



谭国飞,罗庆,钟秀来,等.‘溧阳白芹’雄性不育材料的选育及线粒体候选基因的鉴定[J].南京农业大学学报,2026,49(4):759-767.

Tan G F, Luo Q, Zhong X L, et al. Breeding of male sterile materials and identification of mitochondria candidate gene in ‘Liyangbaiqin’ [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2026, 49(4): 759-767.

‘溧阳白芹’雄性不育材料的选育及线粒体候选基因的鉴定

谭国飞^{1,2}, 罗庆^{2,3}, 钟秀来^{1,2}, 朱顺华^{1,2}, 张健^{4*}, 熊爱生^{3*}

(1. 贵州省农业科学院园艺研究所/贵州省园艺工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550006; 2. 农业农村部喀斯特山区作物基因资源与种质创新重点实验室, 贵州 贵阳 550006; 3. 南京农业大学园艺学院/作物遗传与种质创新利用全国重点实验室/农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 江苏 南京 211800; 4. 吉林农业大学农学院, 吉林 长春 130118)

摘要: [目的] 本文旨在创制和选育‘溧阳白芹’雄性不育材料, 打破‘溧阳白芹’杂交品种的培育限制, 以培育‘溧阳白芹’新材料。[方法] 用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变‘溧阳白芹’的种子, 通过筛选、形态鉴定、育性研究、线粒体基因组测序、基因克隆等方法对‘溧阳白芹’雄性不育材料进行分析。[结果] 以‘溧阳白芹’种子为诱变材料, 从 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EMS、浸泡 2 h 的组合中, 筛选出 1 株花丝花药萎缩, 花药中未有花粉粒的雄性不育材料(命名为 LYSQBU001)。线粒体基因组测序结果表明, LYSQBU001 线粒体基因组为单环结构(NCBI:PQ790628), 长度为 384 078 bp, GC 含量为 45.03 %, 含 35 个 unique 蛋白质编码基因, 22 个 tRNA 基因, 3 个 rRNA 基因; 有 79 个 SSR, 其中四聚体数量最高(32 个, 40.5%); 含有 20 个串联复制和 437 对重复序列; 丙氨酸(Ala)对密码子 GCU 有较高的使用, 而对密码子 GCG 使用最低。对比其他伞形科植物, LYSQBU001 线粒体 *atp6* 基因在 5'端发生缺失, 克隆测序表明 LYSQBU001 与可育的‘溧阳白芹’(LYSQKU001)在 5'端缺失 462 bp 片段, 导致 LYSQBU001 仅为 744 bp (LYSQKU001 中长度为 1 206 bp), 缺失片段为跨膜结构。进化分析表明, LYSQBU001 中 *atp6* 蛋白序列与不育的胡萝卜、茴香同属于一个分支, 而 LYSQKU001 中 *atp6* 蛋白序列与可育的胡萝卜和茴香属于同一个分支。[结论] 线粒体 *atp6* 基因突变是‘溧阳白芹’LYSQBU001 雄性不育产生的原因, 可用于‘溧阳白芹’新品种培育。

关键词: 溧阳白芹; 雄性不育; *atp6*; 线粒体; 选育

中图分类号: S644.9

文献标志码: A

文章编号: 1000-2030(2026)04-0759-09

Breeding of male sterile materials and identification of mitochondria candidate gene in ‘Liyangbaiqin’

TAN Guofei^{1,2}, LUO Qing^{2,3}, ZHONG Xiulai^{1,2}, ZHU Shunhua^{1,2},
ZHANG Jian^{4*}, XIONG Aisheng^{3*}

(1. Institute of Horticulture / Horticultural Engineering Technology Research of Guizhou, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China; 2. Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Innovation in Karst Mountain Area, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guiyang 550006, China; 3. College of Horticulture / State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement and Utilization / Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in East China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China; 4. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: [Objectives] The paper aimed to create and select male sterile materials of ‘Liyangbaiqin’ [*Oenanthe javanica* (Blume) DC], to break the limitations of cultivating hybrid varieties of ‘Liyangbaiqin’, and thereby breed new variety of ‘Liyangbaiqin’. [Methods] Using ‘Liyangbaiqin’ seeds as mutagenic materials, ethyl methanesulfonate (EMS) was used for mutagenesis of ‘Liyangbaiqin’ seeds, and the male sterile materials of ‘Liyangbaiqin’ were analyzed by screening, morphological identification, fertility research, mitochondrial genome sequencing, gene cloning, and other methods. [Results] One male sterile material of ‘Liyangbaiqin’ (named: LYSQBU001) without pollen grains in the anthers was selected from the combination of EMS with a

收稿日期: 2025-03-11

基金项目: 贵州省科学技术厅项目(黔科合服企[2022]014, 黔科合服企[2024]003-1, 黔科合服企[2024]003-2); 贵州省农业科学院项目(黔农科博士基金[2024]03 号, 黔农科种质资源[2023]17 号); 贵州省高原特色蔬菜产业体系(GZMARS); 南京农业大学三亚研究院引导资金项目(NAUSY-MS33); 贵州省山地农业关键核心技术攻关项目(GZNYGJHX-2023013)

作者简介: 谭国飞, 副研究员, 研究方向为伞形科蔬菜育种及分子生物学, E-mail: tgfei@foxmail.com。* 通信作者: 张健, 教授, 研究方向为植物分子生物学, E-mail: jian.zhang@ubc.ca; 熊爱生, 教授, 研究方向为伞形科蔬菜分子生物学, E-mail: xiongaisheng@njau.edu.cn。

concentration of $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and soaking for 2 h. The results showed that the mitochondrial genome of LYSQBU001 was a single loop structure (NCBI:PQ790628), with a length of 384 078 bp and the GC content of 45.03%. It contained 35 unique protein coding genes, 22 tRNA genes, and 3 rRNA genes. There were 79 SSR, and the highest number was the tetramers (32, 40.5%). It contained 20 tandem replicates and 437 pairs of repetitive sequences. Alanine (Ala) had a higher usage of codon GCU, while the lowest usage of codon GCG. Compared with other Apiaceae plants, the mitochondrial *atp6* gene had a fragment missing at the 5' end. Cloning and sequencing showed that a 462 bp fragment was missing at the 5' end compared to the fertile 'Liyangbaiqin' (LYSQKU001), resulting in the length of LYSQBU001 being only 744 bp (LYSQKU001 was 1 206 bp), and the missing fragment was the transmembrane segment. Evolutionary analysis showed that the *atp6* protein sequence in LYSQBU001 belonged to the same branch with sterile carrots and fennel, while the *atp6* protein sequence in LYSQKU001 belonged to the same branch with fertile carrots and fennel. [Conclusions] The mitochondrial *atp6* gene mutation was the cause of male infertility in 'Liyangbaiqin' LYSQBU001, and could be used for the cultivation of new varieties of 'Liyangbaiqin'.

