中国油料作物学报
Chinese Journal of Oil Crop Sciences
2026,48(4):58-71
doi:10.19802/j.issn.1007-9084.2025243

基于芝麻籽粒和蒴果皮转录组挖掘粒重候选基因

曾心茹[1],段先琴[2],赵俊[1],陈艳妮[1,3],李仕香[1],邓妍欣[1],何秋惠[1],孙建[4*],危文亮[1*]
(1. 长江大学农学院/长江中游作物绿色高效生产重点实验室(省部共建),湖北 荆州,434025;
2. 武汉现代农业教育中心,湖北 武汉,430040;
3. 新疆维吾尔自治区农业科学院作物研究所,新疆 乌鲁木齐,830091;
4. 江西省农业科学院作物研究所/油料作物遗传改良江西省重点实验室,江西 南昌,330200)

摘要:粒重形成与叶片及绿色果皮的光合作用有关,挖掘调控种子重量/大小的关键基因对作物高产育种具有重要意义。为进一步解析芝麻粒重形成机制并为粒重改良提供分子基础,本研究通过分析粒重差异显著芝麻材料(L1,大粒;S1,小粒)不同发育时期(5 DAP、10 DAP和20 DAP)籽粒和蒴果皮的转录组数据,挖掘差异表达基因,对差异表达基因进行GO和KEGG分析,筛选粒重相关候选基因;并利用qRT-PCR技术分析粒重相关候选基因表达模式。结果表明,在L1和S1三个发育时期蒴果皮中均能检测到的差异表达基因有160个,其中上调基因60个、下调基因100个;主要富集到氨基糖和核苷酸糖的代谢、氨基酸的生物合成、苯丙类物质合成、碳代谢、植物激素信号转导、核糖体等。在L1和S1三个发育时期籽粒中均能检测到的差异表达基因有253个,其中上调基因123个、下调基因130个;主要富集到碳水化合物的运输和代谢、氨基酸的转运和代谢、植物激素信号转导、核糖体等。结合转录组分析结果及文献报道,筛选出14个与物质合成和转运、碳代谢、种子大小等相关的粒重候选基因(籽粒中8个、蒴果皮中9个)。进一步利用6份不同粒重种质进行候选基因的qRT-PCR表达分析,结果揭示*KLU*(*CYTOCHROME P450 78A5*,*CYP78A5*)、*ARF2*(auxin response factor 2)、*DA1*(E3 ubiquitin ligases)等候选基因对芝麻籽粒发育和粒重形成具有复杂而重要的作用。本研究系统分析了芝麻籽粒和蒴果皮中的差异表达基因及其代谢通路,筛选出14个与籽粒发育和粒重形成有关的候选基因。

关键词:芝麻;籽粒;蒴果皮;转录组;粒重;候选基因
中图分类号:S565.4　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1007-9084(2026)04-0058-14

OSID

Mining candidate genes of seed weight based on RNA-Seq of seeds and capsule walls in *Sesamum indicum* L.

ZENG Xin-ru[1], DUAN Xian-qin[2], ZHAO Jun[1], CHEN Yan-ni[1,3], LI Shi-xiang[1], DENG Yan-xin[1],
HE Qiu-hui[1], SUN Jian[4*], WEI Wen-liang[1*]
(1. *College of Agriculture, Yangtze University/ MARA Key Laboratory of Sustainable Crop Production in the Middle Reaches of the Yangtze River, Jingzhou* 434025, *China*; 2. *Wuhan Modern Agricultural Education Center, Wuhan* 430040, *China*; 3. *Institute of Crop Sciences, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi* 830091, *China*; 4. *Institute of Crop Research, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences/ Jiangxi Province Key Laboratory for Genetic Improvement of Oil Crops, Nanchang* 330200, *China*)

Abstract: Mining key genes regulating seed weight/size is of great significance for high-yield breeding of crops. To provide molecular basis for further elucidating the mechanism of seed weight formation and to improve seed weight in sesame, transcriptome data of seeds and capsule walls from sesame accessions with different seed weights (L1 with large seeds and S1 with small seeds) at different stages (5 DAP, 10 DAP, and 20 DAP) were analyzed. Differentially expressed genes (DEGs) were detected and subjected to GO and KEGG analyses to screen seed

收稿日期:2025-11-05
基金项目:国家自然科学基金(31871661);国家现代农业产业技术体系建设项目(CARS-14);油料作物遗传改良江西省重点实验室开放基金(KF202401)
作者简介:曾心茹,女,硕士研究生,研究方向为作物遗传育种,E-mail: cjxrzeng@163.com
* 通讯作者:危文亮,男,教授,博士,博士生导师,主要从事作物遗传育种研究,E-mail: whwenliang@163.com;
孙建,男,研究员,主要从事芝麻遗传改良与良种繁育研究,E-mail: whsunjian@aliyun.com

weight-related candidate genes. qRT-PCR was employed to investigate expression patterns of candidate genes associated with seed weight. A total of 160 DEGs were found simultaneously in capsule walls of L1 and S1 at all stages, including 60 up-regulated and 100 down-regulated genes. These genes were enriched into pathways of amino sugar and nucleotide sugar metabolism, amino acid biosynthesis, phenylalanine synthesis, carbon metabolism, plant hormone signaling, and ribosome-related processes by GO and KEGG. And a total of 253 DEGs were detected synchronously in seeds of L1 and S1 at different stages, including 123 up-regulated and 130 down-regulated genes, which were enriched into pathways of carbohydrate transport and metabolism, amino acid transport and metabolism, plant hormone signaling, and ribosome-related processes by GO and KEGG. Based on RNA-Seq analysis and literatures reported, 14 genes (8 in seeds and 9 in capsule walls), which associated with photosynthesis, material synthesis and transport, carbon metabolism, and seed size-related traits, were identified as seed weight related candidate genes. Gene expression analysis by qRT-PCR analysis further revealed *KLU*, *DA1* and *ARF2* play complex and important roles during seed development and seed weight formation in sesame.

Key words: sesame (*Sesamum indicum* L.); seed; capsule wall; RNA-Seq; seed weight; candidate gene

芝麻是我国重要的传统特色油料作物,是人类优质蛋白和食用油脂的重要来源。粒重是与产量密切相关的重要性状。研究发现,近25年来我国芝麻育成品种的单株蒴果数增加了1.31倍,但每蒴粒数和千粒重改良效果不明显[1]。由于每蒴粒数性状遗传稳定,改良千粒重将是提高我国芝麻产量的重要途径[2]。因此,挖掘芝麻粒重基因对指导我国芝麻产量改良具有十分重要的理论和实践意义。

在模式植物(拟南芥)和重要农作物(水稻、玉米、油菜、大豆)中,已经研究鉴定了许多粒重相关基因[3-17]。在拟南芥中鉴定的粒重相关基因至少有两种作用机制:(1)通过限制种皮细胞的增殖来控制种子大小,包括与泛体受素相关的*DA1*[3]、*DAR1*[3]、*DA2*[4],与植物生长激素相关的*ARF2*和*NGAL2*[5]。(2)通过促进种皮细胞的增殖来控制种子大小,包括*KLU*[6]、*EOD3*和*UBP15*[7,8]。在水稻中鉴定的粒重相关基因有:*GW2*[9](通过抑制细胞分裂来控制谷粒宽度和重量),*GS3*[10](通过调节谷粒的长度来调控粒重),*GW5*[11](通过限制水稻颖壳细胞的增殖来调控种子大小),*TGW6*[12](通过控制生长素供应从而限制籽粒长度和细胞数目),*OsRac1*[13](通过促进细胞分裂来调节籽粒大小)。此外,丝裂原激活蛋白激酶*OsMKK4*和*OsMAPK6*与水稻籽粒大小呈正相关[14]。在一些植物中还鉴定了一些激素相关粒重基因,如:大豆和拟南芥中的赤霉素相关基因*GA20OX*[15]、油菜素内酯相关基因*BZR1*和*PP2C-1*[16,17],这些基因可以调节种子重量/大小。一些转录调控基因已被确定是植物种子大小的重要调控因子,如:来自大豆的*GmWRKY15*[18]、*GmBS1*[19]。在油菜中发现,拟南芥*ARF2*的同源基因*BnARF18*通过限制细胞扩增控制种子大小[20];在玉米中发现,水稻*GW2*的同源基因*ZmGW2-CHR4*和*ZmGW2-CHR5*通过调节籽粒宽度调控粒重[21];在大豆中也发现了类似的同源基因,如*GLYMA_06G061300*控制种子大小和形状[22],*GLYMA_19G078300*参与葡萄糖代谢[23],*GLYMA_10G180000*编码植物激素AUX/IAA调节因子[24]影响大豆产量和质量。

