解决的问题。

种子败育主要与营养缺失、基因调控和内源激素失调等因素有关^[6-9], 其中营养物质缺失是导致种子败育的一个重要原因。在种子正常形成过程中, 籽粒中的营养物质随着时间的变化不断积累^[10-11]。可溶性糖和蛋白含量在种子的正常发育过程中逐渐积累, 但在败育种子发育过程中可溶性糖和蛋白先升高后降低, 且在发育中期其含量高于正常种子^[12-14]。在胚珠发育过程中, 胚珠发育率与可溶性

蛋白含量呈正相关^[15], 低水平的可溶性糖与蛋白严重影响胚珠的形态建成和继续分化^[16]。淀粉粒的含量和体积在胚珠正常发育后期明显增加, 但在败育后期明显减少, 甚至消失^[17-18]。植物生长发育的各个阶段都离不开基因的调控, 线粒体转录终止因子 (mitochondrial transcription termination factors, MTERFs) 是一类定位于线粒体、具有 MTERF 结构域的蛋白质超家族^[19-20], MTERF 家族在植物的生长发育中起着关键作用^[21]。在对拟南芥 MTERF 基因家族的研究发现, 拟南芥突变体蛋白 MTERF1 (SOLDAT10)、MTERF2 (EMB-2219) 和 MTERF4 (BSM/RUG2) 会使植物胚胎发育停滞^[5, 22-23]; MTERF 家族基因可能通过调控质体基因的表达来控制代谢物的合成, 从而影响胚胎发育与种子形成^[24]。目前在植物中关于 MTERF 家族基因的研究较少, 其在胚胎发育过程中的调控机理以及途径还需进一步研究。

本研究以牡丹种子为材料, 采用 RT-PCR 技术克隆得到牡丹 *MTERF2* 基因, 对其基因序列和生物信息学进行分析, 利用实时荧光定量 RCR 检测牡丹 *MTERF2* 基因在种子不同发育时期的表达和组

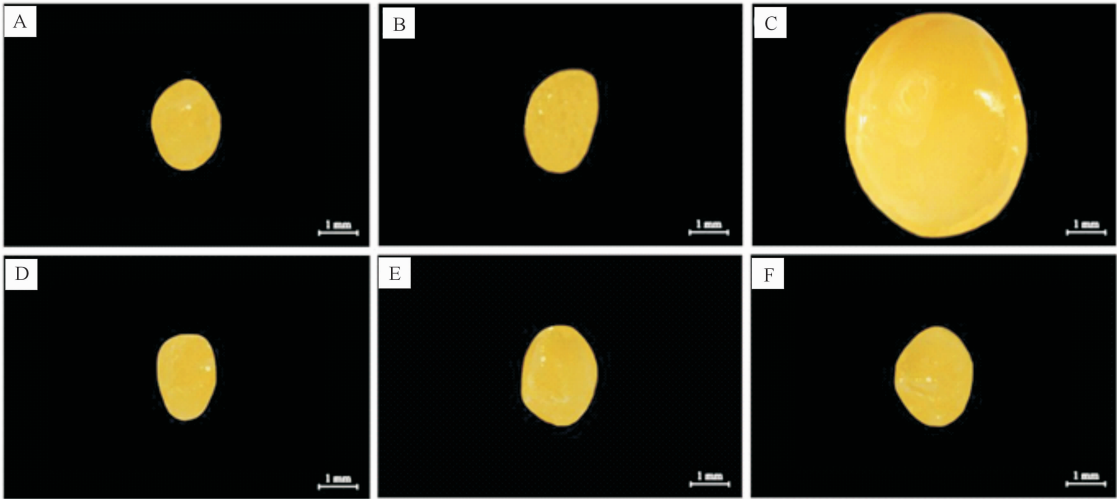
织差异性表达,分析正常种子与败育种子中非结构性碳水化合物和可溶性蛋白含量与该基因表达的相关性,为克服牡丹远缘杂交种子败育的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验材料取自河南省优质花卉蔬菜种苗工程研

究中心,以牡丹品种‘凤丹白’做母本,芍药品种‘粉玉奴’做父本,从 2020 年 3 月下旬进行‘凤丹白’自交以及‘凤丹白’×‘粉玉奴’杂交试验,分别于授粉后 14,18 和 28 d,取自交正常发育种子和杂交败育种子用超景深显微镜(Leica,DVM6)拍照(图 1),每个时间段重复 3 次。采集牡丹多年生植株各个部位的样品,在液氮中速冻后,于-80 ℃冰箱中保存备用。



A. 自交 14 d;B. 自交 18 d;C. 自交 28 d;D. 杂交 14 d;E. 杂交 18 d;F. 杂交 28 d
A. Self-pollination 14 d;B. Self-pollination 18 d;C. Self-pollination 28 d;D. Cross-pollination 14 d;
E. Cross-pollination 18 d;F. Cross-pollination 28 d

图 1 不同发育时期自交和杂交的牡丹种子

Fig. 1 Self-pollinated and cross-pollinated seeds of peony at different developmental stages