Keywords: Liyangbaiqin; male sterile; *atp6*; mitochondrion; breeding

‘溧阳白芹’ [*Oenanthe javanica* (Blume) DC] 为伞形科 (Apiaceae) 水芹属多年生水生蔬菜, 是江苏省溧阳地区优异的水芹种质资源材料, 因其品质优良、口感好, 入选全国农作物种质资源普查优异种质资源^[1]。长期以来, ‘溧阳白芹’ 种苗大部分是从野生资源中搜集而来, 无性繁殖扩繁种植, 导致品种逐渐退化。水芹植物为两性花, 花小、花序中花发育不一致、去雄难度大、杂交后种子难发芽, 严重制约了水芹杂交种的选育^[2]。

目前, 已有 4 例水芹雄性不育材料的报道, 分别为 2 例多裂叶水芹种^[3-4]、1 例水芹种^[5] 和 1 例线叶水芹^[6]。同为伞形科蔬菜作物的胡萝卜^[7-8]、芹菜^[9-10]、茴香^[11]等, 雄性不育材料的培育和利用是实现杂交育种和制种的关键。同时, 针对伞形科植物的雄性不育, 研究人员已从遗传、分子等方面进行了研究, 明确了这些雄性不育材料的遗传机制和候选基因。胡萝卜中已报道的不育候选基因较多, 如 *atp6*、*atp8*、*atp9*、*Cox 1*、*Cox 2*、*nad3* 和 *cob* 等^[12]; 芹菜中, 报道的 2 例不育材料均由线粒体 *Cox 1* 突变导致^[9-10]; 茴香中, 已报道线粒体 *atp6* 基因 5' 端缺失是其不育原因^[11]; 水芹中仅报道了线粒体 *ccmFN* 基因突变, 导致多裂叶水芹产生不育^[4], 但 ‘溧阳白芹’ 雄性不育未有报道。

‘溧阳白芹’ 在江苏溧阳地区栽培面积大、价格高, 产业潜在价值好, 已成为当地增加农户收入的重要支柱产业之一。因此, 本研究以前期获得的 ‘溧阳白芹’ 雄性不育材料为试材, 分析其线粒体基因组, 鉴定其与不育相关的候选基因, 为 ‘溧阳白芹’ 雄性不育系用于杂交种选育提供理论依据, 同时也为其产业发展奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料来源及鉴定

‘溧阳白芹’ 材料搜集于江苏省溧阳市河沟中, 经南京农业大学园艺学院伞形科蔬菜课题组鉴定后确认, 并发表了相关研究论文^[13]。2017 年 7—9 月, 该材料于花期自交, 并收集种子。将种子一分为二 (双悬果), 直接浸泡在不同浓度的化学诱变剂甲基磺酸乙酯 (EMS) 中, 经不同时间浸泡后, 清洗干净, 播种于育苗基质中。待幼苗长至 4 叶期时, 单株栽于营养钵 (直径 95 mm, 高 80 mm) 中。于 2018 年 7—9 月花期时进行筛选, 最终从 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EMS、浸泡 2 h 的组合中, 获得 1 株花发育异常植株 (LYSQBU001), 将其单独种植于花盆中培养。

同时, 从可育的原始 ‘溧阳白芹’ 植株 (LYSQKU001) 中, 采集花粉授粉给 LYSQBU001, 收获种子。将种子播种于营养土中, 待幼苗长至 4 叶期后单株移栽于营养钵中, 并于 2019—2023 年连续观察后代育性情况, 共有 85 株; 2020—2021 年, 将 LYSQKU001 花粉授粉给 2020 年出现不育后代的植株, 收获种子进行播种, 观察后代育性情况, 共有 315 株。在花期时, 利用碘-碘化钾法 (I_2 -KI) 对 LYSQKU001、LYSQBU001 和杂交后代植株的花药进行染色, 在显微镜下观察花药中花粉粒情况并拍照。

1.2 线粒体基因组提取

分别取幼嫩的 LYSQKU001 和 LYSQBU001 叶片, 按照芹菜线粒体提取的方法^[8], 使用植物线粒体提取试剂盒 (北京雷根生物技术有限公司) 分别提取 2 个水芹线粒体基因组 DNA。使用微量分光光度计 Nanodrop ND-100 (Nanodrop Technologies Inc., DE, USA) 检测提取线粒体 DNA 的浓度和纯度, 并将其保存

于-20℃冰箱中,用于线粒体基因组测序和基因克隆。LYSQBU001 线粒体基因组测序委托武汉贝纳科技有限公司。

1.3 线粒体基因组测序、组装和注释

采用 Illumina 公司提供的二代测序 BGI 和 Nanopore 提供的三代测序平台的标准试验步骤,具体参考多裂叶水芹线粒体组装和注释的步骤和方法,包括样品质量检测、文库构建及检查和测序等^[4]。其中组装使用 Flye 软件和 bwa 软件,获得混合线粒体基因组数据;使用 Unicycler 软件在默认的参数下对混合数据进行组装,得到组装数据;使用 Bandage(v0.8.1)软件对组装数据进行可视化操作。

以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, NC_037304)和北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera*, NC_021152.1)线粒体基因组为参考,使用 PMGA(<http://www.1kmpg.cn/ipmga/>)进行 LYSQBU001 线粒体基因组注释。其中,线粒体基因组的 rRNA 使用 BLASTn 软件(v2.13.0)注释,tRNA 使用 tRNAscan-SE 软件(v2.0.11)注释,使用 Apollo 软件(v1.11.8)对错误的注释进行手动校对修改,最后使用 OGDRAW 软件进行可视化线粒体基因组图谱。同时,利用伞形科胡萝卜(*Daucus carota*, NC_017855.1)、芹菜(*Apium graveolens*, MZ328722.1)、水芹(*Oenanthe javanica*, OR209169)等蔬菜的线粒体基因组,对获得的溧阳白芹线粒体基因组进行校对。

1.4 密码子偏好性(relative synonymous codon usage, RSCU)分析

使用 Phylosuite v1.1.16 软件提取基因组的蛋白编码序列,然后使用 MEGA v7.0 软件对蛋白编码的基因进行密码子偏好性分析,并计算 RSCU 值。

1.5 线粒体基因组重复序列分析

分别使用 MISA v2.1(<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>)、TRF v4.09(<https://tandem.bu.edu/trf/trf.unix.help.html>)和 REPuter 网络服务器(<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer/>)对微卫星序列重复、串联重复和散在重复的重复序列进行识别。使用 Excel 2021 软件和 Circos 包(v0.69.9)对结果进行可视化分析。

1.6 不育候选基因的鉴定及克隆

结合注释信息,以及茴香和胡萝卜不育与可育研究论文及对应的线粒体基因信息,对 LYSQBU001 中的不育候选基因进行筛选。同时,结合课题组转录组测序的可育材料 LYSQKU001 数据,设计 *atp6* 差异引物进行克隆,其中 *atp6*-F1(5'-ATGCCTACTAGATTTCAACGCATC-3')和 *atp6*-F2(5'-ATGAATATAGGACACTTGTATTTTC-3')为正向引物,*atp6*-R(5'-TCAATTATAAATAACCACTTCACT-3')为反向引物,*atp6*-F1 和 *atp6*-R 引物能够克隆 *atp6* 长度为 1 206 bp,而 *atp6*-F2 和 *atp6*-R 克隆长度为 744 bp。

1.7 三维结构和进化分析

不育候选基因对应的氨基酸序列,利用 SWISS MODEL 在线网站(<https://swissmodel.expasy.org/>)对三维结构进行预测和建模,并输出模型图片。

利用 MEGA 5 软件中 MP(maximum parsimony)算法,将可育和不育‘溧阳白芹’*atp6* 基因对应的氨基酸序列,同可育和不育胡萝卜和茴香等线粒体 *atp6* 氨基酸序列一起,构建同源进化树。

