

引用格式: 亢一帆, 敖妍, 王亦丛, 等. 文冠果性别分化期花芽营养成分及 miRNAs 分析[J]. 西北植物学报, 2025, 45(2): 0000-0000.
[KANG Y F, AO Y, WANG Y C, et al. Analysis of nutritional components and miRNAs in flower buds during sex differentiation stage in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2025, 45(2): 0000-0000.] DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.20240523

文冠果性别分化期花芽营养成分及 miRNAs 分析

亢一帆^{1,2,3}, 敖妍^{1,2,3}, 王亦丛^{1,2,3}, 王旭^{1,2,3}, 王可心^{1,2,3}

(1 北京林业大学 林学院, 北京 100083; 2 林木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083; 3 省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要 【目的】研究营养成分及 miRNAs 对文冠果性别分化的影响, 为提高雌雄比提供理论依据。【方法】采用蒽酮比色法测定非结构性碳水化合物含量; 凯氏定氮法、钼锑抗比色法、火焰光度计法、原子吸收分光光度法测定矿质元素含量; 构建 sRNA 文库比对筛选差异表达的 miRNAs; 采用 GO 和 KEGG 进行功能富集分析。【结果】(1) 雌、雄花内部结构出现差异后(分化中期), 雌花可溶性糖、淀粉含量均显著低于雄花。Mg 显著高于雄花, K、Cu、Zn 显著低于雄花, 后期 K、Ca、Cu、Zn 显著低于雄花, P 含量在分化期间均显著高于雄花。14 个 miRNAs 影响淀粉和糖的合成代谢, 其中 4 个 miRNAs 差异表达。17 个 miRNAs 影响 Fe、Mn、Cu、Ca 和 Mg 的结合转运, 其中 5 个 miRNAs 差异表达。【结论】高水平的 K、Ca、Cu、Zn 利于雄花发育, 高水平的可溶性糖、淀粉、P、Mg 利于雌花发育; miR408 和 miR396 等通过影响以上因子间接影响性别分化。

关键词 文冠果; 性别分化; 非结构性碳水化合物; 矿质元素; miRNAs

中图分类号 Q786; Q945.61 **文献标志码** A

Analysis of nutritional components and miRNAs in flower buds during sex differentiation stage in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge

KANG Yifan^{1,2,3}, AO Yan^{1,2,3}, WANG Yicong^{1,2,3}, WANG Xu^{1,2,3}, WANG Kexin^{1,2,3}

(1 College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2 State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing 100083, China; 3 Key Laboratory of Silviculture and Conservation of Minister of Education, Beijing 100083, China)

Abstract [Objective] This study aims to investigate the effects of nutritional components and miRNAs on the sex differentiation of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge, in order to provide a basis for improving the sex ratio in future studies. [Methods] Non-structural carbohydrate content was measured using the anthrone colorimetric method. Mineral element content was measured via the Kjeldahl method, Mo-Sb colorimetric method, flame photometry, and atomic absorption spectrophotometry. sRNA libraries were constructed to screen the differentially expressed miRNAs. Functional enrichment analysis was performed using GO and KEGG. [Results] After the appearance of internal structural differences in male and female flowers (middle stages of differentiation), the contents of soluble sugars and starch in female flowers were lower than that in male flowers. The content of Mg was higher in female flowers, while the content of K, Cu, and Zn was lower compared to male flowers. In the late stage, the content of K, Ca, Cu, and Zn was lower

收稿日期: 2024-09-24; 修改稿收到日期: 2024-11-03

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD2200402); 国家自然科学基金项目(32071738)

作者简介: 亢一帆(1999—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事能源树种分子育种研究。E-mail: 296398871@qq.com

通信作者: 敖妍, 教授, 博士生导师, 主要从事森林培育、能源树种培育研究。E-mail: aoyan316@163.com

in female flowers, and the content of P was consistently higher in female flowers during differentiation. 14 miRNAs were found to affect the anabolism of starch and sugar, among which four miRNAs were differentially expressed. 17 miRNAs involved in the transport of Fe, Mn, Cu, Ca, and Mg and 5 miRNAs were differentially expressed. [Conclusion] High levels of K, Ca, Cu, and Zn are beneficial to male flower development, while high levels of soluble sugar, starch, P, and Mg are beneficial to female flower development. miR408 and miR396 affect sex differentiation by indirectly influencing the above factors.

Key words *Xanthoceras sorbifolium* Bunge; gender differentiation; non-structural carbohydrates; mineral elements; miRNAs

文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge)为无患子科文冠果属植物,是中国北方地区特有的优良木本油料树种,其耐旱耐寒、适应性强,是优良的绿化荒山、防风固沙树种^[1]。种仁含油率约 60%,可作为高级食用油和生物柴油的优质原料^[2];果壳可提取皂苷、乙醇等化工原料^[3],种实可提取药用成分^[4],因此,在生态、经济等方面均具有广泛的研究和开发价值。文冠果为雌雄同株异花植物,且顶花序多为雌花,侧花序多为雄花,因此,雌雄比例低,进而也限制了其种子产量的提升^[5]。雌、雄花在分化初期均具有两性花的结构,雌花分化后期雄蕊退化,花药不开裂散粉,雄花则后期雌蕊败育退化^[6]。花朵由两性转变为单性说明其性别具有可塑性。

非结构性碳水化合物和矿质元素在植物性别分化过程起重要调控作用。研究发现,在苹果、李、油茶等植物中花的生长发育与可溶性糖和淀粉含量显著正相关^[7-9];当杏的雌蕊进入分化状态时会显著消耗可溶性糖和淀粉,含量不足会影响雌蕊发育^[10];花芽缺 Fe 会导致花粉发育受损^[11];锥栗中 N、K、Mn 有利于雄花序的发育^[12];越橘中 Mg 的积累有利于雄蕊分化,Ca、Mn 的积累则与雌蕊形成密切相关^[13];油柿中雌花的 N、P、K 含量显著低于雄花^[14]。

miRNA 作为重要的调控因子,直接或间接影响植物性别分化过程^[15]。研究发现,拟南芥 miR167、miR319 等通过靶向不同基因影响花粉、雌蕊等生长发育^[16-17];鹅掌楸 miR156h 和 miR156j 分别调控雄蕊和雌蕊的发育^[18]。miRNA 也可通过调控相关基因表达参与矿质元素和非结构性碳水化合物的生理生化过程^[19]。拟南芥 miR398 的表达受 Cu、Fe 调节,Fe 缺乏降低其表达,而 Cu 缺乏则促进其表达,miR827 通过抑制靶基因 *NLA* 翻译调控 N 分配过程^[20]。烟草 miR827 在缺 P 处理下表达上调^[21]。菜豆 miR169、miR170、miR396 等在 Mn 中毒期间上调^[22]。文冠果中 miR393、miR396、miR162、miR408、miR2673 和 miR5169 家族对其性别分化至关重要,特别是 miR393、miR396 和 miR399 与吲

哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)和玉米素(ZT)的产生有关,可能有利于雌蕊发育^[23-24];雄花中 miR160 和 miR167 的不同程度表达会导致雄花雌蕊败育^[25],所以提高雌雄比是增加文冠果种实产量的关键。目前针对其花芽性别分化方面的研究多集中在开花特性、形态结构、内源激素等方面^[26-28],关注非结构性碳水化合物、矿质元素的动态含量变化及其相关 miRNA 的报道尚少。因此,本研究通过比较文冠果雌、雄花性别分化期的可溶性糖、淀粉、N、P、K、Ca、Mg、Fe、Mn、Zn 和 Cu 元素含量的动态变化,结合性别分化关键时期 miRNAs 的生物信息学分析,深度挖掘与非结构性碳水化合物和矿质元素含量相关的 miRNAs 及差异表达 miRNAs,进一步探究上述指标与文冠果性别分化的关系,为今后采取生理和分子手段提高雌雄比,进一步提高产量提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地位于山东省东营市,地处 118°12'42"—118°59'52"E,37°14'13"—37°31'57"N,海拔 8.8 m。温带大陆性季风气候,年均降水量 550~600 mm,年均气温约 12.5 °C,1 月气温平均 0.1 °C,7 月气温平均 28.3 °C,≥10 °C 积温约 4 300 °C,无霜期 206 d。

1.2 试验材料

试验材料为当地起源的 9 年生文冠果人工林,株行距 3 m×3 m,平均树高 2.8 m,平均冠幅 1.21 m,平均胸径 13 cm。选择林分内生长健壮、树势一致的 10 株文冠果作为采样对象。

1.3 试验方法

1.3.1 雌、雄花生理指标测定

基于本实验室前期对文冠果不同性别花分布特点、性别分化时期的研究结果^[27],确定采样时间及采样部位。在文冠果性别分化前期(3 月 27 日至 4 月 3 日,雌雄花的内外部形态一致)、性别分化中期(4 月 7 日至 4 月 10 日,雌花中雌蕊花柱伸长,柱头上出现明显的乳突状细胞;雄花中雌蕊开始退化,柱

头上未出现乳突状细胞,子房和胚珠出现败育)、性别分化后期(4月13日后,雌花中雌蕊发育成熟,雄蕊花粉彻底液泡化衰败;雄花中雌蕊退化败育,雄蕊花粉发育成熟)进行采样。各时期每株树上分别采集顶生花序中部10个花芽作为雌花样品,采集侧生花序中部10个花芽作为雄花样品。每个时期3次重复采样。采用蒽酮比色法测定可溶性糖和淀粉含量,凯氏定氮法测定N含量,钼锑抗比色法测定P含量,火焰光度计法测定K含量,原子吸收分光光度法测定Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu含量^[29]。

1.3.2 RNA提取、文库构建和高通量测序

为了精确比对非结构性碳水化合物与矿质元素对性别分化的影响,采集雌、雄花性别分化前期(a时期,3月31日)和性别分化中期(b时期,4月7日)的雌花(female,F)、雄花(male,M),采后迅速放入液氮,-80℃保存。提取RNA,质量检测合格后进行sRNA文库的构建和测序。以3月31日雌、雄花为材料构建的sRNA文库分别为Fa和Ma,以4月7日雌、雄花为材料构建的sRNA文库分别为Fb和Mb。文库质检合格后进行高通量并进行测序。

1.3.3 靶基因预测和功能富集分析

将来自于4个文库的miRNAs进行两两比对,筛选差异表达的miRNAs。利用miRanda和RNAhybrid 2种方式预测差异表达的miRNAs(conserved和novel)的靶基因,取交集作为最终的靶基因预测结果。对不同文库中差异表达的miRNAs对应的靶基因,分别进行GO(gene ontology)和KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)功能富集分析。

1.4 数据分析

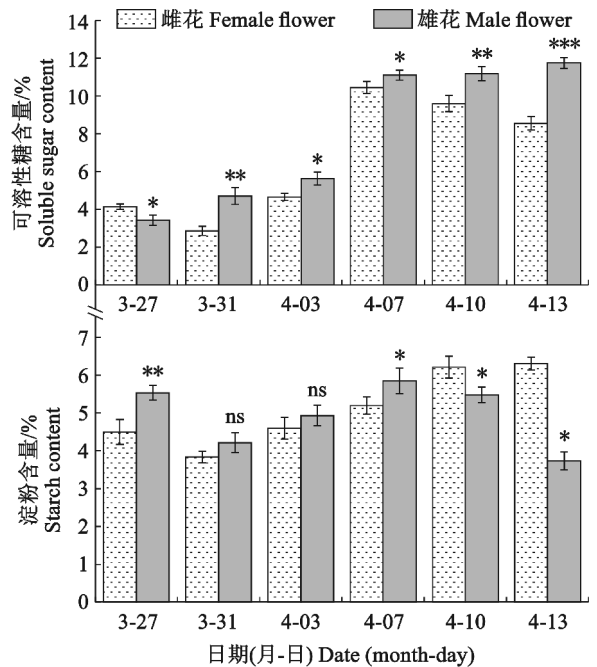
采用Excel 2020软件整理数据,IBM SPSS Statistics 27软件进行独立样本t检验(independent samples t-test)差异显著性分析($P < 0.05$),Origin 2022软件作图。