1.2 方 法

1.2.1 总 RNA 提取和 cDNA 合成 用改良版 CTAB 法^[25]提取自交、杂交后 14,18,28 d 的正常种子、败育种子及牡丹根、茎、叶、花瓣、花药、柱头、鳞芽、发育成熟种子的总 RNA,用 2 × Vazyme Lamp[®] Master Mix (Dye Plus)试剂盒(Vazyme,南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行 cDNA 的合成,将反转录产物于-20 ℃贮存备用。

1.2.2 *PsMTERF2* 基因的克隆 前期对转录组进行分析发现,牡丹 *MTERF2* 基因在种子发育不同时期的表达差异显著。因此根据转录组测序结果所

获得的目的基因序列设计特异性引物(表 1),按照 2×Phanta Flash Master Mix(Dye Plus)说明书进行 cDNA 全长 PCR 扩增。PCR 反应体系(50 μL):2×Phanta Flash Master Mix(Dye Plus)25 μL,Primer F 2 μL,Primer R 2 μL,cDNA 2 μL,加 ddH₂O 至 50 μL。PCR 反应程序:95 ℃预变性 3 min;95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s,72 ℃ 90 s,35 个循环;72 ℃延伸 5 min,4 ℃保存。PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测,回收目的片段后进行测序,将测序序列拼接后获得目的基因 cDNA 全长序列。

表 1 本研究所用引物序列及其用途

Table 1 Sequences of primers and their usage in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	用途 Usage
<i>PsMTERF2</i> -F	ATGGGAGAAGTGAAATCCCG	基因克隆 Gene clonina
<i>PsMTERF2</i> -R	TTACTGCAAAAACAAGCTTTGA	
qPCR- <i>PsMTERF2</i> -F	TTCTCTCGCTGGGCATCTCTCTC	实时荧光定量 RT-qPCR
qPCR- <i>PsMTERF2</i> -R	AACGGTACTTGGGACGGAGGAC	
β - <i>Tubulin</i> -F	TGAGCACCAAAGAAGTGGA	内参基因 House-keeping gene
β - <i>Tubulin</i> -R	CACCGCCTGAACATCTCCTGAA	

1.2.3 生物信息学分析 利用在线网页 ORF Finder(http://www.bioinformatics.org/sms2/orf_find.html)查找目的基因的开放阅读框,用 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>)、TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)和网站 <http://www.detaibio.com/tools/signal-peptide.html> 分析蛋白序列的理化性质、跨膜结构和信号肽等信息。用在线网页(<http://www.detaibio.com/tools/chou-fasman-forecast.html>)预测目的基因蛋白的二级结构,用 Swiss-model(<https://swissmodel.expasy.org/>)预测分析其三级结构,SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)预测蛋白质的功能域。在拟南芥在线网站 TAIR(<https://www.arabidopsis.org/>)上提取 9 个已经验证过功能的拟南芥 MTERF 家族的 CDS 序列与氨基酸序列,使用 MEGA 7.0 构建系统进化树,Bootstrap 值设置为 1 000。用 DNAMAN 8.0 软件对基因编码蛋白的氨基酸序列进行翻译,分析该基因编码蛋白与上述氨基酸序列的同源性。

1.2.4 *PsMTERF2* 基因的表达分析 根据克隆得到的牡丹 *MTERF2* 基因序列设计实时荧光定量引物(表 1),以 β -*Tubulin* 作为内参基因进行实时荧光定量反应。选取‘凤丹白’自交、‘凤丹白’与‘粉玉奴’杂交授粉后 14,18 和 28 d 的正常种子与败育种子及‘凤丹白’的根、茎、叶、花瓣、花药、柱头、成熟种子、鳞芽为试验材料,以 TB Green® Premix Ex Taq™(Tli RNaseH Plus)试剂盒(宝日医生物技术有限公司)作为反应试剂,在 ABI 7900 Real-Time PCR System 仪(美国应用生物系统中国公司)上进行反应,反应体系按照杨敏等^[26]的方法设置,每个反应设 3 个生物学重复,结果按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算出该基因的相对表达量(分别以自交 14 d 及根中的相对表达量作为对照)^[27],之后对目的基因在种子发育不同时期和牡丹不同组织的相对表达量进行分析。

1.2.5 非结构性碳水化合物和可溶性蛋白含量的测定 对授粉后 14,18 和 28 d 牡丹自交正常发育种子与杂交败育种子非结构性碳水化合物(可溶性总糖,蔗糖,果糖,淀粉)和可溶性蛋白含量进行测定。其中可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[28]测定,蔗糖与果糖含量用间苯二酚比色法^[29-30]测定,淀粉含量采用高氯酸水解-蒽酮比色法^[31]测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法^[28]测定。各指标测定时对材料的用量稍加改进,用酶标仪(TECAN Infinite 200 PRO)在特定波长下测定吸光值。