此外,在很多作物的研究中发现,除了叶片作为光合组织能吸收光能、进行光合作用以外,在其含有叶绿素的叶柄和茎[25]、果[26-28]、穗[29]等绿色非叶组织中也能进行光合作用,是作物籽粒充实、产量形成的重要光合同化物来源,对作物粒重和产量的形成具有重要贡献[25]。芝麻蒴果皮在整个蒴果发育期间几乎都呈绿色,研究表明,芝麻蒴果具有较高的光合能力,影响芝麻粒重形成[30,31]。

迄今关于芝麻粒重基因定位的研究较少[2,32-35],而利用RNA-Seq技术挖掘芝麻粒重相关基因的研究尚未见报道。本研究利用粒重大小差异显著的芝麻材料(L1 vs S1)不同发育时期(5 DAP、10 DAP和20 DAP)的籽粒和蒴果皮提取RNA,获得RNA-Seq数据;通过分析大粒和小粒材料不同发育时期籽粒和蒴果皮转录组中的差异表达基因,挖掘光合作用、物质合成与转运、碳代谢、籽粒发育等代谢通路中可能的芝麻粒重相关候选基因,并对候选基因进行qRT-PCR表达分析,进一步揭示这些粒重候选基因在芝麻籽粒发育和粒重形成过程中的可能作用。研究结果将为解析芝麻粒重形成机制和粒重改良提供重要分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以粒重大小差异显著的6份芝麻种质为材料(L1~L3,大粒;S1~S3,小粒),分别采集5 DAP(day after pollination)、10 DAP和20 DAP的蒴果,在液氮上迅速剥离、获得3个发育时期的籽粒和蒴果皮样品[30,31],液氮速冻后于-80℃超低温冰箱保存备用。试验材料的粒重数据见附录表1(首页OSID二维码)。

1.2 RNA-Seq和转录组数据组装

使用Trizol法提取上述样品的总RNA,-80℃保存备用。将L1和S1检测合格的RNA样品送北京百迈克生物科技有限公司构建cDNA文库,使用Illumina HiSeq高通量测序平台对样品进行转录组双端测序。对测序得到的raw reads进行过滤,去除低质量的reads,得到clean reads,并利用Trinity(http://trinityrnase. sourceforge. net/)软件对其进行序列组装。将Clean Reads与芝麻参考基因组[32]进行比对和基因表达量分析。参考基因组的版本信息为:Zhongzhi13_v2. 0。下载地址:http://www. sesame-bioinfo. org/Sinbase2. 0/download. htm。

1.3 粒重相关差异表达基因的筛选、富集分析及功能注释

采用DESeq[36]方法,比较分析粒重差异显著的大粒和小粒材料(L1 vs S1)不同发育时期(5 DAP、10 DAP和20 DAP)的籽粒和蒴果皮转录组中的差异表达基因,挖掘光合作用、物质合成与转运、碳代谢、籽粒发育等代谢通路中可能的粒重相关基因。从差异倍数和显著水平两个方面对差异表达基因进行筛选,阈值设置为FDR<0. 05且$|\log_2FC|>1$,并利用BMKCloud平台对芝麻差异表达基因进行GO和KEGG分析。基于上述转录组数据分析结果,结合文献报道[3-17],筛选芝麻粒重相关候选基因。

1.4 qRT-PCR检测候选基因表达模式

采用上述6份芝麻种质三个发育时期(5 DAP、10 DAP和20 DAP)的籽粒和蒴果皮样品提取RNA。使用反转录试剂盒EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(Transgen,北京)进行反转录,合成cDNA。反转录体系包括:总RNA 500 ng,Oligo (dT)寡聚物1 μL,2×TS反应液10 μL,TransScript RT/RI酶混合液1 μL,基因组DNA(gDNA)去除剂1 μL,加RNase-free H_2O至总体积20 μL。根据SYBR® Green FastReal快速荧光定量PCR预混试剂盒说明书配置qRT-PCR的反应体系:2×Real MasterMix混合物10 μL,正向引物和反向引物各0. 4 μL,50×ROX 0. 4 μL,ddH_2O 7. 8 μL。qRT-PCR反应程序为:预变性95℃ 5 min;变性95℃ 10 s,退火53℃ 15 s,延伸72℃ 30 s,40个循环。以芝麻*SiActin*(SIN_1009011)为内参基因。设置3个生物学重复和3个技术重复。引物信息见附录表2(首页OSID二维码)。

1.5 数据处理与分析

使用$2^{-\triangle\triangle Ct}$方法计算相对表达水平[37],使用Microsoft Excel 2010软件进行数据整理,使用SPSS26. 0进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 转录组测序概况

从籽粒样品提取获得235. 02 Gb Clean Data,各样品Clean Data均达到5. 72 Gb,Q30碱基百分比在93. 49%及以上;从蒴果皮样品提取获得254. 36 Gb Clean Data,各样品Clean Data均达到5. 74 Gb,Q30碱基百分比在85. 25%及以上,转录组测序质量合格。分别将各样品的Clean Reads与芝麻参考基因组(Zhongzhi13_v2. 0)进行比对和基因表达量分析,籽粒样品比对效率93. 20%~95. 94%,蒴果皮样品比对效率73. 15%~94. 70%。根据皮尔逊相关系数r评估生物学重复相关性,绘制所有样品间的相关性热图并进行PCA分析(图1)。结果显示,两个生物学重复间的相关系数均大于0. 95,且在PCA分析中相距较近,说明生物学重复性较好,可以进行后续分析。

2.2 基于蒴果皮转录组的差异表达基因筛选、富集分析及功能注释

对L1、S1不同发育时期蒴果皮的转录组数据进行分析(图2和附录表3,附录表见首页OSID二维码),结果发现,在L5_vs_S5中获得495个差异基因,其中213个为上调基因、282个为下调基因;在L10_vs_S10中获得720个差异基因,其中227个为上调基因、493个为下调基因;在L20_vs_S20中获得1003个差异基因,其中509个为上调基因、494个为下调基因。在两个不同粒重材料20 DAP发育时期的蒴果皮中检测到的差异表达基因相对较多。此外,在L1和S1三个发育时期蒴果皮中均能检测到的差异表达基因有160个,其中上调基因60个、下调基因100个。