2 结果与分析

2.1 文冠果性别分化期雌、雄花非结构性碳水化合物含量变化

文冠果雌、雄花的可溶性糖含量在性别分化期始终差异显著。性别分化前期(3月27日)雌花可溶性糖含量显著高于雄花(图1)。雌花的可溶性糖含量在其柱头出现明显乳突细胞时(4月7日)达到峰值10.45%。雄花随着雌蕊败育的发生(4月7日),可溶性糖含量急剧上升至11.10%,此时直至性别分化后期(4月7—13日)雄花的可溶糖含量显著高于雌花。

文冠果雄花的淀粉含量在性别分化前期(3月27日)显著高于雌花,直至进入性别分化中期前(3月31日至4月3日),雄花的淀粉含量始终高于雌花,在雌雄花内部结构出现差异后(4月7日),淀粉含量差异达显著水平。随后雄花的淀粉含量下降至3.73%,雌花的淀粉含量上升至6.30%,且显著高于雄花。



*表示 $P \leq 0.05$; **表示 $P \leq 0.01$; ***表示 $P \leq 0.001$; ns表示差异不显著($P > 0.05$)。下同。

图1 文冠果性别分化期雌、雄花可溶性糖和淀粉含量变化

* indicates $P \leq 0.05$. ** indicate $P \leq 0.01$.

*** indicate $P \leq 0.001$. ns indicates no significant difference ($P > 0.05$). The same as below.

Fig.1 Changes of soluble sugar and starch content of female and male flowers during sex differentiation in *X. sorbifolium* Bunge

2.2 文冠果性别分化期雌、雄花常量元素含量变化

由图2可知,文冠果雌雄花的N含量均在性别分化前期(4月3日)上升,分别达到峰值12.75 mg/g和11.56 mg/g,随后逐渐降低且差异不显著。性别分化期间(3月31日至4月13日)雌花的P含量均显著高于雄花。除4月3日外,雄花K含量均显著高于雌花。文冠果雌花的Ca含量在性别分化前期(3月27日至4月3日)高于雄花,内部结构出现差异后(4月10日至4月13日),雌花的Ca含量降至0.35 mg/g,雄花达到峰值0.44 mg/g,且显著高于雌花。性别分化前期(3月27日)雌花的Mg含量显著低于雄花,而性别分化中期(4月7日)雌花柱头出现明显乳突细胞,Mg含量达到峰值1.63 mg/g,且显著高于雄花,其余阶段均无显著差异。

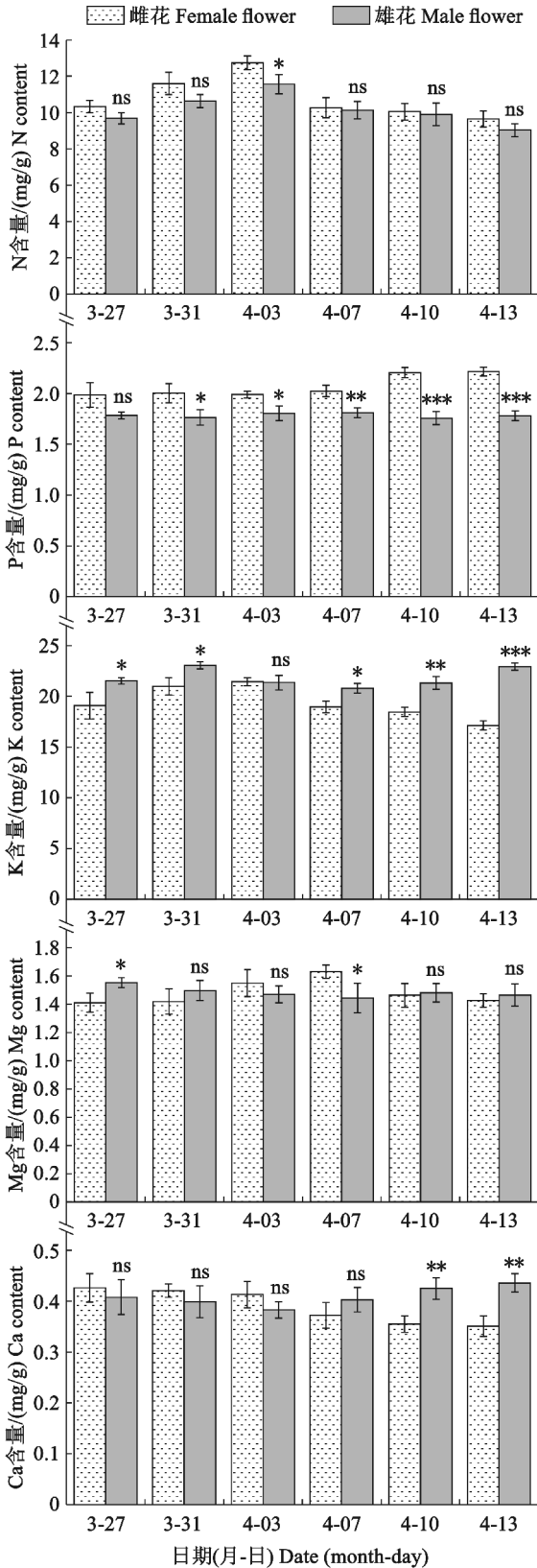


图2 文冠果性别分化期雌、雄花 N、P、K、Ca、Mg 含量变化

Fig. 2 Changes of N, P, K, Ca, and Mg contents of female and male flowers during sex differentiation in *X. sorbifolium* Bunge

2.3 文冠果性别分化期雌、雄花微量元素含量变化

如图3所示,文冠果雌花在性别分化前期(3月27日至4月3日)Mn含量逐渐下降至最低值0.05 mg/g, Fe含量由2.53 mg/g下降至0.76 mg/g(3月27日),期间两者含量显著低于雄花。雌、雄花内部出现结构差异后(4月7日至4月13日)两者含量维持在稳定水平,且无显著差异。雌花的Cu含量在性别分化前期(3月27日)显著高于雄花,Zn含量则低于雄花,但无显著差异,此后直至性别分化完成(3月31日至4月13日),雄花的Zn含量显著高于雌花,Cu含量除4月10日均显著高于雌花。