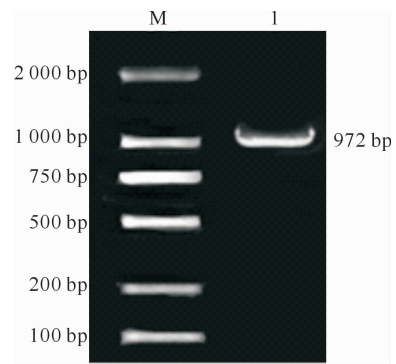
1.3 数据统计与分析

用 SPSS 22.0 的单因素 ANOVA 检验中的 LSD 法,对牡丹自交和杂交种子不同发育时期非结构性碳水化合物及可溶性蛋白含量的差异显著性进行比较;采用双变量法对非结构性碳水化合物和可溶性蛋白含量与目的基因相对表达量的相关性进行分析,用 Pearson 相关系数来表示;采用 Origin Energy 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 *PsMTERF2* 基因的克隆

以‘凤丹白’种子的 cDNA 为模板 PCR 扩增目的基因编码区全长,PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,对目的条带进行胶回收,转化测序后进行序列拼接,发现拼接序列与转录组的一致性为 100%。该 cDNA 序列长度为 972 bp,编码 323 个氨基酸,是一个完整的基因开放阅读框。



M. DL2000 DNA Marker;1. *PsMTERF2* 基因

M. DL2000 DNA Marker;1. *PsMTERF2* gene

图 2 *PsMTERF2* 基因扩增产物的电泳检测

Fig. 2 Electrophoresis detection of amplification products of *PsMTERF2* gene

2.2 *PsMTERF2* 基因的理化性质与结构预测

用 ProtParam 对目的基因的理化性质进行分析,结果表明该基因的分子式为 $C_{1715}H_{2718}N_{446}O_{472}S_{18}$,相对分子质量约为 3.77×10^4 D,理论等电点 pI 为 8.87,说明其为碱性蛋白。该蛋白由 20 种氨基酸组成,带负电荷的氨基酸残基(Asp+Glu)有 42 个,带正电荷的氨基酸残基(Arg+Lys)有 47 个,不稳定系数 40.66,总亲水性平均系数 -0.147,根据各项数据推测这是一个带正电荷的不稳定亲水性蛋白。用 TMHMM 预测得知该蛋白可能具有 3 个跨膜螺旋区,不具有信号肽切割位点。

在 SMART 上对目的基因编码的蛋白质序列进行分析,发现该蛋白具有 7 个保守 MTERF 结构

域,说明该基因确实属于 MTERF 家族。在对该蛋白二级结构预测时发现,α-螺旋(alpha helix)占 28.17%,延伸链(extended strand)占 22.6%,而最大的结构元件是不规则卷曲(random coil),占 49.23%。使用 Swiss-model 进行三级结构预测,结果显示其蛋白结构复杂。

2.3 *PsMTERF2* 基因序列进化树的构建与蛋白序列比对

在 TAIR 网站上提取 9 个拟南芥 MTERF 家族基因的 CDS 序列,用 MEGA 7.0 构建系统发育进化树,结果(图 3)显示,牡丹 *MTERF2* 基因的 DNA

序列与拟南芥 MTERF 家族的 DNA 序列聚为 4 类,其与 *AtMTERF2* 基因的亲缘关系最近,该片段的确为牡丹的 *MTERF2* 基因,故命名为 *PsMTERF2* 基因,GenBank 登录号为 MZ505000。

在 TAIR 网站提取 5 个拟南芥 MTERF 家族基因的蛋白质序列,用 DNAMAN 8.0 进行多序列比对,结果(图 4)表明,MTERF 家族蛋白的结构域具有一定的保守性,其相似性为 41.23%~70.18%。*PsMTERF2* 与 *AtMTERF2* 蛋白的相似度最高,推测其蛋白功能接近或类似。

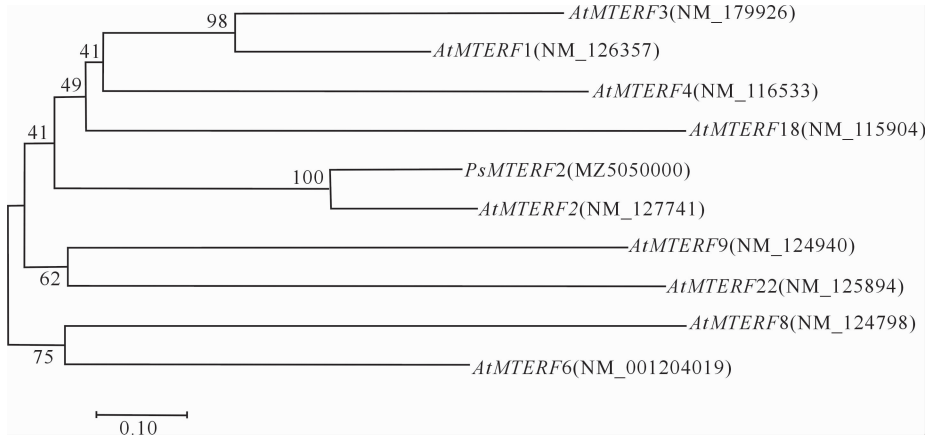


图 3 *PsMTERF2* 与拟南芥 *AtMTERFs* 的系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of DNA sequences of *PsMTERF2* and *AtMTERFs* *Arabidopsis thaliana*