2 结果与分析

2.1 ‘溧阳白芹’LYSQKU001 和 LYSQBU001 其花期比较及遗传特点

在花期时,对‘溧阳白芹’可育 LYSQKY001 与不育 LYSQBU001 进行比较,结果表明可育 LYSQKY001 花中花丝和花药外露(图 1-A),花药中有大量具有活力的花粉粒(图 1-B);不育 LYSQBU001 花中没有明显花丝和花药外露,但其花柱明显比可育 LYSQKY001 长(图 1-C),其花药萎缩,没有花粉粒(图 1-D)。

对 LYSQKY001 授粉给 LYSQBU001 所获得的 85 株后代进行花期观察,发现其均表现出类似 LYSQBU001 的不育特征;后代不育植株接受 LYSQKY001 花粉后,收获的种子继续种植,315 个植株均表现为不育特征。表明 LYSQBU001 不育性状可能为胞质遗传,推测可能由线粒体基因发生突变导致。

2.2 LYSQBU001 线粒体特征

线粒体基因组测序表明,LYSQBU001 线粒体基因组长度为 384 078 bp,GC 含量为 45.03%(图 2)。对 LYSQBU001 线粒体基因组进行注释,共注释到 35 个 unique 蛋白质编码基因(*nad6* 和 *nad7* 为 2 个拷贝),其中 24 个独特的线粒体核心基因和 11 个非核心基因,22 个 tRNA 基因(其中 *trnG-GCC*、*trnK-UUU*、

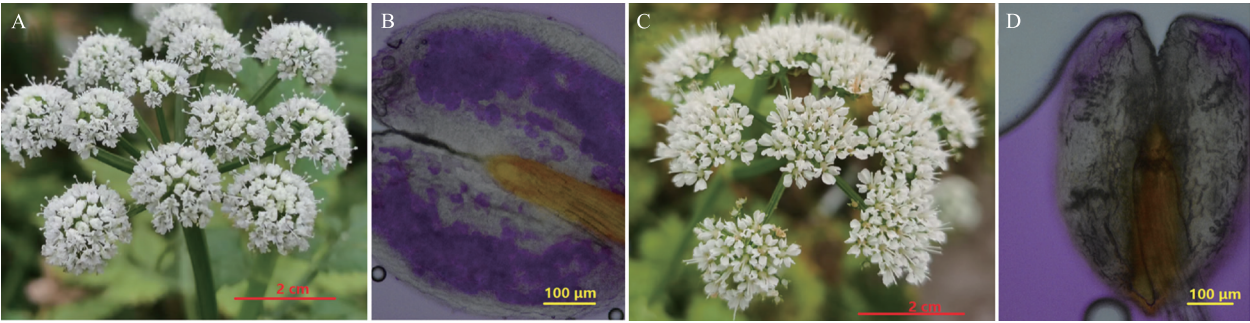


图 1 ‘溧阳白芹’可育 LYSQKU001(A、B)与不育 LYSQBU001(C、D)比较

Fig. 1 Comparison between fertile LYSQKU001(A, B) and sterile LYSQBU001(C, D) of ‘Liyangbaiqin’

A. LYSQKU001 花; B. LYSQKU001 花药显微观察; C. LYSQBU001 花; D. LYSQBU001 花药显微观察。

A. The flower of LYSQKU001; B. LYSQKU001 anther under dissecting microscope; C. The flower of LYSQBU001; D. LYSQBU001 anther under dissecting microscope.

trnM-CAU、*trnP-UGG*、*trnQ-UUG* 和 *trnW-CCA* 为 2 个拷贝), 3 个 rRNA 基因。核心基因中包括 5 个 ATP 合酶基因(*atp1*、*atp4*、*atp6*、*atp8* 和 *atp9*), 11 个 NADH 脱氢酶基因[*nad1*、*nad2*、*nad3*、*nad4*、*nad4L*、*nad5*、*nad6* (2 个拷贝)、*nad7* (2 个拷贝) 和 *nad9*], 4 个细胞色素 C 生物发生基因(*ccmB*、*ccmC*、*ccmFC* 和 *ccmFN*), 3 个细胞色素 C 氧化酶基因(*cox1*、*cox2* 和 *cox3*), 1 个膜运输蛋白基因(*mttB*), 1 个成熟酶基因(*matR*) 和 1 个泛醇-细胞色素 C 还原酶基因(*cob*)。非核心基因包括 3 个核糖体大亚基基因(*rpl5*、*rpl10* 和 *rpl16*), 7 个核糖体小亚基基因(*rps1*、*rps3*、*rps4*、*rps7*、*rps10*、*rps12* 和 *rps13*) 和 1 个琥珀酸脱氢酶基因(*sdh4*)。

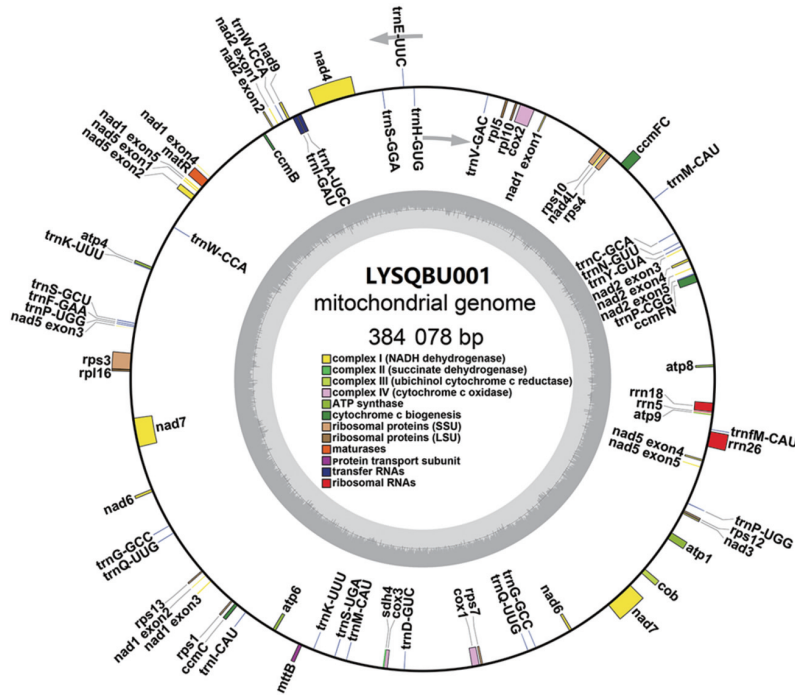


图 2 LYSQBU001 线粒体图谱 (NCBI:PQ790628)

Fig. 2 The mitochondrial genome map of LYSQBU001 (NCBI:PQ790628)

重复序列分析(图 3)表明,LYSQBU001 线粒体基因组共发现 79 个 SSR,其中四聚体数量最高(32 个,占 40.5%),依次为二聚体(17 个,占 21.5%)、单聚体(15 个,占 19.0%)、五聚体(8 个,占 10.1%)和三聚体(7 个,占 8.9%),未发现六聚体。LYSQBU001 中共有 20 个匹配度大于 85%且长度为 9~71 bp 的串联复制;重复序列中,共发现长度大于或等于 30 bp 的重复序列 437 对,其中正向重复最高(232 个,占 53.1%),其次为回文重复(204 个,占 46.7%)和反向重复(1 个,占 0.2%),未发现互补重复。