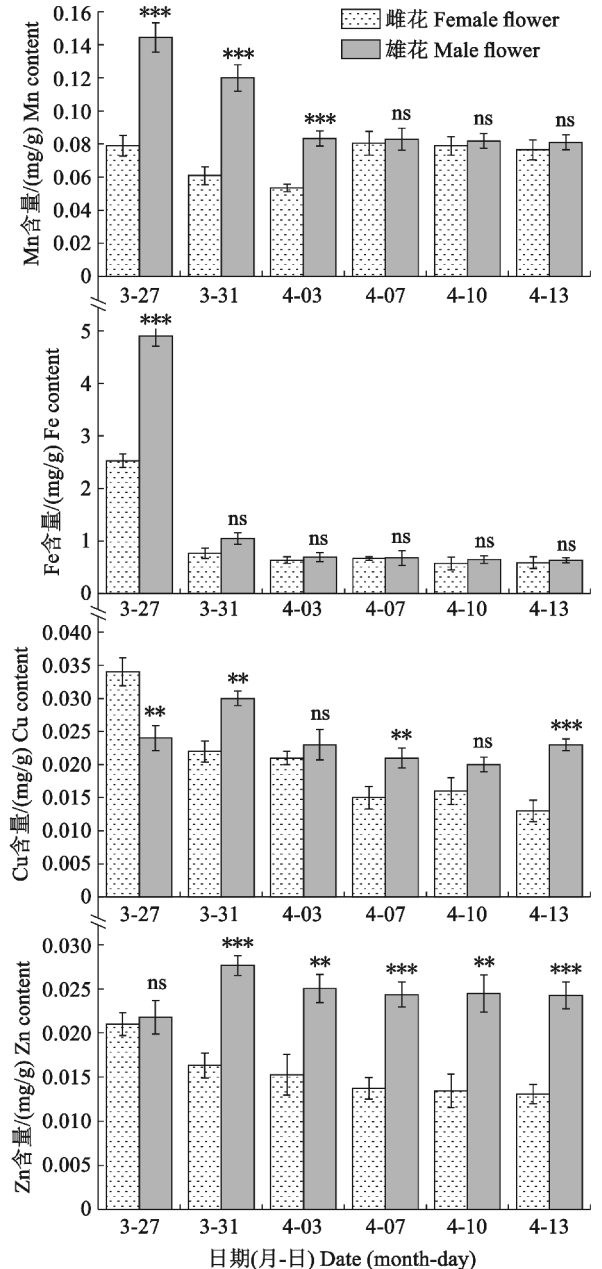


图3 文冠果性别分化期雌、雄花 Mn、Cu、Fe、Zn 含量变化
Fig. 3 Changes of Mn, Cu, Fe, and Zn contents of female and male flowers during sex differentiation in *X. sorbifolium* Bunge

2.4 文冠果非结构性碳水化合物和矿质元素相关 miRNAs 及其靶基因功能分析

非结构性碳水化合物和矿质元素在文冠果花芽性别分化过程中发挥重要作用,miRNA 能够通过调节靶基因表达调控非结构性碳水化合物和矿质元素。基于文冠果性别分化关键期 miRNA 测序结果和 GO 功能注释情况,筛选与非结构性碳水化合物及矿质元素相关的 miRNA 和靶基因,结果见表 1。来自 miR162、miR8709、miR159、miR396、miR156、miR394、miR408、miR413、miR5169、miR8590 和 miR6140 家族

的 12 个保守 miRNAs 及 2 个 novel miRNAs 被注释到直接影响淀粉和糖的合成代谢。来自 miR162、miR475、miR482、miR6479、miR319 家族的 6 个保守 miRNAs 和 1 个 novel miRNA 影响铁离子的细胞反应及铁离子结合。miR397、miR156、miR408 家族的 5 个保守 miRNAs 涉及铜离子结合及转运过程。miR396 家族的 1 个保守 miRNA 注释功能为镁离子结合。针对锰离子响应的 2 个 miR156 家族的保守 miRNAs 同时与钙离子结合及转运直接相关,2 个 novel miRNAs 也与钙离子结合及转运直接相关。

表 1 与文冠果非结构性碳水化合物和矿质元素相关的 miRNAs 及其靶基因
Table 1 miRNAs and their target genes related to non-structural carbohydrates and mineral elements in *X. sorbifolium* Bunge