将L1和S1三个发育时期蒴果皮中均能检测到的160个共有差异表达基因注释到GO(附录图1)、

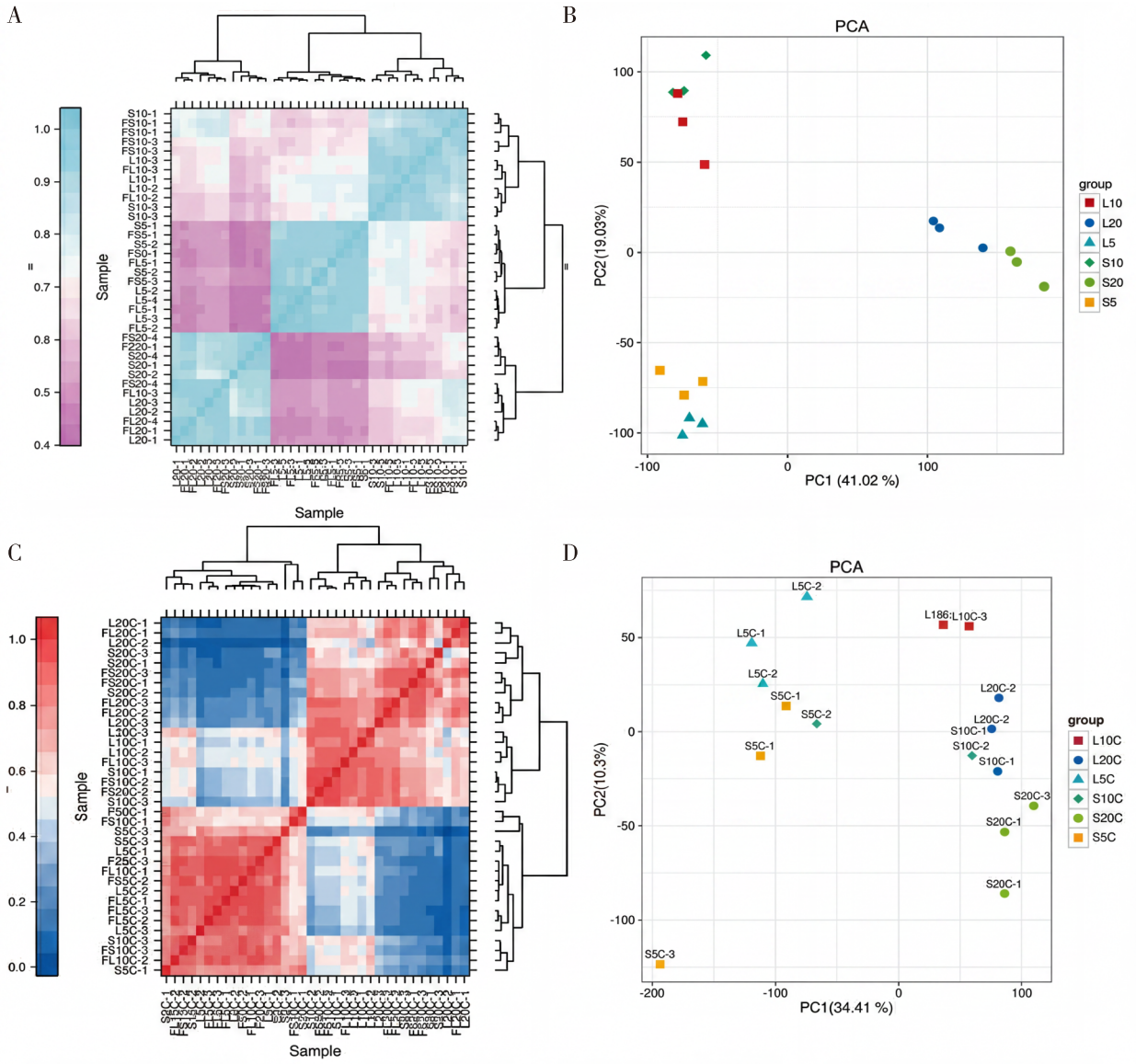


图1 籽粒样本间相关性热图(A)、PCA分析(B)和蒴果皮样本间相关性热图(C)、PCA分析(D)

Fig. 1 Heatmap of correlation between seed samples (A) and capsule wall samples (C), and PCA analysis of seed samples (B) and capsule wall samples (D)

KEGG两大数据库(图3)。结果发现,蒴果皮中的这些共有差异表达基因主要富集到氨基糖和核苷酸糖的代谢、氨基酸的生物合成、苯丙类物质合成、碳代谢、植物激素信号转导、核糖体等。

2.3 基于籽粒转录组的差异表达基因筛选、富集分析及功能注释

对L1、S1不同发育时期籽粒转录组数据进行比较,结果发现(图4,附录表4,附录表见首页OSID二维码),在L5_vs_S5中筛选到2058个差异基因,在L10_vs_S10中筛选到1806个差异基因,在L20_vs_S20中筛选到4273个差异基因。两个不同粒重材料20 DAP发育时期的籽粒中检测到的差异表达基因相对较多。此外,在L1和S1三个发育时期籽粒中均能检测到的差异表达基因有253个,其中上调基因123个、下调基因130个。

将L1和S1三个发育时期籽粒中均能检测到的253个共有差异表达基因注释到GO(附录图2,见首页OSID二维码)、KEGG两大数据库(图5)。结果表明,籽粒中的这些共有差异表达基因主要富集到碳水化合物的运输和代谢、氨基酸的转运和代谢、植物激素信号转导、核糖体等。

2.4 粒重相关基因筛选及其表达量分析

基于上述芝麻籽粒和蒴果皮不同发育时期共有差异表达基因GO功能注释分析和KEGG代谢通路分析结果,结合已报道的粒重相关基因蛋白序列在不同粒重芝麻的差异基因中寻找同源基因,最终

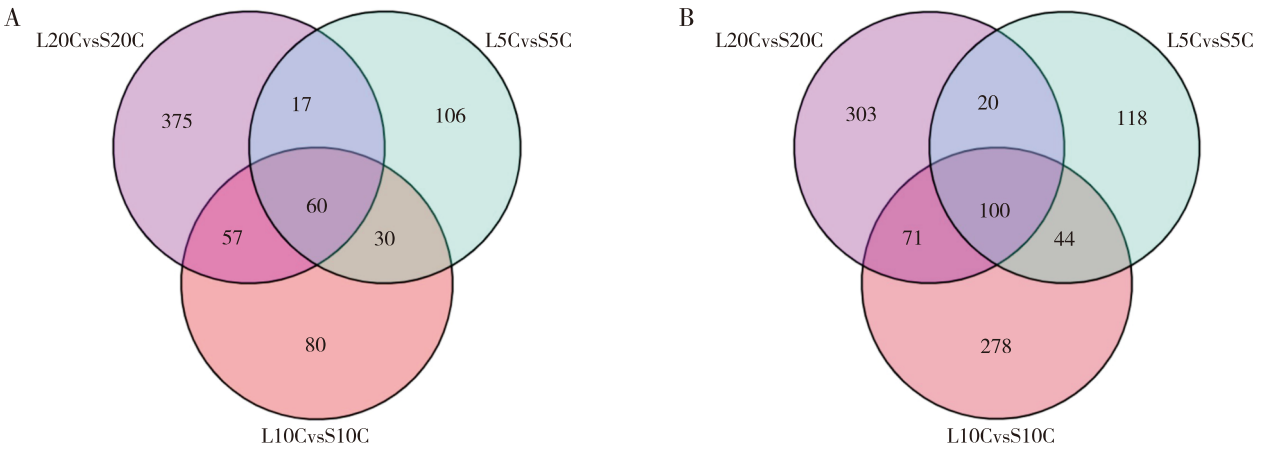


图2 不同粒重芝麻不同发育时期蒴果皮中上调基因(A)和下调基因(B)的韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of up-regulated genes (A) and down-regulated genes (B) in capsule walls of L1 and S1 at different developmental stages