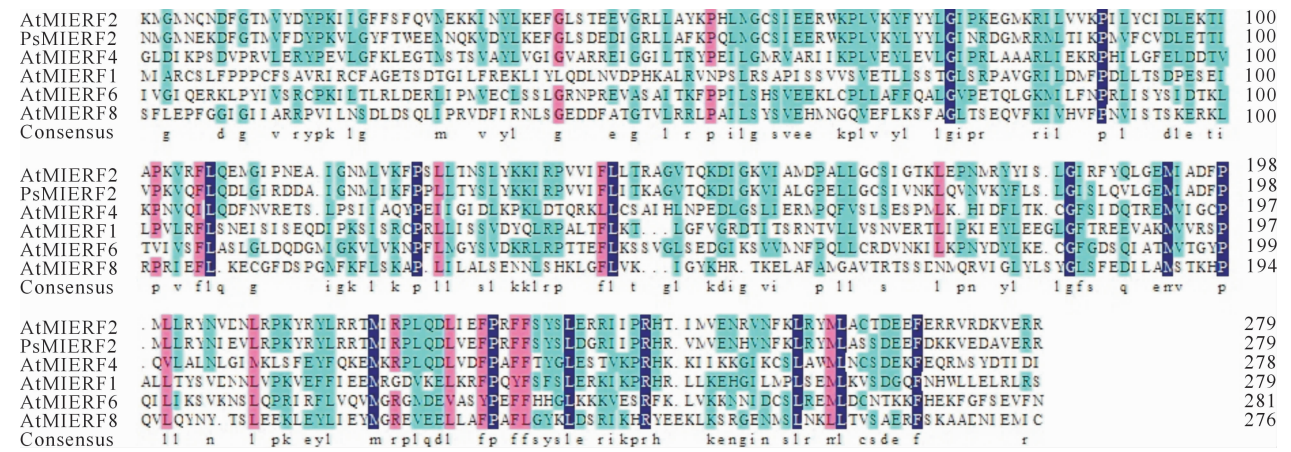


图 4 *PsMTERF2* 蛋白与 *AtMTERFs* 蛋白的序列比对

Fig. 4 Sequence alignment of *PsMTERF2* protein and *AtMTERFs* protein

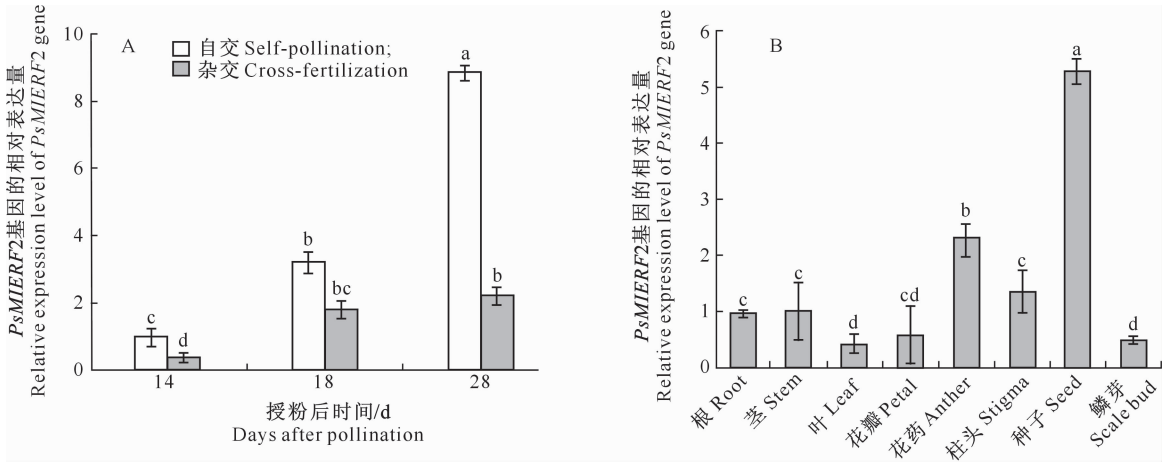
2.4 *PsMTERF2* 基因在牡丹种子及组织的表达

PsMTERF2 在自交种子发育过程中的相对表达量均高于同一时期的杂交种子,且在种子发育后期二者差异显著(图 5-A)。*PsMTERF2* 在不同组织中的相对表达量(图 5-B)显示,其在成熟种子中的表达量最高,花药与柱头次之,在鳞芽、叶和花瓣

中的表达量较低。

2.5 牡丹种子不同发育时期非结构性碳水化合物含量的变化

不同发育时期牡丹自交与杂交种子非结构性碳水化合物(可溶性总糖、蔗糖、果糖、淀粉)含量的变化趋势如图 6 所示。



图柱上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below

图 5 *PsMTERF2* 基因在牡丹种子不同发育时期(A)和不同组织中(B)的相对表达量

Fig. 5 Relative expression of *PsMTERF2* gene in different developmental stages of peony seeds (A) and in different tissues (B)