对蛋白质编码的序列进行偏好性(RSCU)分析,其中 RSCU 值大于 1 被认为是氨基酸密码子偏好性使用。结果(表 1)表明,35 个 unique 蛋白质编码基因,除起始密码子 AUG 和色氨酸 UGG 的 RSCU 值均为 1 外,丙氨酸(Ala)对密码子 GCU 有较高的使用,而对密码子 GCG 使用最低,RSCU 值分别为 1.62 和 0.45。

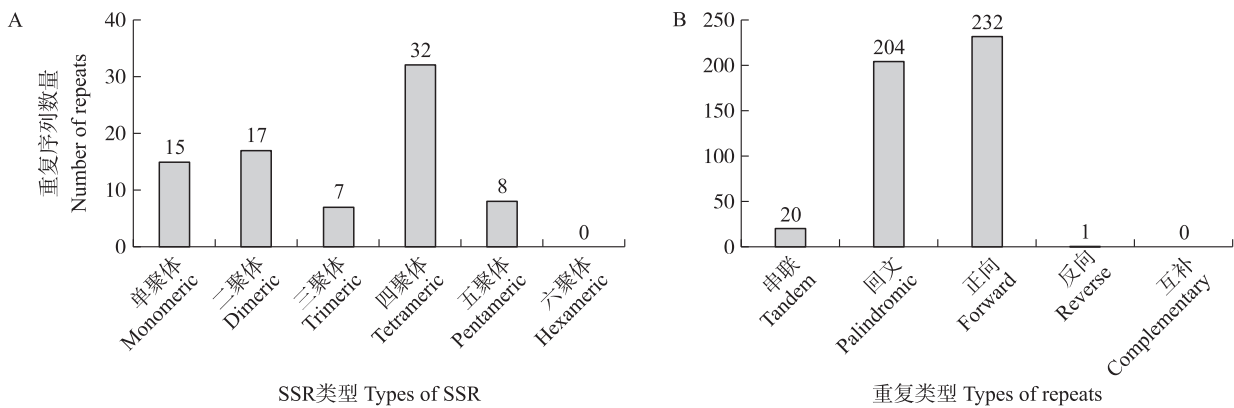


图 3 LYSQBU001 SSR 分析(A)和重复序列分析(B)
Fig. 3 SSR analysis(A) and repeat sequence analysis(B) of LYSQBU001

表 1 LYSQBU001 线粒体密码子使用偏好性
Table 1 Preference for codon usage in LYSQBU001 mitochondrial genome

氨基酸 Amino acid	密码子 1 Codon 1 (RSCU)	密码子 2 Codon 2 (RSCU)	密码子 3 Codon 3 (RSCU)	密码子 4 Codon 4 (RSCU)	密码子 5 Codon 5 (RSCU)	密码子 6 Codon 6 (RSCU)
丙氨酸 Ala	GCU(1.62)	GCA(1.02)	GCC(0.90)	GCG(0.45)		
精氨酸 Arg	AGA(1.40)	CGA(1.30)	CGU(1.23)	CGG(0.72)	CGC(0.69)	AGG(0.66)
天冬酰胺 Asn	AAU(1.35)	AAC(0.65)				
天冬氨酸 Asp	GAU(1.33)	GAC(0.67)				
半胱氨酸 Cys	UGU(1.24)	UGC(0.76)				
终止密码子 End	UAA(1.59)	UGA(0.84)	UAG(0.56)			
谷氨酰胺 Gln	CAA(1.53)	CAG(0.47)				
谷氨酸 Glu	GAA(1.36)	GAG(0.64)				
甘氨酸 Gly	GGA(1.44)	GGU(1.27)	GGG(0.74)	GGC(0.55)		
组氨酸 His	CAU(1.56)	CAC(0.44)				
异亮氨酸 Ile	AUU(1.30)	AUA(0.87)	AUC(0.83)			
亮氨酸 Leu	UUA(1.49)	CUU(1.25)	UUG(1.21)	CUA(0.90)	CUC(0.62)	CUG(0.53)
赖氨酸 Lys	AAA(1.24)	AAG(0.76)				
蛋氨酸 Met	AUG(1.00)					
苯丙氨酸 Phe	UUU(1.15)	UUC(0.85)				
脯氨酸 Pro	CCU(1.39)	CCA(1.14)	CCC(0.77)	CCG(0.70)		
丝氨酸 Ser	UCU(1.41)	UCA(1.20)	AGU(1.08)	UCC(0.89)	UCG(0.79)	AGC(0.63)
苏氨酸 Thr	ACU(1.36)	ACA(1.04)	ACC(1.03)	ACG(0.57)		
色氨酸 Trp	UGG(1.00)					
酪氨酸 Tyr	UAU(1.52)	UAC(0.48)				
缬氨酸 Val	GUU(1.22)	GUA(1.16)	GUG(0.89)	GUC(0.74)		

注:RSCU:密码子偏好性 Relative synonymous codon usage.

进一步对线粒体注释到的各类型基因长度进行统计分析,结果(表 2)表明 LYSQBU001 中线粒体基因 *atp6* 长度仅为 744 bp,而在可育与不育胡萝卜中该基因长度分别为 954 和 819 bp,可育与不育茴香中该基因分别为 1 167 和 864 bp;同时,同属于伞形科植物的芹菜线粒体中,*atp6* 基因长度均为 1 173 bp,表明 *atp6* 可能为 LYSQBU001 不育候选基因。

2.3 不育候选基因的鉴定及进化分析

将 LYSQBU001 线粒体 *atp6* 基因,比对 LYSQKU001 转录组数据,表明转录组中 *atp6* 基因长度为 1 206 bp。利用差异引物 *atp6*-F1 和 *atp6*-R 能够从 LYSQKU001 线粒体中克隆出长度为 1 206 bp 的 *atp6* 基因,而 LYSQBU001 只能利用引物 *atp6*-F2 和 *atp6*-R 克隆出 744 bp 长度的 *atp6* 基因(图 4)。将 LYSQKU001 与 LYSQBU001 克隆的 *atp6* 基因序列,同胡萝卜和茴香不育与可育中 *atp6* 基因进行比对,表明 LYSQBU001 线粒体 *atp6* 基因同不育的胡萝卜和茴香 *atp6* 基因序列一样,均为 5'端缺失,3'端基本一致(图 4)。其中,不育胡萝卜和茴香中 *atp6* 基因在 5'端缺失长度分别为 135 和 303 bp,而在不育 LYSQBU001 中,*atp6* 基因在 5'端缺失更明显,为 462 bp。