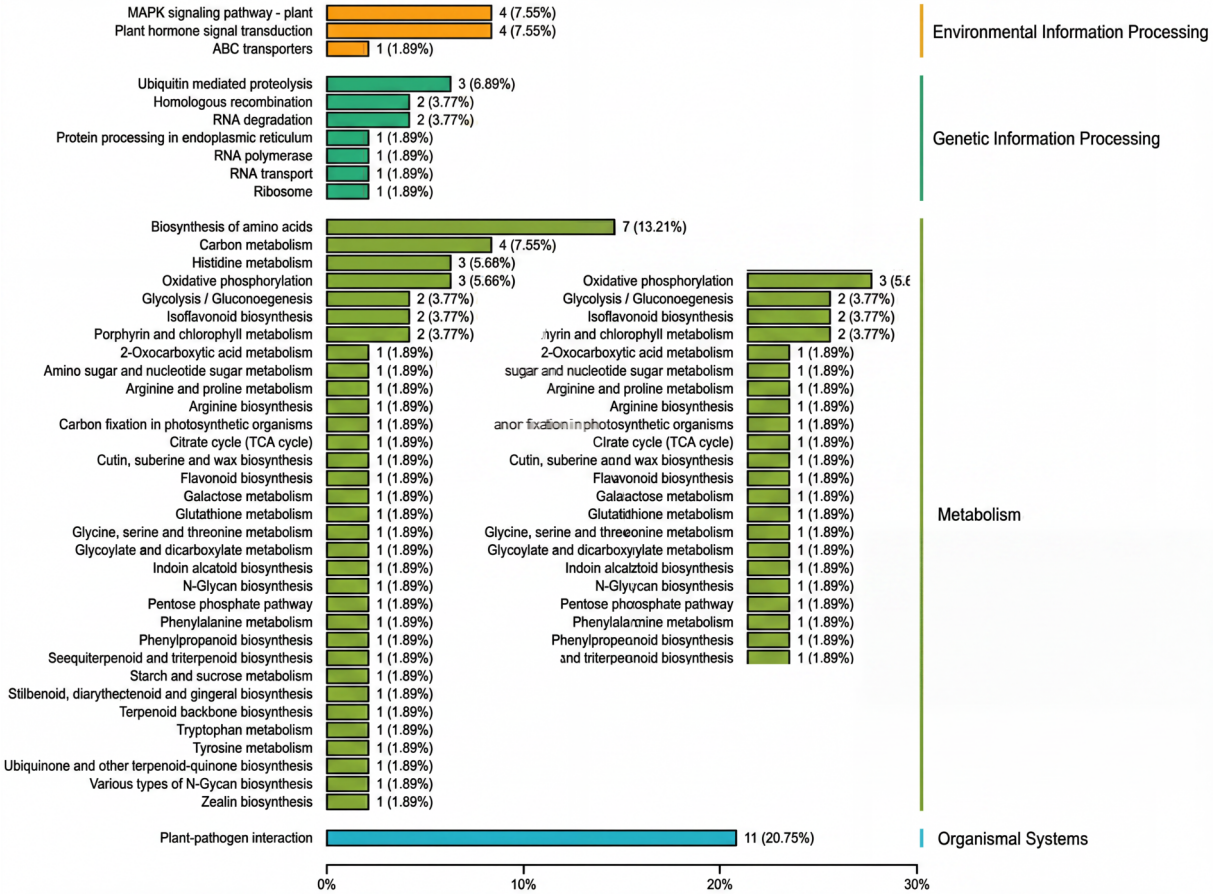


图3 不同粒重芝麻不同发育时期蒴果皮中共有差异表达基因KEGG分析

Fig. 3 KEGG analysis of identical DEGs in capsule walls of L1 and S1 at different developmental stages

筛选出14个与物质合成和转运、碳代谢、种子大小等相关的粒重候选基因。其中,籽粒中的差异表达基因8个,蒴果皮中的差异表达基因9个,且3个差异表达基因(*KLU*, *DA1*, *ARF2*)同时在籽粒和蒴果皮中被挖掘到。功能注释显示这些候选基因属于与种子粒重相关的代谢通路或途径(表1)。推测这些基因可能是重要的芝麻粒重相关候选基因。进一步基于芝麻蒴果皮和籽粒的转录组数据分别对这些基因的表达量进行了分析(图6、7)。

基于芝麻蒴果皮转录组数据分析发现(图6),*CHS5*、*GLYMA_08G363800*、*GLYMA_19G078300*表达量在小粒材料S1各个发育时期蒴果皮中均显著高

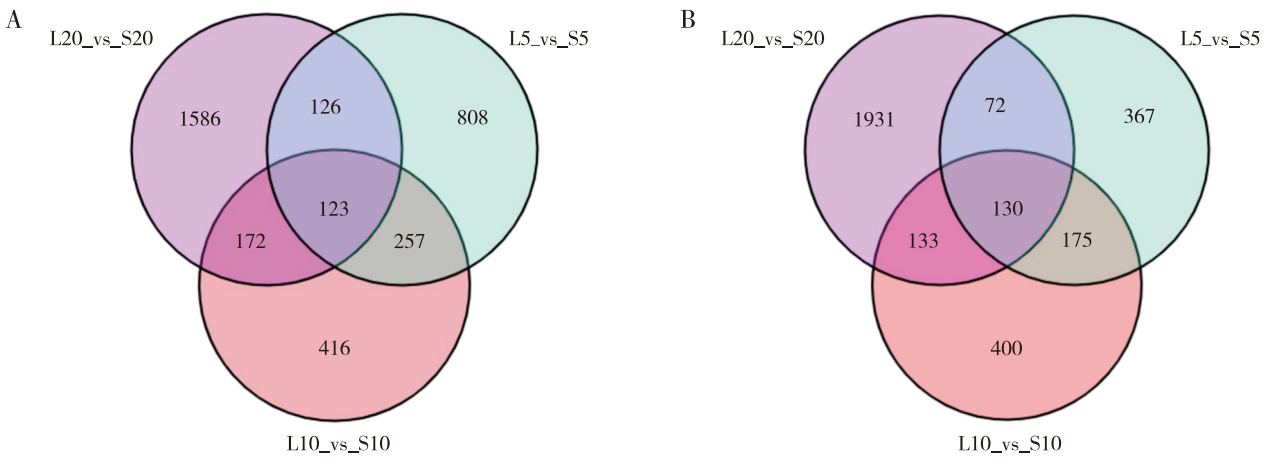


图4 不同粒重芝麻在不同发育时期籽粒中的上调基因(A)和下调基因(B)的韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of up-regulated genes (A) and down-regulated genes (B) in seeds of L1 and S1 at different developmental stages