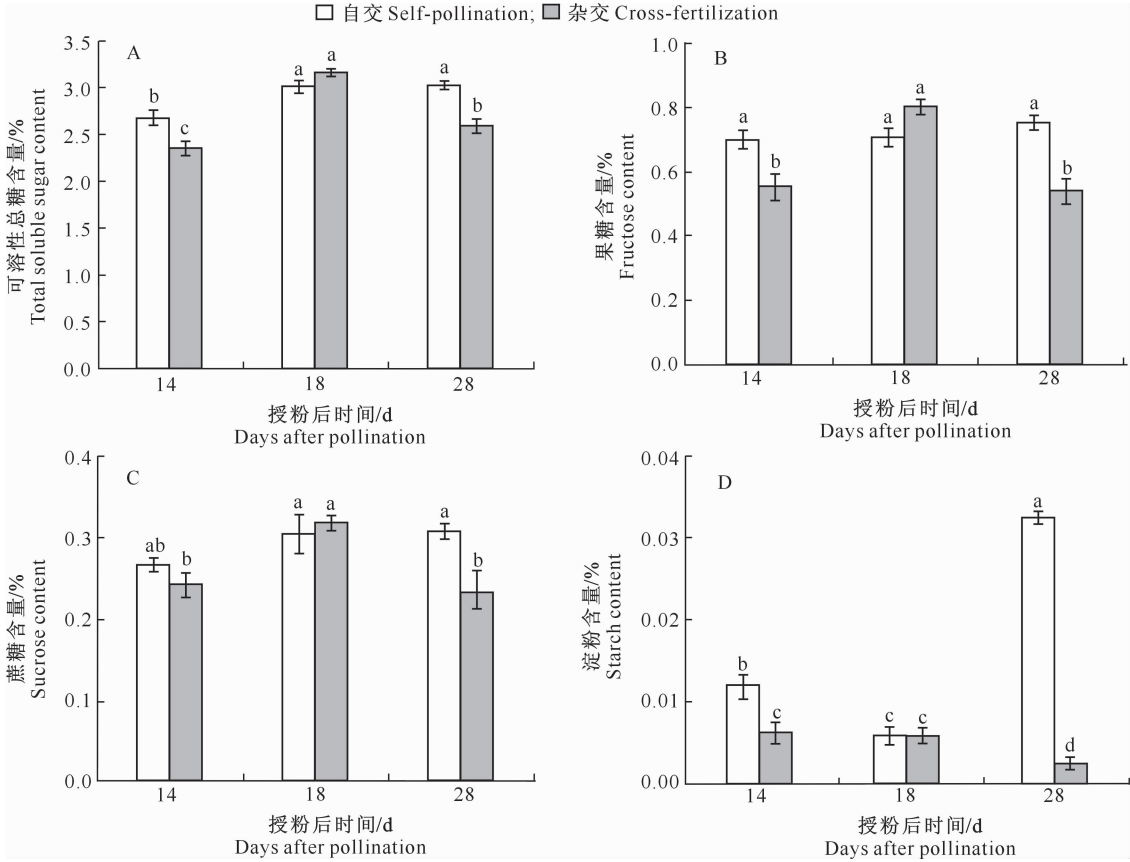


图 6 牡丹自交与杂交种子不同发育时期非结构性碳水化合物含量的变化

Fig. 6 Changes of non-structural carbohydrate content in seeds of self-pollination and cross-pollination at different developmental stages in peony

由图 6 可以看出,可溶性总糖、蔗糖以及果糖含量在牡丹自交种子发育过程中逐渐积累升高,但在杂交种子发育过程中呈现出先增高后降低的趋势;

授粉后 14 与 28 d,上述物质在自交种子中的含量均高于杂交种子(图 6-A—C)。淀粉含量在牡丹自交种子发育过程中先降低后大量增加,在杂交种子发

育过程中则呈现逐渐降低的趋势;在种子发育同一时期,自交种子中淀粉含量均高于杂交种子,且在种子发育后期尤为显著(图 6-D)。

2.6 牡丹种子不同发育时期可溶性蛋白的变化

可溶性蛋白含量在牡丹自交种子发育过程中不断积累,但在杂交种子发育过程中呈现出先增高后降低的趋势;授粉后 14 和 28 d,自交种子中的可溶性蛋白含量均高于同一发育时期的杂交种子(图 7)。

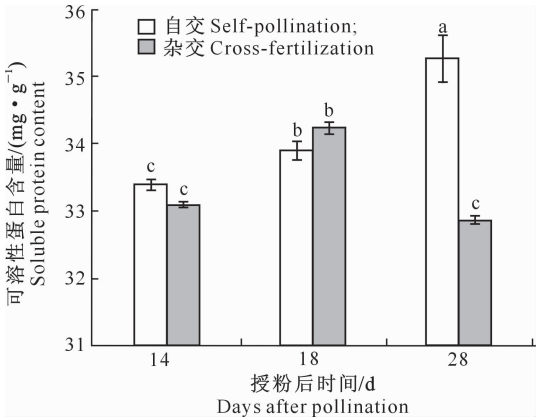


图 7 牡丹自交与杂交种子不同发育时期可溶性蛋白含量的变化

Fig. 7 Changes of soluble protein content in seeds of self-pollination and cross-pollination at different developmental stages in peony