miRNA	靶基因 Target gene	靶基因功能 Target gene function
bra-miR162-3p_R1-17L21	<i>TR1683 c0_g1</i> <i>TR7356 c0_g1</i>	淀粉和蔗糖代谢 Metabolism of starch and sucrose 对蔗糖及果糖的响应 Response to sucrose and fructose
gra-miR8709a_R23-1L24_10T-C lus-miR159c_R1-21L21	<i>TR6109 c0_g1</i>	蔗糖代谢过程 Metabolism of sucrose
ata-miR396e-3p_R1-15L21	<i>TR6969 c0_g1</i>	蔗糖代谢过程 Metabolism of sucrose
ata-miR156e-5p_R1-19L20_7A-G	<i>TR11832 c0_g1</i>	葡聚糖生物合成过程 Dextran biosynthesis process
mes-miR394c_R1-21L22	<i>TR9329 c0_g1</i>	淀粉及糖原生物合成过程 Starch and glycogen biosynthesis processes
ata-miR408-3p_R1-17L20	<i>TR3632 c0_g1</i>	淀粉代谢过程 Metabolism of starch 蔗糖分解代谢过程 Sucrose catabolism process
ath-miR413_R17-3L21	<i>TR5281 c0_g1</i>	木聚糖生物合成过程 Xylan biosynthesis process
hbr-miR408a_R1-21L22_6T-G	<i>TR1568 c0_g1</i>	麦芽糖生物合成过程 Maltose biosynthesis process 多糖分解代谢过程 Starch catabolism process 淀粉代谢过程 Metabolism of starch
bdi-miR5169b_R7-21L21	<i>TR4270 c0_g1</i>	岩藻糖分解代谢过程 L-fucose catabolism process
atr-miR8590_R20-6L24	<i>TR6464 c0_g1</i>	葡聚糖生物合成过程 Dextran biosynthesis process
pgi-miR6140b_R9-23L24	<i>TR6251 c0_g1</i>	多糖分解代谢过程 Starch catabolism process
novel-m0009-5p	<i>TR10521 c0_g1</i> <i>TR3642 c0_g1</i>	淀粉代谢过程 Metabolism of starch 淀粉生物合成及分解过程 Starch biosynthesis and degradation processes
novel-m0318-5p	<i>TR12985 c0_g1</i> <i>TR9532 c0_g2</i>	糖胺聚糖生物合成及降解 Glycosaminoglycan biosynthesis and degradation 蔗糖代谢过程 Metabolism of sucrose
bra-miR162-3p_R1-17L21	<i>TR7356 c1_g1</i>	对铁离子的细胞响应 Cellular response to ferric ions
ptc-miR475d-3p_R1-17L21 ptc-miR482c-3p_10G-T ptc-miR6479_R1-15L21	<i>TR11991 c1_g1</i>	铁离子结合 Ferric ion binding
gma-miR319l gma-miR319q	<i>TR11589 c0_g2</i>	铁离子结合 Ferric ion binding
atr-miR397b_R1-17L21	<i>TR8196 c0_g1</i>	铜离子结合 Copper ion binding
ata-miR156e-5p_R1-19L20_7A-G	<i>TR13209 c0_g1</i>	铜离子结合 Copper ion binding
ata-miR408-3p_R1-17L20 cpa-miR408_R2-20L21 stu-miR408b-3p_R1-21L21	<i>TR12054 c0_g1</i>	铜离子转运 Copper ion transport
cme-miR396e_R1-20L21	<i>TR7311 c0_g1</i>	镁离子结合 Magnesium ions binding
ata-miR156e-5p_R1-19L20_7A-G cme-miR156j_R2-22L22	<i>TR10589 c0_g1</i>	对锰离子的细胞响应 Cellular response to manganese ions 钙离子转运 Calcium ion transport
novel-m0263-5p	<i>TR3240 c0_g1</i>	钙离子转运 Calcium ion transport
novel-m0318-5p	<i>TR9405 c0_g1</i>	钙离子结合 Calcium ion binding
novel-m0009-5p	<i>TR10521 c0_g1</i>	钙离子结合 Calcium ion binding

2.5 文冠果雌、雄花非结构性碳水化合物和矿质元素相关差异表达 miRNAs 分析

比较不同时期文冠果雌、雄花的 miRNAs, 构建雌花性别分化前期 (Fa)、中期 (Fb)、雄花性别分化前期 (Ma)、中期 (Mb) 4 个 miRNAs 文库并进行序列测定, 筛选与非结构性碳水化合物和矿质元素相关的差异表达 miRNAs, 聚类分析如图 4 所示。

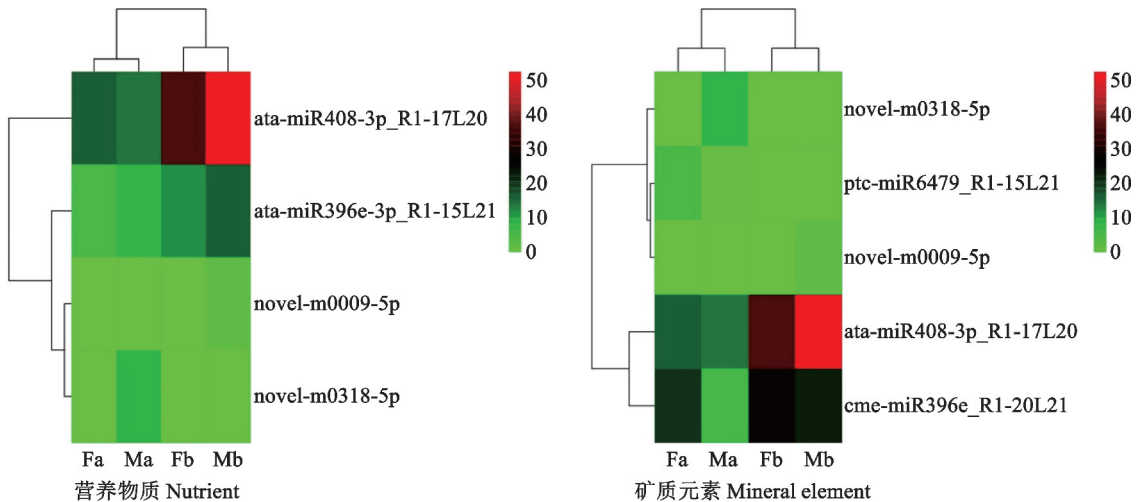
比对组合 Fa 和 Fb, 与非结构性碳水化合物相关的差异表达 miRNAs 中, ata-miR408-3p_R1-17L20 和 ata-miR396e-3p_R1-15L21 均在 Fb 中上调表达。与矿质元素相关的差异表达 miRNAs 中, ata-miR408-3p_R1-17L20 和 cme-miR396e_R1-20L21 在 Fb 中上调表达, ptc-miR6479_R1-15L21 则在 Fb 中下调表达。

比对组合 Ma 和 Mb, 与非结构性碳水化合物相关的差异表达 miRNAs 中, ata-miR408-3p_R1-17L20、ata-miR396e-3p_R1-15L21 和 novel-m0009-5p 均在 Mb 中上调表达, novel-m0318-5p 则下调表达。与矿质元素相关的差异表达 miRNAs 中, ata-

miR408-3p_R1-17L20 和 cme-miR396e_R1-20L21 在 Mb 中上调表达, novel-m0318-5p 和 ptc-miR6479_R1-15L21 下调表达。

比对组合 Ma 和 Fa, 与非结构性碳水化合物相关的差异表达 miRNAs 中, ata-miR408-3p_R1-17L20 在 Ma 中下调表达, miR396e-3p_R1-15L21 和 novel-m0318-5p 上调表达。与矿质元素相关的差异表达 miRNAs 中, 仅 novel-m0318-5p 在 Ma 上调表达, ptc-miR6479_R1-15L21、ata-miR408-3p_R1-17L20、cme-miR396e_R1-20L21 则在 Fa 中高表达。