表 2 LYSQBU001 线粒体基因组信息

Table 2 The information of LYSQBU001 mitochondrial genome

序号 No.	名称 Name	长度/bp Length	序号 No.	名称 Name	长度/bp Length	序号 No.	名称 Name	长度/bp Length	序号 No.	名称 Name	长度/bp Length
1	<i>atp1</i>	1 542	18	<i>nad3</i>	357	35	<i>rps12</i>	378	52	<i>trnK-UUU</i>	74
2	<i>atp4</i>	582	19	<i>nad4</i>	1 488	36	<i>rps13</i>	351	53	<i>trnK-UUU-2</i>	73
3	<i>atp6</i>	744	20	<i>nad4L</i>	303	37	<i>sdh4</i>	294	54	<i>trnM-CAU</i>	73
4	<i>atp8</i>	507	21	<i>nad5</i>	2 013	38	<i>rrn5</i>	118	55	<i>trnM-CAU-2</i>	73
5	<i>atp9</i>	225	22	<i>nad6</i>	618	39	<i>rrn18</i>	1 931	56	<i>trnN-GUU</i>	72
6	<i>ccmB</i>	621	23	<i>nad6-2</i>	618	40	<i>rrn26</i>	3 255	57	<i>trnP-CGG</i>	93
7	<i>ccmC</i>	753	24	<i>nad7</i>	1 185	41	<i>trnA-UGC</i>	73	58	<i>trnP-UGG</i>	75
8	<i>ccmFC</i>	1 317	25	<i>nad7-2</i>	1 185	42	<i>trnC-GCA</i>	71	59	<i>trnP-UCC-2</i>	74
9	<i>ccmFN</i>	1 740	26	<i>nad9</i>	573	43	<i>trnD-GUC</i>	74	60	<i>trnQ-UUG</i>	72
10	<i>cox1</i>	1 584	27	<i>rpl5</i>	558	44	<i>trnE-UUC</i>	72	61	<i>trnQ-UUG-2</i>	72
11	<i>cox2</i>	786	28	<i>rpl10</i>	495	45	<i>trnF-GAA</i>	74	62	<i>trnS-GCU</i>	88
12	<i>cox3</i>	798	29	<i>rpl16</i>	435	46	<i>trnM-CAU</i>	73	63	<i>trnS-GGA</i>	87
13	<i>cytb</i>	1 173	30	<i>rps1</i>	378	47	<i>trnG-GCC</i>	72	64	<i>trnS-UGA</i>	87
14	<i>matR</i>	1 968	31	<i>rps3</i>	1 692	48	<i>trnG-GCC-2</i>	72	65	<i>trnV-GAC</i>	72
15	<i>matB</i>	789	32	<i>rps4</i>	930	49	<i>trnH-GUG</i>	74	66	<i>trnW-CCA</i>	77
16	<i>nad1</i>	978	33	<i>rps7</i>	447	50	<i>trnI-CAU</i>	77	67	<i>trnW-CCA-2</i>	74
17	<i>nad2</i>	1 467	34	<i>rps10</i>	411	51	<i>trnI-GAU</i>	72	68	<i>trnY-GUA</i>	83

LYSQKY001	ATGCTCTAGATTTCACGGCATCTTAACCTTTGATGAAGAACAGTCTTAATAGTAGTCAATCTCTACTCTACACAGGCTAATCTCAATCAACGACGACTTAATGATTATGCTTTTCACTCATCTGGGCACTTC	140
Fvratp6+	 ATGCTCTATTTTCGGCGCTTTGACGAGAACAGCTGAATAGTAATCAACATATAGTACTATAATCTTTTACTAGTCAACCTGAACCAAGACGACATGATGAC	101
Wuye-L		0
LYSQBU001		0
Fvratp6-		0
Wuye-BY		0
LYSQKY001	TGGCAGCTCAGGTTCTTATATGGTATTTTCGAAGATCACCAGGCTTAACCATCGAGTGAAGCGGGTATGGAGCTCGAGGTGGGATACAGACAAATTAGGCGAGTTATGGTTTAAAGAAAGCCCGGAGATGCTG	280
Fvratp6+	TATTAATGATTATGCTTTTAAACCATCTGCGGCTTCAGGCTCAGGCTGAAGTGAAGCTGACAGGAACTTCGGGCTGGGATACAGACGATATTAGGAGAGTTTATGGTTTAAAGAAAGTCCGACAGAGTTT	241
Wuye-L	 ATGGTTTAAAGAAAGTCCGACAGAGTTT	28
LYSQBU001		0
Fvratp6-		0
Wuye-BY		0
LYSQKY001	TGGTTTCCGCGAGGTTTTCACAGGCAAGGCCAATATACCTTTTATGGAGTTCTATTTTAAAGATTATTAATATACATGAGGATACAAAGTGAAGTTATGAGAGTCTGTAATATAGCGGGGTGGCCCCACCATC	420
Fvratp6+	TAAAGAGCGCGGAGGCGTGCATGATCAAGCAAGCGGATCGCTTTTCGAGTGCCTTTTAAATGATTTCACATAAATGAGTGGAGTCTTGGCGAACTTTGTTTATAGCGGGGAGGCCCCACCATC	381
Wuye-L	TAAACAGCGGCTCAGGCGTGCATGAGGAGGACCTGATCTTTTCGAGTGCCTTTTAAATGATTTCACATAAATGAGTGGAGTCTTGGCGAACTTTGTTTATAGCGGGGAGGCCCCACCATC	168
LYSQBU001		0
Fvratp6-	 ATGACCCCTCCAGGACAGATGATGGAATAAAG..... ATAGACCCAGCTATCTGAGTAGTCTGATATACAGCT	78
Wuye-BY	 ATGAAATTAAGATTTTCTTATGAGTTAGCGCT	33
LYSQKY001	CCAGCCACTTGAAGCAATTCGCAATCTCCCATTTGCTTATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	560
Fvratp6+	CCAGCCACTTGAAGCAATTCGCAATCTCCCATTTGCTTATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	521
Wuye-L	CCAGCCACTTGAAGCAATTCGCAATCTCCCATTTGCTTATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	308
LYSQBU001	 ATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	98
Fvratp6-	TCATGCTCTTGTGAGCAATTCGCAATCTCCCATTTGCTTATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	173
Wuye-BY	AAAGCCCACTTGAAGCAATTCGCAATCTCCCATTTGCTTATGAATATAGGAACCTTGATTTCTCTATTCACAAATCCCTCTTGTGTATGCTACTCACTCTGTTGGCTCACTTTGCTTCATTTGTTACTAA	700
LYSQKY001	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	173
Fvratp6+	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	661
Wuye-L	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	448
LYSQBU001	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	238
Fvratp6-	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	358
Wuye-BY	AAACGGAGAGGAAATAGTACCAATGCTTGGCAATCTTGTGAGGCTTATTTATGATTTTGTGCGAACCCGGTAAACGAACAATAGGTGGCTTTCCGGAAATGTAAACAAAGATTTTCCCTTGGCATCTGG	313
LYSQKY001	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	840
Fvratp6+	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	801
Wuye-L	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	588
LYSQBU001	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	378
Fvratp6-	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	453
Wuye-BY	TCACCTTTACTTTTCTGTTTCTGTAATGCACAGGCTATGATACCTTATAGCTTCACAGTACAGCAATTTCTCATACTTTGGGCTCTCATTTTATTTATTTGGGATCTCTCTGGGATTCGAAGAAAT	173
LYSQKY001	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	980
Fvratp6+	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	941
Wuye-L	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	728
LYSQBU001	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	518
Fvratp6-	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	638
Wuye-BY	GGGCTTCATTTTAAAGCTTTTATTAACCGCAGGAGTCCCACTGCGGTAGCACCTTTTATGACTCTTTCGAGTAACTCTTATTTGTTTTCGGCATTAAAGCTGAGGAATACGTTTATTTGCTTAATATGATGGCGG	593
LYSQKY001	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	1 120
Fvratp6+	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	1 081
Wuye-L	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	658
LYSQBU001	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	778
Fvratp6-	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	733
Wuye-BY	TCATAGTTAGTAAAGATTTTAAAGTGGGTCGCTTGGACTATGCTATGATGAATGATCTTTTATTTATGAGGAATCTGGGCTCTTATTTATAGTCTTGCATTAAACCGGCTGGAATAGGTTAGCTATATGAC	778
LYSQKY001	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	1 206
Fvratp6+	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	1 167
Wuye-L	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	954
LYSQBU001	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	744
Fvratp6-	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	864
Wuye-BY	AAGCTGATGTTTACACATCTAATCTGTATTACTTGAATGATGCTAAATCCCATCAAAAGTGAAGTGGTTATTATAATTGA	819