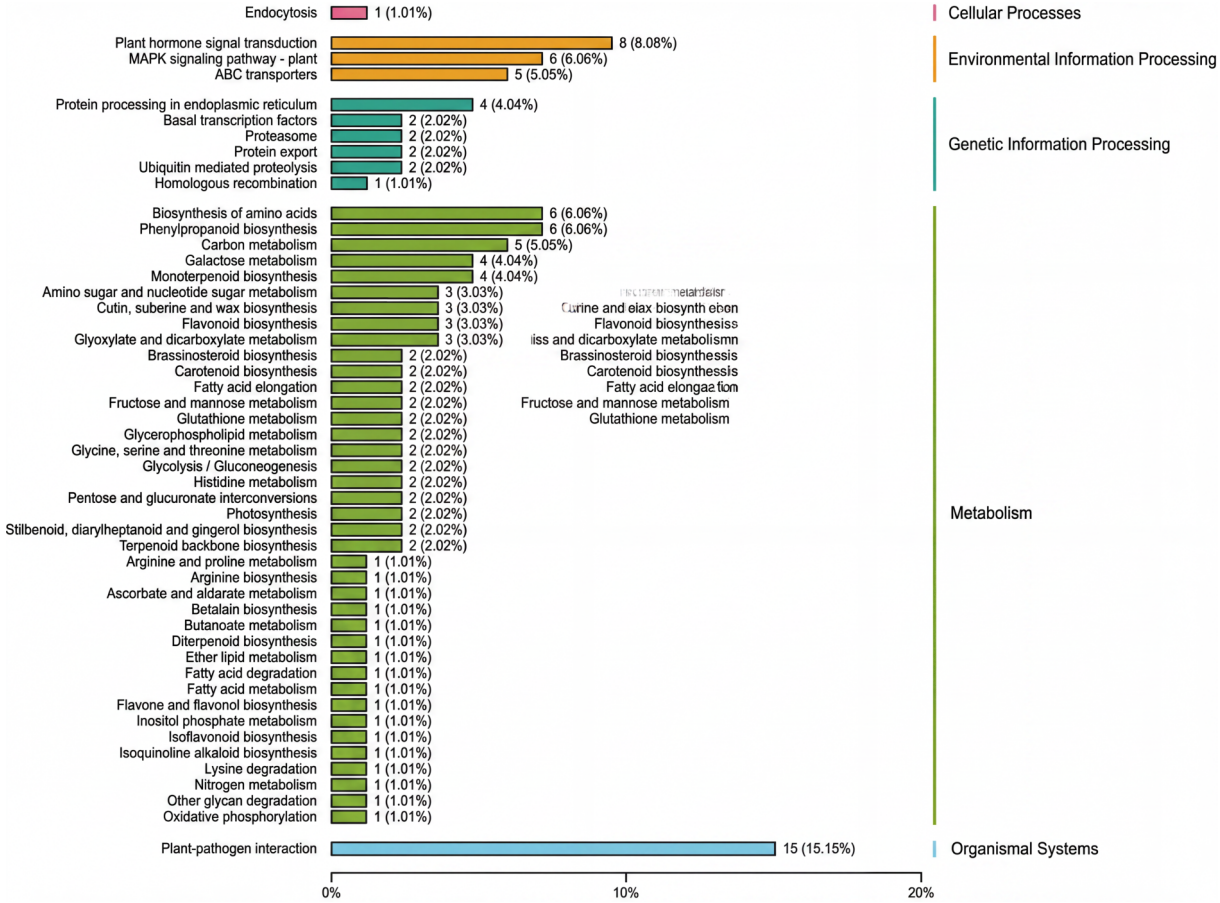


图5 不同粒重芝麻不同发育时期籽粒中共有差异表达基因KEGG分析

Fig. 5 KEGG analysis of identical DEGs in seeds of L1 and S1 at different developmental stages

于大粒材料L1;*GLYMA_17G093900*表达量在5 DAP和10 DAP小粒材料S1的蒴果皮中均显著高于大粒材料L1;*DA1*、*KLU*基因表达量在5 DAP和10 DAP的L1和S1蒴果皮中没有显著差异,但在20 DAP时期,S1蒴果皮中表达量显著高于L1。表明*CHS5*、*GLYMA_08G363800*、*GLYMA_19G078300*、*GLYMA_17G093900*、*DA1*、*KLU*在蒴果皮中的表达可能与粒重负相关。而*GLYMA_10G180000*表达量在L1各个发育时期蒴果皮中均显著高于S1;*SOD7*、*ARF2*基因表达量在5 DAP和10 DAP的L1和S1蒴果皮中没有显著差异,但在20 DAP时期,L1蒴果皮中表达量显著高于S1。表明*GLYMA_10G180000*、*SOD7*、*ARF2*

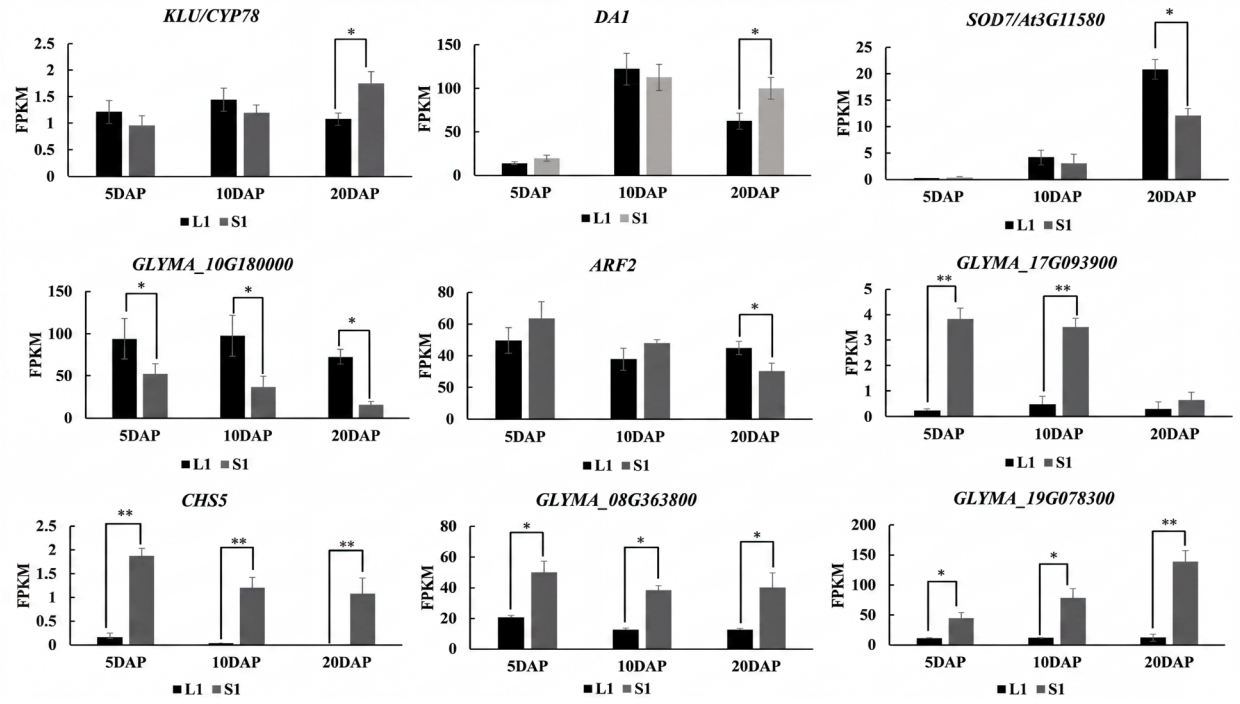
在蒴果皮中的表达可能与粒重正相关。

基于芝麻籽粒转录组数据分析发现(图7),*GLYMA_20G062700*、*GLYMA_01G057100*表达量在5 DAP小粒材料S1的籽粒中显著高于大粒材料L1,在10 DAP和20 DAP的L1和S1籽粒中没有显著差异;而*GLYMA_06G061300*表达量在10 DAP小粒材料S1的籽粒中显著高于大粒材料L1,在5 DAP和20 DAP的L1和S1籽粒中没有显著差异。表明*GLYMA_20G062700*、*GLYMA_01G057100*、*GLYMA_06G061300*在籽粒中的表达可能与粒重负相关。*RPT2*表达量则在5 DAP的L1籽粒中显著高于S1,在10 DAP和20 DAP的L1和S1籽粒中没有显著差异;*DA1*表达量在10 DAP的L1籽粒中显著高于S1,在5 DAP和20 DAP的L1和S1籽粒中没有显著差异;*KLU*、

表1 芝麻粒重相关候选基因信息

Table 1 Information of candidate genes related to seed weight in sesame

转录本名称 transcript name	同源基因名 Homologous gene	功能注释 Annotation
SIN_1022678	*KLU/At1G13710*	细胞色素P450 78A5/CYP78A5 Cytochrome
SIN_1019865	*DA1/At1G19270*	泛素受体 Ubiquitin receptors
SIN_1022048	*ARF2*	生长素响应因子2样 Auxin response factor 2-like
SIN_1022278	*RPT2a*	调节性粒子AAA-ATP酶2A Regulatory particle AAA-ATPase 2A
SIN_1007213	*GLYMA_20G062700*	含疏水种子蛋白结构域蛋白 Hydrophobic seed protein domain-containing protein
SIN_1024744	*GLYMA_06G061300*	蛋白定位到膜 Protein localization to membrane
SIN_1017462	*GLYMA-01G057100*	UDP-葡萄糖醛酸生物合成过程 UDP-glucuronate biosynthetic process
SIN_1007572	*AGG3*	非典型异源三聚体G蛋白γ亚基 Atypical heterotrimeric G-protein gamma-subunit
SIN_1007808	*SOD7/At3G11580*	AP2/B3样转录因子 AP2/B3-like transcriptional factor
SIN_1021838	*GLYMA_10G180000*	生长素激活信号通路 Auxin-activated signaling pathway
SIN_1018143	*GLYMA_17G093900*	细胞分裂素激活信号通路 Cytokinin-activated signaling pathway
SIN_1018960	*CHS5*	转移酶活性 Transferase activity
SIN_1017003	*GLYMA_08G363800*	蛋白质结构域特异性结合 Protein domain specific binding
SIN_1018022	*GLYMA_19G078300*	葡萄糖代谢过程 Glucose metabolic process