比对组合 Mb 和 Fb, 与非结构性碳水化合物相关的差异表达 miRNAs 中, ata-miR408-3p_R1-17L20、miR396e-3p_R1-15L21 和 novel-m0318-5p 在 Mb 中上调表达。ata-miR396e-3p_15L21 通过靶向 TR6969 c0_g1 影响蔗糖代谢过程, 在雄花的生长发育过程起作用。与矿质元素相关的差异表达 miRNAs 中, novel-m0009-5p 和 ata-miR408-3p_R1-17L20 在 Mb 中上调表达, cme-miR396e_R1-20L21 在 Mb 中下调表达。



Fa. 雌花性别分化前期; Fb. 雌花性别分化期; Ma. 雄花性别分化前期; Mb. 雄花性别分化期。

图 4 文冠果营养物质和矿质元素差异表达的相关 miRNAs 聚类分析

Fa, female flowers before sex differentiation. Fb, female flowers during sex differentiation.

Ma, male flowers before sex differentiation. Mb, male flowers during sex differentiation.

Fig. 4 miRNA cluster analysis of the differential expression of nutrients and mineral elements in *X. sorbifolium* Bunge

3 讨论

在植物花器官的生长发育过程中, 大多数单性花在性别分化初期兼具两性原基, 随着性别分化的进行, 雌、雄蕊原基在特定阶段发生选择性败育形成单性花^[30]。文冠果所具有的两性花结构为人为调控性器官发育提供了基础。可溶性糖作为主要营养

物质, 可为性别分化提供能量支持, 而淀粉作为储备营养物质, 需要能量时会水解成糖, 两者相辅相成促进植物性别分化^[31-32]。研究发现淀粉粒利于文冠果大孢子细胞的减数分裂, 与雌蕊发育关系密切^[33]。本研究中, 文冠果性别分化中期雌花淀粉含量显著高于雄花, 与同为无患子科的龙眼研究结果^[34]相似。李和连香树中发现雌株可溶性糖的消耗高于雄

株,雌蕊原基分化时迅速消耗可溶性糖^[8,35],与本研究文冠果性别分化中期雌花可溶性糖显著低于雄花结果一致,由此推断雌花在性别分过程中优先直接利用可溶性糖,高含量的淀粉有助于雌花的形成。

N、P、K、Ca、Mg 作为植物体内的大量矿质元素,参与调节包括性别分化在内的多种生理生化活动。Ca 和 Mg 与雄花的生长发育密切相关,其含量的减少会抑制花粉萌发和花粉管生长^[36-37],N、K 则促进其生长^[14],K 在雄花的构建中发挥重要作用,但不同植物性别决定中 K 的作用会有差异^[20]。麻疯树雌花中 P 含量显著高于雄花^[38]。本研究同样发现雌花中 P 含量在性别分化过程中显著高于雄花,表明 P 对雌花的形成起重要作用。在雌、雄花内部出现明显差异时,雄花中 K、Ca 含量显著高于雌花,说明二者有助于雄花的发育。与前人研究不同的是,本研究未发现性别分化期间 N、Mg 在不同性别花间的差异。

微量矿质元素 Mn、Fe、Cu 和 Zn 元素含量的盈余对植物体雄花的形成有利。Mn、Fe 影响多种酶活性,进而影响植物花粉的发育,Zn 参与调控雄配子发育过程,Cu 通过调节植物糖代谢使营养更多分配供雄花生长发育^[39-40]。本研究发现,雌、雄花内部出现明显差异后 Mn、Fe 含量并无显著差异,而雄花中 Cu 和 Zn 含量则显著高于雌花,这与核桃中得出 Cu、Zn 含量在雄花序中含量最高结果^[41]一致,可见 Cu 和 Zn 的积累对文冠果雄花的发育有利。植物中 K^+ 与 Ca^{2+} 在不同浓度下彼此促进或拮抗,而由于 Ca^{2+} 可增强细胞膜对其他离子的选择性吸收,所以不同离子之间的作用关系复杂^[42],本研究中性别分化不同时期矿质元素之间的相互作用还有待深入研究。

miRNA 通过直接调控靶基因的表达或通过调控靶基因影响相关的激素合成和信号转导等途径间接地影响植物生长发育过程^[43]。研究发现 miR408 通过下调其靶基因,将 Cu 转运到质体蓝素中,从而调节花的生长发育^[44]。本研究发现来自 miR408 家族的 ata-miR408-3p_R1-17L20 在雄花性别分化期上调表达,通过靶向不同的靶基因分别调控淀粉代谢过程、蔗糖分解代谢过程以及铜离子转运过程,

直接或间接促进雄花发育。匍茎剪股颖中过表达 miR396 出现雄蕊缺陷^[45];拟南芥中 miR396 的过表达影响心皮和雌蕊发育^[46]。本研究中来自 miR396 家族的 miR396e-3p_R1-15L21 影响蔗糖代谢过程,在 Mb 中表达最高,表明其可能在雄花性别分化过程中发挥作用,而 cme-miR396e_R1-20L21 通过靶基因 *TR7311 c0_g1* 影响镁离子结合,在 Fb 中表达最高,表明其可能利于雌花分化。

综上所述,文冠果雌、雄花性别分化过程是受多种因素共同调控的复杂过程,研究推测植物体内营养成分的动态变化直接影响不同性别花的生长发育,而 miRNA 通过调控相关基因表达参与营养成分的生理生化过程,间接影响其性别分化过程。本研究通过测定雌、雄花的非结构性碳水化合物和矿质元素的动态变化、筛选差异表达的 miRNAs,初步明确了性别分化过程中这些物质的变化规律及重要 miRNAs。未来可采取在性别分化关键期适当补充矿质肥料、营养元素等措施探究对提高雌雄比,进而提高文冠果产量的作用,深入研究 miR408 及 miR396 的功能以及潜在的内部联系,从分子角度为提高雌花比例提供依据。