2.7 牡丹种子碳水化合物和蛋白与 *PsMTERF2* 基因表达的相关性

由表 2 可知,牡丹种子中的淀粉和可溶性蛋白含量与 *PsMTERF2* 基因的相对表达量显著正相关(相关系数分别为 0.868 和 0.846),可溶性总糖、蔗糖以及果糖含量与 *PsMTERF2* 基因的相对表达量正相关,但相关性未达到显著水平(相关系数分别为 0.551,0.610 和 0.282)。

3 讨论

MTERF 家族基因在植物的生长发育过程中起着重要作用,在对拟南芥 MTERF 家族基因的研究中发现,*MTERF2* 在种子部位的转录水平最高^[22];与玉米籽粒发育相关的基因 *Emp11* 和 *ZmSmk3*,在子房、雌蕊和种胚中的表达量较高^[32]。在本研究中,*PsMTERF2* 在牡丹成熟种子中的表达量最高,柱头与花药次之,因此推测该基因可能在种子发育过程中发挥着重要作用。*PsMTERF2* 基因在牡丹自交种子发育所有时期的表达量均高于同一发育时期的杂交种子,因此推测 *PsMTERF2* 基因表达量的下降与种子败育密切相关。*PsMTERF2* 基因在

正常种子发育后期显著上调表达,与败育种子后期的表达量差异显著。河南农业大学牡丹资源与育种学课题组前期研究发现,牡丹与芍药杂交种子在发育前期能够形成正常的球形胚,但授粉后 20 d 胚胎开始发生败育解体^[33]。因此推测可能是 *PsMTERF2* 基因的下调表达导致了种子败育,且在种子发育中后期发挥着重要的作用。

植物种子发育与非结构性碳水化合物和可溶性蛋白含量密切相关。本研究发现,可溶性蛋白、可溶性总糖、果糖以及蔗糖含量在牡丹自交正常种子发育过程中逐渐累积,但在杂交种子败育过程中先升高后降低,这与李明芳等^[34]的研究结果一致。授粉后 18 d,牡丹败育种子中可溶性蛋白与非结构性碳水化合物含量均高于正常种子,但在授粉后 28 d 则显著低于正常种子,因此推测在种子发育中期,非结构性化合物的过量积累会导致种子的正常代谢被打破^[13]。非结构性碳水化合物为植物生长发育提供能量,其含量反映了可供植物生长发育的物质水平^[35]。可溶性蛋白的积累有助于细胞有序生长发育,但是随着种子败育的发生,细胞分化停滞,营养物质合成减少,无法为胚胎发育提供能量,最终导致胚体降解^[13]。

在对非结构性碳水化合物、可溶性蛋白含量与 *PsMTERF2* 基因相对表达量的相关性分析中发现,可溶性蛋白和淀粉含量的变化与 *PsMTERF2* 基因表达量有较强的相关性。已有研究表明,MTERF 家族蛋白广泛参与植物各个细胞器基因的表达与转录后 RNA 的加工^[36-39],*AtMTERF6*、*AtMTERF2* 和 *AtMTERF15* 分别参与叶绿体、线粒体与质体基因内含子的剪切^[15,37-39],这些可能通过影响胚胎代谢产物的合成进而影响种子发育^[22],因此推测 *PsMTERF2* 基因也可能是通过影响代谢产物的合成及表达进而影响胚胎发育,但具体的调控途径还需要进一步研究与分析。

[参考文献]

[1] 施丽婷,周鑫洋,叶建丰,等. 木本观赏植物远缘杂交育种研究进展 [J]. 园艺学报,2021,48(9):1827-1838.
Shi L T,Zhou X Y,Ye J F,et al. Advances in remote hybridization breeding of woody ornamental plants [J]. Acta Horticulturae Sinica,2021,48(9):1827-1838.
[2] 贺丹,郑云冰,何松林,等. 牡丹芍药组间远缘杂交胚珠拯救研究 [J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2020,51(2):199-205.
He D,Zheng Y B,He S L,et al. Study on ovule rescue of dis-