图 4 不同植物育性 *atp6* 基因比对Fig. 4 Comparison of *atp6* genes among different fertility plants

LYSQKY001 和 LYSQBY001 分别为可育和不育的‘溧阳白芹’ *atp6* 基因; *Fvratp6+* 和 *Fvratp6-* 分别为可育和不育茴香 *atp6* 基因 (NCBI: MT199323.1 和 MT199324.1); Wuye-L 和 Wuye-BY 分别为可育和不育野生胡萝卜 *atp6* 基因。

LYSQKY001 和 LYSQBY001 是 the *atp6* 基因 of fertile and sterile ‘Liyangbaiqin’, respectively; *Fvratp6+* and *Fvratp6-* are respectively the fertile and sterile *atp6* genes in fennel (NCBI: MT199323.1 and MT199324.1); Wuye-L and Wuye-BY are the *atp6* genes of fertile and sterile wild carrots, respectively.

为探索线粒体 *atp6* 基因 5' 端序列中的具体功能, 利用 SWISS MODEL 在线网站对 LYSQKU001 和 LYSQBU001, 以及可育、不育的胡萝卜和茴香 *atp6* 基因对应的氨基酸序列建立三维模型。结果 (图 5) 表明, ‘溧阳白芹’、胡萝卜及茴香不育和可育的 *atp6* 氨基酸三维结构大部分均由 α -螺旋和 β -折叠构成, 但可育的‘溧阳白芹’ LYSQKU001、胡萝卜和茴香中 *atp6* 氨基酸序列 5' 端存在明显的跨膜段 (图 5-A、C、E)。跨膜结构是线粒体基因与核基因交流的关键区域, 但三者不育材料中该跨膜段不明显 (图 5-B、D、F), 推

测 *atp6* 基因 5'端的缺失,使伞形科蔬菜‘溧阳白芹’、胡萝卜和茴香中氨基酸序列无法形成完整的跨膜区域,从而无法与核基因进行交流,导致其不育。

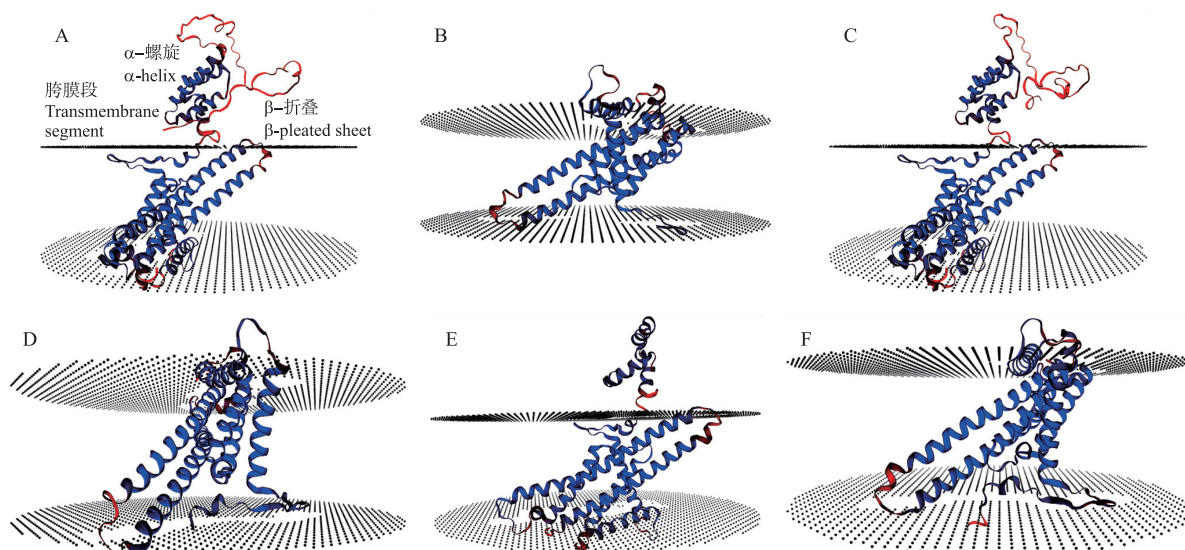


图5 不同育性伞形科蔬菜的 *atp6* 氨基酸三维模型

Fig. 5 Three dimensional model of *atp6* amino acids in Apiaceae vegetables with different fertility

A. LYSQKY001; B. LYSQBY001; C. Wuye-KY (可育 Fertile); D. Wuye-BY (不育 Sterile); E. 茴香 (NCBI: QIZ31527.1, 可育) Cultivated fennel (NCBI: QIZ31527.1, fertile); F. 不育茴香 (NCBI: QIZ31528.1, 不育) Sterile fennel (NCBI: QIZ31528.1, sterile).

将 LYSQKU001、LYSQBU001 以及可育、不育胡萝卜和茴香 *atp6* 基因对应的氨基酸序列一起构建进化树。结果(图6)表明,可育与不育 *atp6* 蛋白能够分成2个分支,其中可育的 LYSQKU001 与可育的茴香和胡萝卜聚在一个分支中,而不育的 LYSQBU001 与不育的茴香和胡萝卜处在同一分支中。

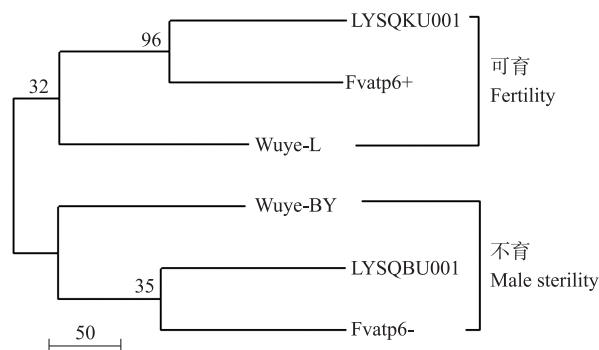


图6 不同植物育性 *atp6* 氨基酸进化分析

Fig. 6 Evolutionary analysis of *atp6* amino acids in different plant fertility levels

LYSQKY001 和 LYSQBY001 分别为可育和不育的‘溧阳白芹’ *atp6*; Fvatp6+ 和 Fvatp6- 分别为可育和不育的茴香 (NCBI: QIZ31527.1 和 QIZ31528.1) *atp6*; Wuye-L 和 Wuye-BY 分别为可育和不育的野生胡萝卜 *atp6*。

LYSQKY001 和 LYSQBY001 是 *atp6* 的 fertile 和 sterile ‘Liyangbaiqin’, respectively; Fvatp6+ 和 Fvatp6- 分别是 fertile 和 sterile *atp6* 在 fennel (NCBI: QIZ31527.1 和 QIZ31528.1); Wuye-L 和 Wuye-BY 是 fertile 和 sterile wild carrots, respectively.