4 结 论

(1)文冠果雌雄花芽内部发生结构性差异后,雌花分化发育所消耗的可溶性糖和淀粉远高于雄花,高含量的可溶性糖和淀粉有助于雌花形成。

(2)高水平的 K、Ca、Cu、Zn 利于雄花发育,高水平的 P、Mg 则利于雌花发育。

(3)共发现 14 个 miRNAs 影响淀粉和糖的合成及代谢,其中 4 个 miRNAs 差异表达;17 个 miRNAs 影响 Fe、Mn、Cu、Ca 和 Mg 的结合和转运,其中 5 个 miRNAs 差异表达。miR408 家族的 ata-miR408-3p_R1-17L20 通过调控淀粉代谢过程、蔗糖分解代谢过程以及铜离子转运过程,直接或间接促进雄花发育;miR396 家族的 miR396e-3p_R1-15L21 影响蔗糖代谢过程,在雄花性别分化过程中发挥作用,而 cme-miR396e_R1-20L21 影响镁离子结合,在雌花性别分化过程中发挥作用。

参考文献:

[1] ZHU F, AO Y, HIRST P M, *et al.* Suitable pollen source for the improvement of fruit and seed traits in *Xanthoceras sorbifolium*[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 182: 114858.

[2] RUAN C J, YAN R, WANG B X, *et al.* The importance of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia*) for restoration of arid habitats and production of bioactive seed oils[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 99: 504-512.

- [3] ZANG E H, QIU B, CHEN N, *et al.* *Xanthoceras sorbifolium* Bunge: A review on botany, phytochemistry, pharmacology, and applications[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 708549.
- [4] ZHANG Z S, AO Y, SU N, *et al.* Dynamic changes in morphology and composition during seed development in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 190: 115899.
- [5] 马学韬, 朱菲, 张东旭, 等. 基于花果和产量性状的赤峰市文冠果优良类型筛选[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(5): 110-116.
MA X T, ZHU F, ZHANG D X, *et al.* Selection of fine types of *Xanthoceras sorbifolium* in Chifeng City based on flower, fruit, and yield traits [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2023, 38(5): 110-116.
- [6] 赵雅欣, 陈雨欣, 卢涵冰, 等. 文冠果 *XsSCL6* 基因克隆及表达分析[J]. 西北植物学报, 2023, 43(10): 1640-1652.
ZHAO Y X, CHEN Y X, LU H B, *et al.* Cloning and expression analysis of *XsSCL6* in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(10): 1640-1652.
- [7] 杨永娥, 张晓煜, 梁小娟, 等. 苹果花期至幼果期花朵和果实对低温的敏感性研究[J]. 西北植物学报, 2023, 43(10): 1694-1703.
YANG Y E, ZHANG X Y, LIANG X J, *et al.* Studies on the sensitivity of apple flowers and fruits to low temperatures from flowering to young fruiting stage[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(10): 1694-1703.
- [8] 雷武雪. 重庆青脆李花芽分化与质量对果实发育的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- [9] SI Y Y, WEN Y, YE H L, *et al.* The sink-source relationship regulated *Camellia oleifera* flower bud differentiation by influencing endogenous hormones and photosynthetic characteristics[J]. *Forests*, 2023, 14(10): 1965.
- [10] 陈翠莲, 赵通, 郭荣, 等. 敦煌‘李光杏’花芽发育过程中雌蕊败育观察及生物学特性调查[J]. 西北植物学报, 2021, 41(2): 262-272.
CHEN C L, ZHAO T, GUO R, *et al.* Investigation of biological characteristics and observation of pistil abortion during flower bud development of *Prunus armeniaca* L. var. *glabra* Sun S. X [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(2): 262-272.
- [11] HUANG T H, SUEN D F. Iron insufficiency in floral buds impairs pollen development by disrupting tapetum function [J]. *The Plant Journal*, 2021, 108(1): 244-267.
- [12] 欧阳芬, 袁德义, 范晓明, 等. 锥栗花芽维梢分化进程及其相关营养物质含量的变化[J]. 果树学报, 2017, 34(8): 1007-1015.
OUYANG F, YUAND Y, FAN X M, *et al.* A study on the floral shoot differentiation process and the changes in nutrient contents in *Castanea henryi* [J]. *Journal of Fruit Science*, 2017, 34(8): 1007-1015.
- [13] 周强, 耿佳麒, 王宇航, 等. 越橘花芽分化期叶片矿质元素含量和 C/N 变化分析[J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(2): 37-45.
ZHOU Q, GENG J Q, WANG Y H, *et al.* Change of mineral nutrient content and C/N in blueberry leaves during flower-bud differentiation [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2017, 48(2): 37-45.
- [14] 袁稼营, 张路, 张腾岳, 等. 油柿雌雄花芽同化物和重要元素含量比较分析[J]. 西北林学院学报, 2024, 39(3): 93-101.
YUAN J Y, ZHANG L, ZHANG T Y, *et al.* Comparative analyses on the contents of assimilates and essential elements between female and male floral buds in *Diospyros oleifera* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2024, 39(3): 93-101.
- [15] DONG Q K, HU B B, ZHANG C. MicroRNAs and their roles in plant development [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 824240.
- [16] LIU X D, LIU S J, CHEN X, *et al.* Maize miR167-ARF3/30-polyamine oxidase 1 module-regulated H₂O₂ production confers resistance to maize chlorotic mottle virus [J]. *Plant Physiology*, 2022, 189(2): 1065-1082.
- [17] HU Z W, LIU T T, CAO J S. Functional similarity and difference among *Bra-MIR319* family in plant development [J]. *Genes*, 2019, 10(12): 952.
- [18] TU Z H, XIA H, YANG L C, *et al.* The roles of microRNA-long non-coding RNA-mRNA networks in the regulation of leaf and flower development in *Liriodendron chinense* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 816875.
- [19] 范浩宇. 基于转录组测序的半夏珠芽形成调控机制研究[D]. 浙江理工大学, 2023.
- [20] PAUL S, DATTA S K, DATTA K. miRNA regulation of nutrient homeostasis in plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 232.
- [21] 周文杰, 张文瀚, 贾玮, 等. 植物 miRNA 响应非生物胁迫研究进展 [J]. 植物学报, 2024, 59(5): 810-833.
ZHOU W J, ZHANG W H, JIA W, *et al.* Advances in plant miRNAs responses to abiotic stresses [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2024, 59(5): 810-833.
- [22] MENDOZA-SOTO A B, SÁNCHEZ F, HERNÁNDEZ G. MicroRNAs as regulators in plant metal toxicity response [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, 3: 105.
- [23] ZHENG Y Q, LUO X F, WANG X, *et al.* The role of phytohormones and their related miRNAs in sex differentiation of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 307: 111498.
- [24] WANG X, ZHENG Y Q, SU S C, *et al.* Discovery and profiling of microRNAs at the critical period of sex differentiation in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. *Forests*, 2019, 10(12): 1141.
- [25] ZHAO Y X, LUO Y L, CHEN Y X, *et al.* Integration of miRNA and ARF gene analysis provides a reference for the pistil abortion mechanism in *Xanthoceras sorbifolium* [J]. *Industrial Crops and Products*, 2024, 212: 118289.
- [26] 王可心, 敖妍, 张党权, 等. 文冠果雌蕊败育机理研究进展 [J]. 植物生理学报, 2021, 57(8): 1617-1624.
WANG K X, AO Y, ZHANG D Q, *et al.* Research progress