- tant hybridization between tree peony and chinese herbaceous peony [J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2020, 51(2): 199-205.
- [3] Tonosaki K, Osabe K, Kawanabe T, et al. The importance of reproductive barriers and the effect of allopolyploidization on crop breeding [J]. Breed Science, 2016, 66: 333-349.
- [4] 宋春花. 芍药杂交亲和性的细胞学研究 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2011.
Song C H. Cytological study on cross-compatibility of *Paeonia lactiflora* [D]. Tai'an, Shandong: Shandong Agricultural University, 2011.
- [5] 李莎莎. 葡萄种子败育因子与无核抗病葡萄种质创制研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
Li S S. Study on the factors of seed abortion and germplasm innovation for breeding the seedless, disease-resistant grapevine [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2021.
- [6] 姚 旺. *VvCIP8* 互作的 E2 筛选和葡萄 E2 V 亚家族基因的功能分析 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
Yao W. Interacted E2 screening of *VvCIP8* and function analysis of grape E2 V subfamily [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2021.
- [7] 赵静雅. 菊花胚胎败育相关基因的克隆与功能鉴定 [D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
Zhao J Y. Cloning and functional identification of genes related to *Chrysanthemum* embryo abortion [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.
- [8] 张文颖, 王 晨, 汤 崑, 等. 果树果实胚败育研究进展 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(12): 4043-4054.
Zhang W Y, Wang C, Tang W, et al. Advances study on embryo abortion of fruit trees [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(12): 4043-4054.
- [9] 任海燕, 王永康, 赵爱玲, 等. ‘冷白玉’枣果实发育过程中内源激素变化与胚败育的关系 [J]. 林业科学, 2020, 56(4): 55-63.
Ren H Y, Wang Y K, Zhao A L, et al. Changes of endogenous hormones during fruit development and their relationship with embryo abortion in *Ziziphus jujuba* ‘Lengbaiyu’ [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2020, 56(4): 55-63.
- [10] 倪 铭, 高振洲, 吴 文, 等. 不同氮素施肥方法对纳塔栎容器苗生长及非结构性碳水化合物积累的影响 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(4): 107-113.
Ni M, Gao Z Z, Wu W, et al. Effects of different nitrogen fertilization methods on growth and non-structure carbohydrate accumulation of *Quercus nuttallii* seedlings [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Nat Sci Ed), 2021, 45(4): 107-113.
- [11] 陈在新, 潘 娟, 江道菊. 不同成熟期板栗品种(系)种子发育期主要营养物质与内源激素含量的动态变化 [J]. 林业科学, 2011, 47(1): 73-78.
Chen Z X, Pan J, Jiang D J. Dynamic changes of main nutrients and endogenous hormones in seed of different mature period chinese chestnuts during their seed development [J]. Scientia Sinicae Sinicae, 2011, 47(1): 73-78.
- [12] 田 宏, 张鹤山, 熊军波, 等. 扁穗雀麦种子发育过程中生理生化研究 [J]. 中国草地学报, 2019, 41(4): 45-51.
Tian H, Zhang H S, Xiong J B, et al. Changes of physiological and biochemical characteristics during the seed development of *Bromus cartharticus* [J]. Chinese Journal of Grassland, 2019, 41(4): 45-51.
- [13] 王静波. 无核葡萄胚胎发育形态学与生理特性研究 [D]. 山西晋中: 山西农业大学, 2018.
Wang J B. Research on morphological and physiological characteristics of embryo development in less grapes [D]. Jinzhong, Shanxi: Shanxi Agricultural University, 2018.
- [14] 纪 薇, 郭荣荣, 王静波, 等. 无核葡萄胚败育生理生化因子灰色关联分析 [J]. 园艺学报, 2018, 46(8): 1473-1485.
Ji W, Guo R R, Wang J B, et al. Grey correlation analysis of physiological and biochemical factors in embryo abortion of seedless grape [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 46(8): 1473-1485.
- [15] 马 丽, 孙凌俊, 赵文东. 葡萄胚珠发育及败育过程中果实主要营养成分变化 [J]. 安徽农业科学, 2019, 46(8): 1473-1485.
Ma L, Sun L J, Zhao W D. Changes in nutrient contents of berry during grape embryo development and abortion [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 46(8): 1473-1485.
- [16] 李桂荣, 全 冉, 程珊珊, 等. 无核葡萄离体胚珠发育影响因子及其生理变化 [J]. 中国农业科学, 2020, 53(22): 4646-4657.
Li G R, Quan R, Cheng S S, et al. The influencing factors of *in-vitro* ovule development in seedless grapes and its physiological changes [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(22): 4646-4657.
- [17] 闫晓娜. 扇脉构兰种子败育机理的研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2015.
Yan X N. Study on the mechanism of seed abortion in *Cypripedium japonicum* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015.
- [18] 杜兵帅. 板栗胚珠败育的细胞学及分子机理初探 [D]. 北京: 北京农学院, 2020.
Du B S. The preliminary study on cytological and molecular mechanism of ovule abortion in Chinese chestnut [D]. Beijing: Beijing University of Agriculture, 2020.
- [19] Fernandez S, Martinez A, Micol V, et al. The human mitochondrial transcription termination factor (mTERF) is a multizipper protein but binds to DNA as a monomer, with evidence pointing to intramolecular leucine zipper interactions [J]. The EMBO Journal, 1997, 16(5): 1066-1079.
- [20] 伍立夫, 林春龙. 线粒体转录终止因子家族的研究现状及进展 [J]. 医学综述, 2015, 21(21): 3870-3873.
Wu L F, Lin C L. Current situation and progression in the research of mitochondrial transcription termination factor family [J]. Medical Recapitulate, 2015, 21(21): 3870-3873.
- [21] 黄淑颜, 丘士浚, 陈家逸, 等. 线粒体转录终止因子(mTERF)蛋白家族的研究进展 [J]. 生命科学研究, 2016, 20(5): 455-459.