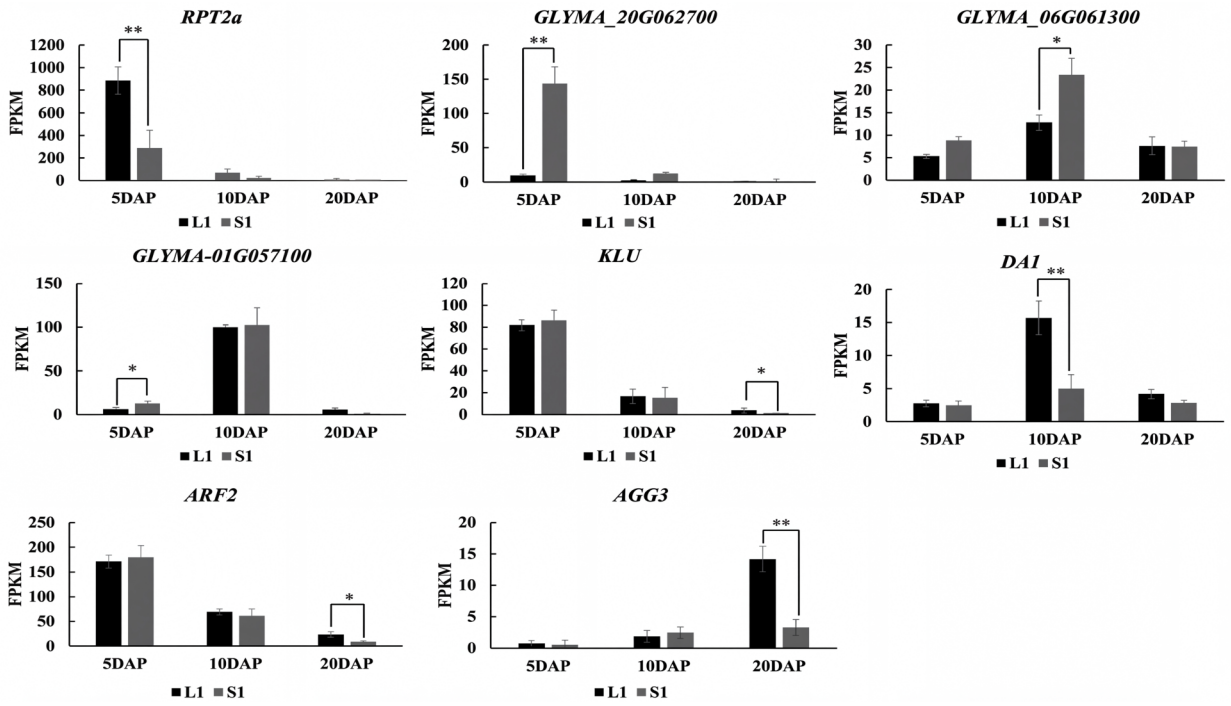


注:*和**分别表示在$P<0.05$和$P<0.01$水平差异显著

Note: * and ** mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively

图6 芝麻粒重相关候选基因在蒴果皮转录组中的表达量

Fig. 6 Expression levels of seed weight related genes in sesame based on RNA-Seq of capsule walls



注:*和**分别表示在$P<0.05$和$P<0.01$水平差异显著

Note: * and ** mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively

图7 芝麻粒重相关候选基因在籽粒转录组中的表达量

Fig. 7 Expression levels of seed weight related genes in sesame based on RNA-Seq of seeds

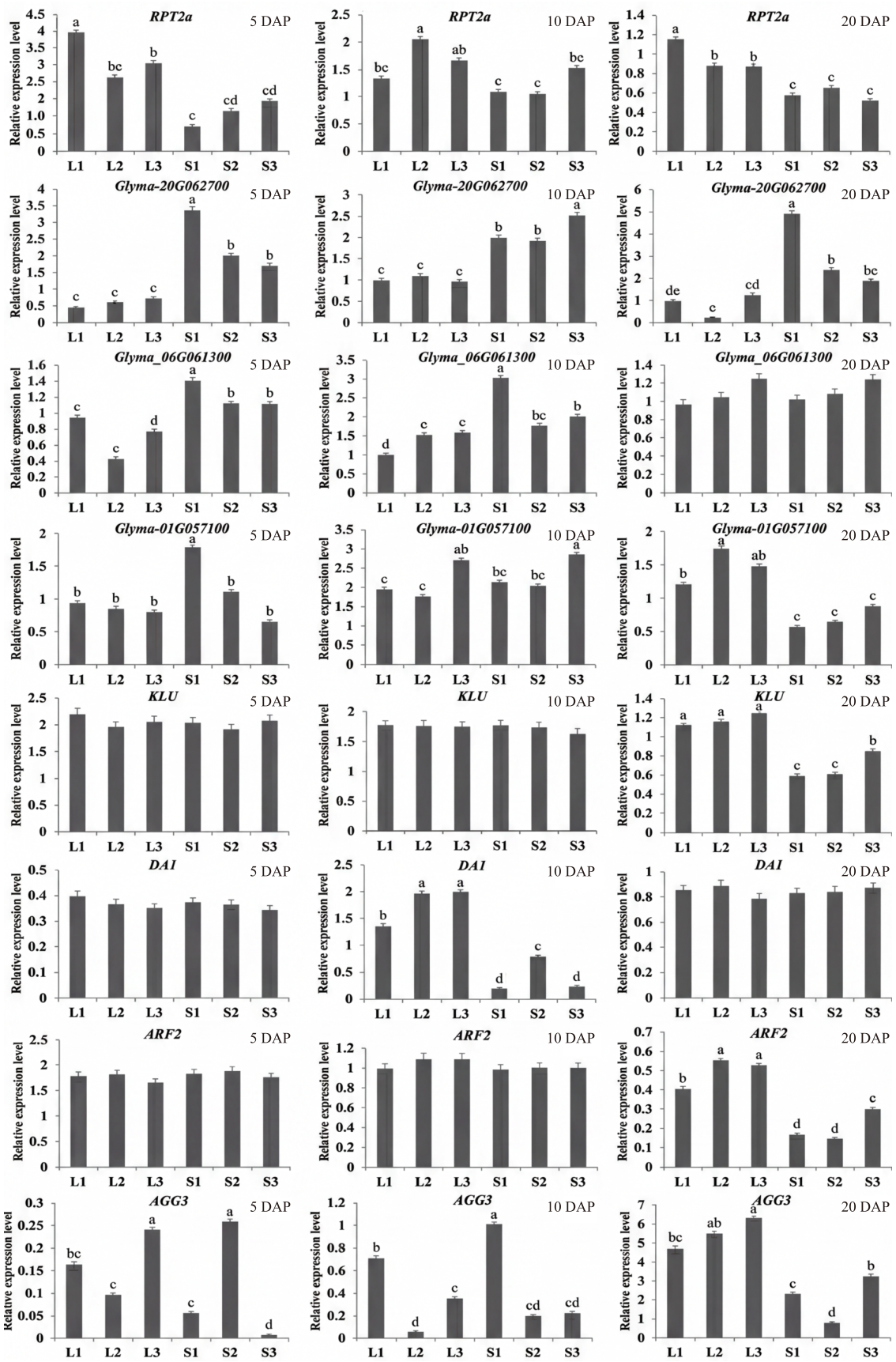
ARF2、*AGG3*基因表达量在5 DAP和10 DAP的L1和S1籽粒中没有显著差异,但在20DAP时期,L1籽粒中的表达量显著高于S1。表明*ARF2*、*DA1*、*KLU*、*AGG3*、*RPT2*在籽粒中的表达可能与粒重正相关。