- on pistil abortion in staminate flowers of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge[J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(8): 1617-1624.
- [27] 张宁, 敖妍, 苏淑钗, 等. 文冠果花性别分化过程中形态与解剖结构特征和气象因子分析[J]. *西北植物学报*, 2018, 38(10): 1846-1857.
- ZHANG N, AO Y, SU S C, *et al.* Analysis of morphological and anatomical features and meteorological factors during the sex differentiation in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(10): 1846-1857.
- [28] 张宁, 黄曜曜, 敖妍, 等. 文冠果花芽分化过程及内源激素动态变化[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2019, 43(4): 33-42.
- ZHANG N, HUANG Y Y, AO Y, *et al.* Flower bud differentiation and dynamic changes of endogenous hormone in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2019, 43(4): 33-42.
- [29] 李小方, 张志良. *植物生理学实验指导*[M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2016.
- [30] WANG L Y, LI H W, SUO Y J, *et al.* Programmed cell death facilitates the formation of unisexual male and female flowers in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) [J]. *Agronomy*, 2020, 10(2): 234.
- [31] SHANG C Q, CAO X J, TIAN T, *et al.* Cross-talk between transcriptome analysis and dynamic changes of carbohydrates identifies stage-specific genes during the flower bud differentiation process of Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* L.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(24): 15562.
- [32] LI W C, XU P, QIAN C, *et al.* The combined analysis of the transcriptome and metabolome revealed the possible mechanism of flower bud formation in *Amorphophallus bulbifer* [J]. *Agronomy*, 2024, 14(3): 519.
- [33] ZHOU Y, GAO S M, ZHANG X F, *et al.* Morphology and biochemical characteristics of pistils in the staminate flowers of yellow horn during selective abortion [J]. *Australian Journal of Botany*, 2012, 60(2): 143.
- [34] 王颖. 氯酸钾、生长调节剂及冬季不同淋水量调控龙眼成花机理研究[D]. 南宁: 广西大学, 2023.
- [35] 段秋笛, 杨旭, 赵焱, 等. 连香树花芽发育过程中的生理生化特性研究[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(22): 89-93.
- DUAN Q D, YANG X, ZHAO Y, *et al.* Study on physiological and biochemical characteristics of *Cercidiphyllum japonicum* during flower bud development [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2022, 61(22): 89-93.
- [36] STEINHORST L, KUDLA J. Calcium: A central regulator of pollen germination and tube growth [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, 1833(7): 1573-1581.
- [37] 徐金铭, 常毅洪, 龚涵, 等. 外源物质对油茶花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. *浙江农业学报*, 2023, 35(4): 789-798.
- XU J M, CHANG Y H, GONG H, *et al.* Effects of different exogenous substances on pollen germination and pollen tube growth of *Camellia oleifera* [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, 35(4): 789-798.
- [38] 王秀荣, 丁贵杰, 谢毅, 等. 麻疯树不同器官的营养分布特征[J]. *中南林业科技大学学报*, 2012, 32(4): 26-31.
- WANG X R, DING G J, XIE Y, *et al.* Nutrition distributing in different organs of *Jatropha curcas* [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2012, 32(4): 26-31.
- [39] 黄运鹏. 越南青柚反季节促花及其相关生理机制研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- [40] 袁婷婷, 路远峰, 谢寅峰, 等. 硼钼铜微肥施对太子参光合特性的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2021, 45(4): 130-136.
- YUAN T T, LU Y F, XIE Y F, *et al.* Effects of combined application of boron-molybdenum-copper microfertilizers on photosynthetic characteristics of *Pseudostellaria heterophylla* [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2021, 45(4): 130-136.
- [41] 张建英, 张莹莹, 毛向红. 核桃树体生物量构成及需肥规律需肥量研究[J]. *果树学报*, 2022, 39(2): 211-220.
- ZHANG J Y, ZHANG Y Y, MAO X H. Study on biomass composition, fertilizer requirement and fertilizing amount in walnut [J]. *Journal of Fruit Science*, 2022, 39(2): 211-220.
- [42] HIYA H J, NAKASHIMA Y, TAKEUCHI A, *et al.* Outward-rectifying potassium channels GORK and SKOR function in regulation of root growth under salt stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2024, 302: 154322.
- [43] BAJCZYK M, JARMOLOWSKI A, JOZWIAK M, *et al.* Recent insights into plant miRNA biogenesis: Multiple layers of miRNA level regulation [J]. *Plants*, 2023, 12(2): 342.
- [44] GAO Y, FENG B H, GAO C X, *et al.* The evolution and functional roles of miR408 and its targets in plants [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(1): 530.
- [45] YUAN S R, LI Z G, YUAN N, *et al.* MiR396 is involved in plant response to vernalization and flower development in *Agrostis stolonifera* [J]. *Horticulture Research*, 2020, 7(1): 173.
- [46] QU H, LIU Y, JIANG H B, *et al.* Identification and characterization of miRNAs associated with sterile flower buds in the tea plant based on small RNA sequencing [J]. *Hereditas*, 2021, 158(1): 26.