- Huang S Y, Qiu S J, Chen J Y, et al. Advances of mTERF protein family [J]. Life Science Research, 2016, 20(5): 455-459.
- [22] 何晓芳. 拟南芥叶绿体定位的 mTERFs 家族蛋白的功能分析 [D]. 上海: 上海师范大学, 2016.
- He X F. Functional analysis of the mTERFs family proteins localized in the chloroplast of *Arabidopsis* [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2016.
- [23] Zheng B, Halperin T, Hruskova-Heidingsfeldova O, et al. Characterization of chloroplast Clp proteins in *Arabidopsis*: localization tissue specificity and stress responses [J]. Plant Physiology, 2002, 114: 92-101.
- [24] Meskauskiene R, Wursch M, Laloi C, et al. A mutation in the *Arabidopsis* mTERF-related plastid protein SOLDAT10 activates retrograde signaling and suppresses $^1\text{O}_2$ -induced cell death [J]. Journal of Molecular Cell Biology, 2009, 60: 399-410.
- [25] 何学高, 赵爱国, 谢冬冬, 等. 漆树 *TvGST7* 基因克隆及其功能分析 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(6): 39-51.
- He X G, Zhao A G, Xie D D, et al. Cloning and characterization analysis of glutathione S-transferase *TvGST7* in *Toxicodendron vernicifluum* [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed), 2020, 48(6): 39-51.
- [26] 杨 敏, 周陈平, 杨 护, 等. 番木瓜 WRKY 转录因子家族基因鉴定及其响应短孢炭疽菌侵染的表达分析 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 50(5): 127-138, 154.
- Yang M, Zhou C P, Yang H, et al. Identification of WRKY transcription factor genes in papaya and response of their expression to *Colletotrichum brevisporum* infection [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed), 2022, 50(5): 127-138, 154.
- [27] Liwak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [28] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- Li H S. Principles and technology of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [29] 曹会兰, 张秀芹. 酮糖的显色试验研究 [J]. 渭南师范学院学报, 2015, 30(6): 52-55.
- Cao H L, Zhang X Q. Research on chromogenic test of ketose [J]. Journal of Weinan Normal University, 2015, 30(6): 52-55.
- [30] 哈森其木格, 贺锋嘎. 间苯二酚分光光度法测定芥菜多糖中的果糖含量 [J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(3): 446-448.
- Ha S Q M G, He F G. Resorcinol-spectrophotometric method for the determination of fructose in mustard leaf's amylose [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2002, 22(3): 446-448.
- [31] 郭冬生, 彭小兰. 蒽酮比色法和酶水解法两种淀粉测定方法的比较研究 [J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2007, 19(3): 35-36, 48.
- Guo D S, Peng X L. Comparative study on antrone chromometry and enzymatic hydrolysis for assay starch method [J]. Journal of Hunan University of Arts and Science (Nat Sci Ed), 2007, 19(3): 35-36, 48.
- [32] 任雪梅. 玉米籽粒发育基因 *Emp11* 及 *ZmSmk3* 的克隆及功能分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- Ren X M. Cloning and functional analysis of *Emp11* and *ZmSmk3* controlling kernel development in maize [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [33] 高小峰. 牡丹、芍药组间远缘杂交花粉萌发及胚胎发育的形态学研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.
- Gao X F. Study on the incompatibility between tree poney cultivars and poney cultivars, and overcome distant hybridization method [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2015.
- [34] 李明芳, 卢 诚, 刘兴地, 等. 荔枝无核和焦核机理的研究进展 [J]. 热带作物学报, 2016, 37(5): 1043-1049.
- Li M F, Lu C, Liu X D, et al. Research progress of seedless and stenopermocarpic mechanism in litchi [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(5): 1043-1049.
- [35] 马文静, 魏小红, 宿梅飞, 等. 干旱胁迫下紫花苜蓿幼苗非结构性碳水化合物代谢对 NO 的响应 [J]. 生态学报, 2019, 39(21): 8068-8077.
- Ma W J, Wei X H, Su M F, et al. Responses of non-structural carbohydrate metabolism of *Medicago sativa* seedlings to nitric oxide under drought stress [J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(21): 8068-8077.
- [36] Hsu Y W, Wang H J, Hsieh M H, et al. *Arabidopsis* mTERF-15 is required for mitochondrial nad2 intron 3 splicing and functional complex I activity [J]. PLoS ONE, 2014, 9(11): e112360.
- [37] Robles P, Núñez-Delegido E, Ferrández-Ayela A, et al. *Arabidopsis* mTERF6 is required for leaf patterning [J]. Plant Science, 2018, 226: 117-129.
- [38] Ding S H, Zhang Y, Hu Z, et al. mTERF5 acts as a transcriptional pausing factor to positively regulate transcription of chloroplast *psbEFLJ* [J]. Molecular Plant, 2019, 12: 1259-1277.
- [39] Pellegrini M, Asin-Cayuela J, Erdjument-Bromage H, et al. MTERF2 is a nucleoid component in mammalian mitochondria [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2019, 1787: 296-302.