2.5 粒重相关候选基因的qRT-PCR分析

基于籽粒和蒴果皮转录组数据,分别挖掘了8个和9个粒重候选基因。进一步利用qRT-PCR分析了这些粒重候选基因在6份不同粒重芝麻种质不同发育时期的籽粒和蒴果皮中的表达情况(图8、9)。结果表明,候选基因在L1和S1中表达量的变化趋势与转录组基本一致。

对6份不同粒重种质3个发育时期的籽粒进行qRT-PCR分析结果表明(图8),SIN_1022048(*ARF2*)、SIN_1022678(*KLU*)表达量在5 DAP和10 DAP时的大粒和小粒材料中基本无显著差异,但至20 DAP时大粒材料中表达显著高于小粒。SIN_1019865(*DA1*)表达量在10 DAP时大粒材料中显著高于小粒材料,而在5 DAP和20 DAP时各个材料中无显著差异。*RPT2*表达量在大粒材料不同发育时期的籽粒中均高于小粒材料。进一步证明*ARF2*、*KLU*、*DA1*、*RPT2*在籽粒中对粒重有正调控作用。SIN_1007213(*GLYMA_20G062700*)在小粒材料不同发育时期的表达量显著高于大粒材料;SIN_1024744(*GLYMA_06G061300*)表达量在5 DAP和10 DAP时小粒材料中显著高于大粒材料,而在20 DAP时各个材料中无显著差异。进一步揭示*GLYMA_20G062700*、*GLYMA_06G061300*在籽粒中的表达可能与粒重负相关。而SIN_1017462(*GLYMA_01G057100*)、SIN_1007572(*AGG3*)在不同遗传背景的芝麻材料中,除在20 DAP时大粒材料中表达显著高于小粒,在其余时期的小粒材料中也有高表达。这两个基因在籽粒中的作用可能与遗传背景有关。

对6份不同粒重芝麻3个发育时期的蒴果皮进行qRT-PCR分析结果表明(图9),SIN_1022678(*KLU*)、SIN_1019865(*DA1*)表达量在5 DAP和10 DAP的大粒和小粒材料中无显著差异;但至20 DAP时在大粒材料蒴果皮中显著高于小粒材料。SIN_1018960(*CHS5*)、SIN_1018143(*GLYMA_17G093900*)、SIN_1017003(*GLYMA_08G363800*)、SIN_1018022(*GLYMA_19G078300*)表达量在不同发育时期的小粒材料中均显著高于大粒。进一步表明这些基因(*KLU*、*DA1*、*CHS5*、*GLYMA_17G093900*、*GLYMA_08G363800*、*GLYMA_19G078300*)在芝麻蒴果皮中对粒重形成发挥负调控作用。SIN_1021838(*GLYMA_10G180000*)表达量在不同发育时期的大



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Note: Different lowercase letters represent statistically significant differences at $P < 0.05$. Same as below

图8 粒重候选基因在不同粒重芝麻种质籽粒中的qRT-PCR表达分析

Fig. 8 qRT-PCR analysis of seed weight related genes in seeds of sesame with different seed weights

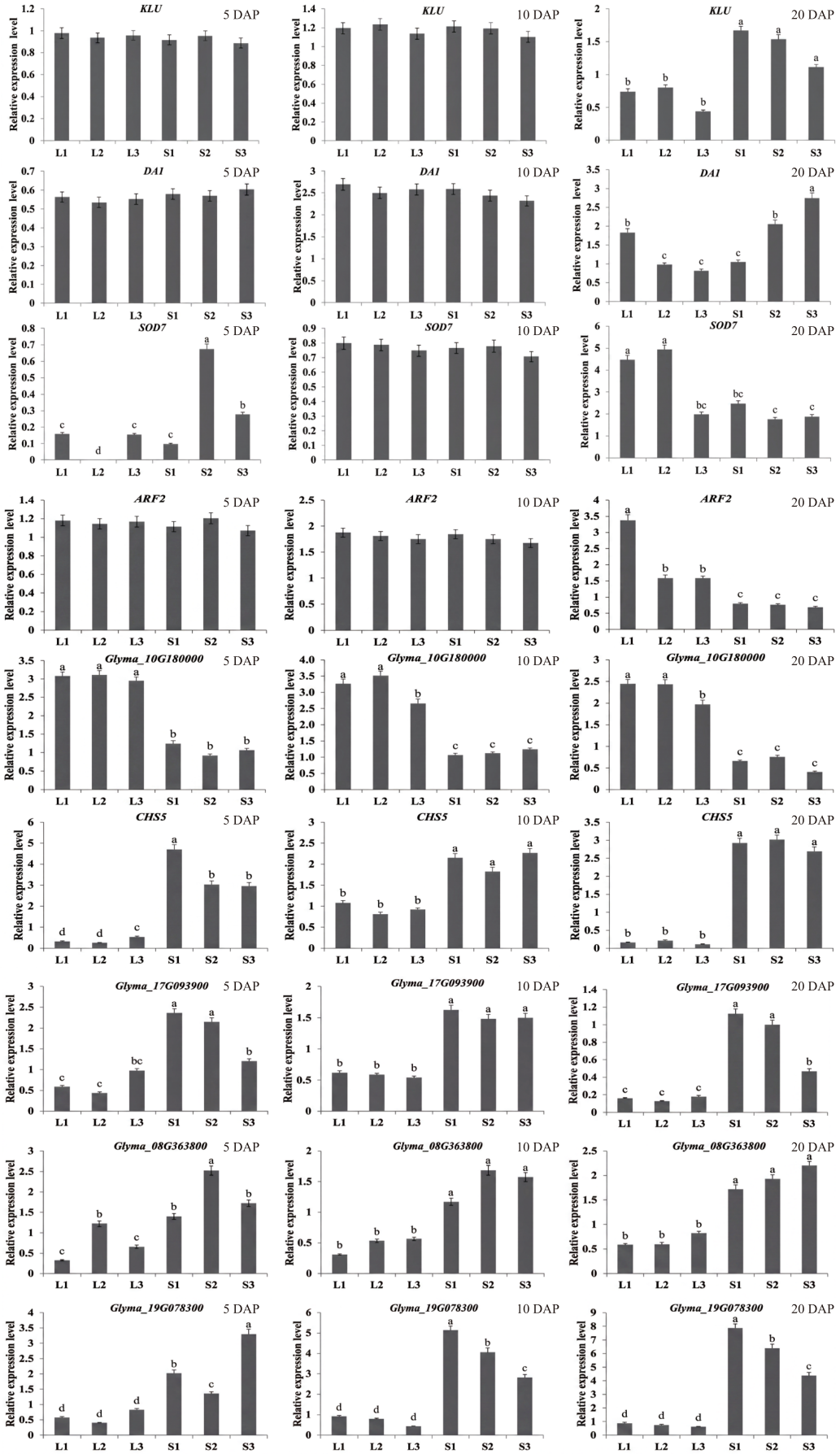


图9　粒重相关基因在不同粒重芝麻种质蒴果皮中的qRT−PCR表达分析

Fig. 9　qRT−PCR analysis of seed weight related genes in capsule walls of sesame with different seed weights

粒材料中均显著高于小粒材料。SIN_1022048(*ARF2*)表达量则在5 DAP和10 DAP时的大粒和小粒材料中没有显著差异,但至20 DAP时大粒材料中表达显著高于小粒。进一步证明*GLYMA_10G180000*、*ARF2*基因在芝麻蒴果皮中对粒重形成发挥正调控作用。SIN_1007808(*SOD7*)表达量在20 DAP时的L1、L2中显著高于L3和三个小粒材料(在L3与三个小粒材料中的表达无显著差异),在10 DAP时的各个材料中基本无显著差异;但在5 DAP时在S2、S3中的表达量显著高于3个大粒材料及S1,且在S1、L1、L3中表达量无显著差异(此三者中的表达量显著高于L2)。推测*SOD7*在蒴果皮中对芝麻籽粒发育和粒重形成的作用与遗传背景有关。