3 讨论

不同于伞形科蔬菜作物胡萝卜、芹菜、芫荽和茴香等主要以种子进行有性繁殖和生产^[14-17],水芹可使用扦插、分株等方式进行无性繁殖,但长期的无性繁殖会导致其病害积累和品种退化^[18-19]。然而,水芹杂交代获得稳定的优良单株后,便可进行无性繁殖扩繁,满足生产需求,避免长期无性繁殖对水芹产业造成影响^[20-21]。为此,水芹雄性不育材料的获得,并利用其培育优良的杂交 F_1 代,可用于水芹种植生产。本研究中,所获得的‘溧阳白芹’雄性不育材料,由于花药中无花粉粒形成,方便了杂交育种,可用于‘溧阳白芹’产业可持续发展实践中。

本研究遗传分析表明,‘溧阳白芹’不育材料 LYSQBU001 与其可育材料 LYSQKU001 杂交,其后代均

为不育性状。线粒体基因组、基因克隆及进化分析结果表明, *atp6* 基因 5'端缺失是其不育的质体基因(S)。然而,利用 LYSQBU001 与可育的中华水芹(*Oenanthe sinensis*)杂交,其后代出现一定数量的可育植株(数据未列出);在之前水芹线粒体研究中,多裂叶水芹(*Oenanthe thomsonii*)可育与不育材料中,其 *atp6* 基因长度均为 720 bp,其 5'端均严重缺失,但影响其不育线粒体基因为 *cemFN* 基因突变导致^[4];在水芹种(*Oenanthe javanica*)可育线粒体中,*atp6* 基因预测长度为 744 bp,5'端也存在缺失^[22],暗示着中华水芹、多裂叶水芹和水芹中的核基因可能含有 *atp6* 育性恢复基因(*Rf*),需要进一步研究。为此,推测‘溧阳白芹’雄性不育 LYSQBU001 育性类型可能为 *S(rr)*,可育材料 LYSQKU001 育性类型为 *N(rr)*。

研究表明,*atp6* 基因不仅能够导致伞形科植物胡萝卜^[8]、茴香^[11]、芹菜^[23]、水芹^[6]等产生不育,而且在水稻^[24-25]、玉米^[26-27]、油菜^[28]等作物中也有类似的报道。但到目前为止,伞形科植物 *atp6* 基因的核恢复基因尚未有研究报道。在水稻 *atp6* 引起的雄性不育中,核恢复基因 *RF1A* 和 *RF1B* 都能靶向线粒体,通过内切核裂解(*RF1A*)或降解(*RF1B*)二异序体 B-*atp6*/ORF79 mRNA 来阻断 *ORF79* 的产生,从而恢复水稻育性^[25];人工合成基因 *Mt-GRP162* 也能恢复红莲水稻 *atp6* 突变导致的不育^[29],水稻 *RF6* 基因也能恢复 *atp6* 突变后的育性^[30]。玉米研究中,也表明了 *Rf* 为其恢复基因^[26]。油菜中 *Rfp* 是其恢复基因^[28]。在伞形科植物中是否含有能使 *atp6* 突变育性恢复的基因,以及恢复基因与 *atp6* 之间功能互作关系如何,需要进一步深入研究。

在伞形科不育性状稳定性的研究中,胡萝卜稳定性高的雄性不育材料为花药和花丝退化,形成萼片或者花瓣的“瓣化型”雄性不育,而不是花药褐化雄性不育^[7-8,12]。在芹菜中报道的稳定雄性不育材料为花药花丝肉质化类型^[9-10],而不是花药后期发育异常,无法形成有活力的花粉粒^[31]。籽粒茴香和球茎茴香雄性不育中,均是由花药无法形成花粉粒所致,不育性状稳定性强^[32]。在水芹中,已报道了多裂叶水芹花丝花药肉质化类型材料 OtBY002,不育性状稳定性相对高^[4];而另外一个多裂叶水芹雄性不育 OtBY001,其花粉粒发育异常无法形成有活力花粉粒^[3],其不育稳定性可能受到温度影响;水芹种雄性不育 OJBY001,其花药无法形成花粉粒^[5],不育性状稳定性相对较高;线叶水芹雄性不育 ODDBY001 也表现出花丝萎缩,花药较少或无花粉粒,不育类型为 *S(rr)*^[6]。本研究中,LYSQBU001 花药也无法形成花粉粒,与 OJBY001 类似,不育性状稳定性也相对较高。以上研究暗示伞形科蔬菜不育表现类型多样,稳定性高的雄性不育应为花药花丝肉质化、瓣化或者无法形成花粉粒,而不是后期花药中花粉粒发育异常或者褐化。本研究获得的‘溧阳白芹’雄性不育,属于花药中无花粉粒类型雄性不育,不育稳定性相对较高。下一步,针对伞形科蔬菜,如茺荳、欧芹、孜然等,在筛选和培育雄性不育材料过程中,应培育花药花丝肉质化、瓣化或者花药无法形成花粉粒的稳定类型。

参考文献 References:

- [1] 张新圻,朱顺华,钟秀来,等. 空心与实心溧阳白芹 *OjG8H* 基因克隆及功能分析[J]. 南方农业学报,2025,56(2):622-632
Zhang X Q, Zhu S H, Zhong X L, et al. Cloning and functional analysis of *OjG8H* gene from hollow and solid Liyang white celery[J]. Journal of Southern Agriculture, 2025, 56(2): 622-632 (in Chinese with English abstract).
- [2] 傅劭. 水芹种质资源的系统学及繁殖生态学研究[D]. 武汉:武汉大学,2015.
Fu S. Systematics and reproductive ecology of the germplasm resources of *Oenanthe* [D]. Wuhan: Wuhan University, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [3] 陈志峰,罗庆,张新圻,等. 多裂叶水芹雄性不育材料的发现与鉴定[J]. 中国野生植物资源,2024,43(5):52-56.
Chen Z F, Luo Q, Zhang X Q, et al. Identification and analysis of male sterile materials of *Oenanthe thomsonii* C. B. Clarke[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(5): 52-56 (in Chinese with English abstract).
- [4] 谭国飞,李梦瑶,罗庆,等. 多裂叶水芹线粒体特征及雄性不育候选基因的鉴定[J]. 南京农业大学学报,2025,48(5):1013-1022.
Tan G F, Li M Y, Luo Q, et al. Identification of mitochondrial characteristics and candidate male sterile genes in *Oenanthe thomsonii*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2025, 48(5): 1013-1022 (in Chinese with English abstract).
- [5] 朱顺华,罗庆,李梦瑶,等. 水芹雄性不育材料的鉴定及营养品质分析[J]. 植物科学学报,2023,41(3):343-348.
Zhu S H, Luo Q, Li M Y, et al. Identification and nutritional quality analysis of male sterile material of *Oenanthe javanica* (Blume) DC[J]. Plant Science Journal, 2023, 41(3): 343-348 (in Chinese with English abstract).
- [6] 谭国飞,张新圻,朱顺华,等. 线叶水芹雄性不育材料鉴定及遗传特征分析[J]. 中国蔬菜,2025(11):126-132.
Tan G F, Zhang X Q, Zhu S H, et al. Identification and analysis of physiological and genetic analysis for male sterile materials derived from *Oenanthe linearis* Wall. ex DC[J]. China Vegetables, 2025(11): 126-132 (in Chinese with English abstract).
- [7] Iorizzo M, Senalik D, Szklarczyk M, et al. *De novo* assembly of the carrot mitochondrial genome using next generation sequencing of whole genomic DNA provides first evidence of DNA transfer into an angiosperm plastid genome[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12:61.
- [8] Tan G F, Wang F, Zhang X Y, et al. Different lengths, copies and expression levels of the mitochondrial *atp6* gene in male sterile and fertile lines

- of carrot (*Daucus carota* L.) [J]. Mitochondrial DNA Part A, 2018, 29(3): 446–454.
- [9] Cheng Q, Wang P, Li T T, et al. Complete mitochondrial genome sequence and identification of a candidate gene responsible for cytoplasmic male sterility in celery (*Apium graveolens* L.) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8584.
- [10] 谭国飞, 李梦瑶, 罗庆, 等. 芹菜雄性不育的创制及线粒体不育候选基因鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(6): 1807–1815.
- Tan G F, Li M Y, Luo Q, et al. Creation of a male sterility line and identification of its candidate mitochondrial male sterile gene in celery [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(6): 1807–1815 (in Chinese with English abstract).
- [11] Palumbo F, Vitulo N, Vannozzi A, et al. The mitochondrial genome assembly of fennel (*Foeniculum vulgare*) reveals two different *atp6* gene sequences in cytoplasmic male sterile accessions [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(13): 4664.
- [12] 罗庆, 钟秀来, 王天文, 等. 胡萝卜雄性不育研究进展[J]. 西南农业学报, 2019, 32(增刊1): 310–318.
- Luo Q, Zhong X L, Wang T W, et al. Advance and study on male sterility of carrot [J]. Southwest China Journal of Agricultural Science, 2019, 32 (Suppl 1): 310–318 (in Chinese with English abstract).
- [13] Liu J X, Jiang Q, Tao J P, et al. Integrative genome, transcriptome, microRNA, and degradome analysis of water dropwort (*Oenanthe javanica*) in response to water stress [J]. Horticulture Research, 2021, 8: 262.
- [14] Janani R, Sureja A K, Dey S S, et al. Selection of inbreds with better combining ability is instrumental in developing CMS-based heterotic hybrids in tropical carrot (*Daucus carota* L.) [J]. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, 2023, 21(3): 237–247.
- [15] Liu P Z, Wang Y H, Wang L X, et al. Current situation and future outlook of production, processing and marketing in the celery industry [J]. Technology in Horticulture, 2024, 4(1): e013.
- [16] Chandrakala R, Venkatesan K, Selvi B S, et al. Variation in seed yield and essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) [J]. Journal of Essential Oil Research, 2024, 36(3): 222–233.
- [17] Bahmani K, Akbari A, Izadi Darbandi A, et al. Development of high-yielding fennel synthetic cultivars based on polycross progeny performance [J]. Agricultural Research, 2023, 12(4): 357–363.
- [18] 罗庆, 张新圻, 李梦瑶, 等. 药食同源植物水芹的研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(8): 1221–1233.
- Luo Q, Zhang X Q, Li M Y, et al. Advances in research medicinal and edible homologous plant of *Oenanthe javanica* [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(8): 1221–1233 (in Chinese with English abstract).
- [19] 孙芳芳, 鲍忠洲, 尹渝来, 等. 水芹品种的观察、评价和利用[J]. 长江蔬菜, 2012(16): 41–44.
- Sun F F, Bao Z Z, Yin Y L, et al. Observation, evaluation and utilization of water dropwort cultivars [J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2012 (16): 41–44 (in Chinese with English abstract).
- [20] 熊江花, 黄振侠, 马静, 等. 沼肥对水芹生长、品质和重金属含量的影响[J]. 南昌大学学报(理科版), 2025, 49(6): 658–664.
- Xiong J H, Huang Z X, Ma J, et al. Effects of biogas fertilizer on the growth, quality, and heavy metal content of *Oenanthe javanica* [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2025, 49(6): 658–664 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李冬霞, 张凡, 王洵, 等. 水芹贮藏保鲜和开发利用研究进展[J]. 农产品加工, 2023(2): 66–69, 72.
- Li D X, Zhang F, Wang W, et al. Research progress of preservation and utilization of *Oenanthe javanica* [J]. Farm Products Processing, 2023(2): 66–69, 72 (in Chinese).
- [22] Li X Y, Han Q J, Li M Y, et al. Complete mitochondrial genome sequence, characteristics, and phylogenetic analysis of *Oenanthe javanica* [J]. Agronomy, 2023, 13(8): 2103.
- [23] 谭国飞, 钟秀来, 罗庆, 等. 芹菜线粒体 *atp6* 基因的克隆及在花发育过程中的表达[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(7): 110–116.
- Tan G F, Zhong X L, Luo Q, et al. Clone and expression of mitochondrial *atp6* gene in celery during flowers development [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2019, 47(7): 110–116 (in Chinese with English abstract).
- [24] Kazama T, Itabashi E, Fujii S, et al. Mitochondrial *ORF79* levels determine pollen abortion in cytoplasmic male sterile rice [J]. The Plant Journal, 2016, 85(6): 707–716.
- [25] Wang Z H, Zou Y J, Li X Y, et al. Cytoplasmic male sterility of rice with Boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing [J]. The Plant Cell, 2006, 18(3): 676–687.
- [26] Wang J, Cao M J, Zhu Y G, et al. The editing sites in the transcripts of mitochondrial *atp6* gene of maize sterile lines and maintainer line [J]. Hereditas, 2007, 29(6): 731–737.
- [27] Yang H L, Xue Y D, Li B, et al. The chimeric gene *atp6* confers cytoplasmic male sterility in maize by impairing the assembly of the mitochondrial ATP synthase complex [J]. Molecular Plant, 2022, 15(5): 872–886.
- [28] Yuan M, Yang G S, Fu T D, et al. Transcriptional control of *orf224/atp6* by the pol CMS restorer *Rfp* gene in *Brassica napus* L [J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(5): 469–473.
- [29] Hu J, Huang W C, Huang Q, et al. The mechanism of *ORFH79* suppression with the artificial restorer fertility gene Mt-GRP162 [J]. New Phytologist, 2013, 199(1): 52–58.
- [30] Huang W C, Yu C C, Hu J, et al. Pentatricopeptide-repeat family protein RF6 functions with hexokinase 6 to rescue rice cytoplasmic male sterility [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(48): 14984–14989.
- [31] 高国训, 靳力争, 陆子梅, 等. 芹菜雄性不育株的发现及其植物学特征[J]. 天津农业科学, 2006, 12(4): 9–11.
- Gao G X, Jin L Z, Lu Z M, et al. Discovery and botanical characters of celery male sterile material [J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2006, 12(4): 9–11 (in Chinese with English abstract).
- [32] 罗庆, 张浩, 钟秀来, 等. 籽粒茴香雄性不育材料创制及脂质成分差异分析[J]. 植物遗传资源学报, 2025, 26(5): 1042–1056.
- Luo Q, Zhang H, Zhong X L, et al. Creation of male sterile materials of seed fennel and difference analysis of lipid composition [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2025, 26(5): 1042–1056 (in Chinese with English abstract).