3 讨论与结论

粒重是农作物重要的农艺性状。挖掘调控种子重量/大小的关键基因对作物高产育种具有重要意义。种子与器官的大小受细胞数量和细胞大小的共同调控,并通过协调细胞增殖与细胞扩张来控制器官发生过程[38]。在高等植物中,种子发育始于双重受精过程:其中一个单倍体花粉核与单倍体卵细胞融合形成二倍体胚,而另一个精子核则与二倍体中央细胞结合生成三倍体胚乳。包裹胚珠的珠被由母体组织构成,受精后形成种皮。因此,种子大小由胚、胚乳及母体组织的生长共同决定。然而,关于植物粒重形成的遗传与分子机制几乎尚未明确。

已有研究表明,籽粒大小和粒重相关基因涉及多个调控通路,包括G蛋白信号通路、MAPK途径、泛素-蛋白酶体途径、植物激素信号传导、转录调节因子、IKU途径、CYP450途径和miRNA途径以及碳水化合物的代谢、蛋白质和脂肪合成代谢等[4,6,7,9,10,14,15,18,20,21,24,38,39,44,45]。在本研究中,筛选出14个基因(籽粒中8个,蒴果皮中9个,其中有3个基因在籽粒和蒴果皮同时挖掘出)与光合作用、物质合成和转运、碳代谢、种子大小等相关,这些基因包括*KLU*、*DA1*、*ARF2*等(表1)。功能注释显示这些候选基因属于与种子粒重相关的代谢通路或途径。如,*DA1*属于泛素-蛋白酶体途径[3];*SOD7*与*KLU*也属于泛素-蛋白酶体途径,但独立于*DA1*[5,6,39]。*GLYMA_10G180000*是AUX/IAA转录调节因子[24],*GLYMA_19G078300*参与葡萄糖代谢过程[23],*CHS5*参与物质转运,*GLYMA_06G061300*参与细胞膜和细胞壁合成[22]。预示着本研究基于芝麻籽粒和蒴果皮的RNA-Seq可能挖掘出粒重相关的重要基因。

在拟南芥中已鉴定出若干种子大小调控因子,如*TTG2*、*AP2*、*ARF2*、*KLU* 、*DA1*、*DA2*和*SOD2/UBP15*。研究发现,DA1与E3泛素连接酶DA2和EOD1协同作用,限制种子和器官的生长[4];DA1与SOD2相互作用,并通过调节SOD2的稳定性来调控种子和器官的大小[7]。*SOD7*编码一个B3结构域转录抑制因子NGAL2,并与其最接近的同源物NGAL3/DPA4共同作用,通过限制胚珠和发育中种子外皮细胞的增殖,母源性地调控种子大小。SOD7和DPA4作为种子大小的负调控因子,与母源因子KLU共同作用于调控种子生长的同一通路,但其作用独立于DA1;SOD7直接结合*KLU*的启动子区域并抑制KLU的表达[5]。此外,前人研究发现,油菜的角果[27]、大豆[40]和苜蓿[41]的荚果、小麦的穗[29,42]、棉花苞片和蒴果[43]、蓖麻蒴果[26]等非叶绿色器官均具有较强的光合能力,是对叶片光合物质生产能力的重要补充[32]。本课题组前期研究也发现芝麻蒴果皮具有较高的光合能力,影响芝麻粒重形成[30,31]。但迄今未见利用非叶绿色器官(如果皮)转录组数据挖掘粒重相关基因的报道。本研究通过结合芝麻籽粒和蒴果皮的转录组分析及qRT-PCR表达分析挖掘粒重相关候选基因,发现*KLU*、*DA1*、*CHS5*、*GLYMA_17G093900*、*GLYMA_08G363800*、*GLYMA_19G078300*在芝麻蒴果皮中对粒重形成发挥负调控作用;*GLYMA_10G180000*、*ARF2*基因在芝麻蒴果皮中对粒重形成发挥正调控作用。值得注意的是,*KLU*、*ARF2*、*DA1*同时出现在籽粒和蒴果皮转录组的差异表达基因中,可能是与芝麻粒重相关的关键基因。本研究分析揭示,*ARF2*在芝麻籽粒和蒴果皮中均发挥正调控作用,而*KLU*、*DA1*在蒴果皮中表现为对粒重负调控,在籽粒中的作用则与之相反,表现为对粒重正调控。如前所述,*GLYMA_10G180000*是AUX/IAA转录调节因子[24],*GLYMA_19G078300*参与葡萄糖代谢过程[23],*CHS5*参与物质转运。*KLU*通过促进种皮细胞的增殖控制种子大小[5,6],*ARF2*通过整合生长素和芸苔素途径促进粒重形成[44],*DA1*则通过限制种皮细胞的增殖控制种子大小[3,4,45,46]。进一步解析这些粒重候选基因在芝麻籽粒发育和粒重形成过程中的确切功能和作用机制,包括其如何促进蒴果皮中的光合产物合理分配、如何影响种子胚或胚乳细胞的增殖,以及基因之间的互作关系等,对于丰富作物种子发育生物学具有重要意义。

综上所述,本研究通过分析粒重差异显著的大粒L1和小粒S1不同发育时期(5 DAP、10 DAP和20 DAP)的籽粒和蒴果皮转录组数据,挖掘差异表达基因,并对这些差异表达基因进行GO和KEGG分析,对应的KEGG主要富集于碳水化合物的运输和代谢、氨基酸的转运和代谢、植物激素信号转导、氨基糖和核苷酸糖的代谢、氨基酸的生物合成、苯丙类物质合成、碳代谢等。筛选出14个(籽粒中8个,蒴果皮中9个)与物质合成和转运、碳代谢、种子大小等相关的粒重候选基因。基因表达分析揭示*KLU*、*DA1*、*ARF2*等候选基因对芝麻籽粒发育和粒重形成具有重要而复杂的作用。

参考文献:

[1] 张衡. 116份芝麻种质资源农艺性状分析及评价[J]. 中国种业, 2023(9): 59-65. DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2023.09.031

[2] 崔承齐, 刘艳阳, 江晓林, 等. 芝麻产量相关性状的多位点全基因组关联分析及候选基因预测[J]. 中国农业科学, 2022, 55(1): 219-232. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2022.01.018.

[3] Gu B G, Dong H, Smith C, et al. Modulation of receptor-like transmembrane kinase 1 nuclear localization by DA1 peptidases in *Arabidopsis*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(40): e2205757119. DOI: 10.1073/pnas.2205757119.

[4] Keren I, Lacroix B, Kohrman A, et al. Histone deubiquitinase OTU1 epigenetically regulates DA1 and DA2, which control *Arabidopsis seed* and organ size [J]. iScience, 2020, 23(3): 100948. DOI: 10.1016/j.isci.2020.100948.

[5] Zheng L Y, Wu H L, Wang A B, et al. The SOD7/DPA4 - GIF1 module coordinates organ growth and iron uptake in *Arabidopsis*[J]. Nat Plants, 2023, 9(8): 1318-1332. DOI:10.1038/s41477-023-01475-0.

[6] Zhou C L, Lin Q B, Ren Y L, et al. A CYP78As - small grain4 - coat protein complex Ⅱ pathway promotes grain size in rice[J]. Plant Cell, 2023, 35(12): 4325-4346. DOI:10.1093/plcell/koad239.

[7] Wu X D, Cai X B, Zhang B W, et al. ERECTA regulates seed size independently of its intracellular domain *via* MAPK-DA1-UBP15 signaling [J]. Plant Cell, 2022, 34(10): 3773-3789. DOI: 10.1093/plcell/koac194.

[8] Khan M H U, Hu L M, Zhu M S, et al. Targeted mutagenesis of *EOD3* gene in *Brassica napus* L. regulates seed production [J]. J Cell Physiol, 2021, 236(3): 1996-2007. DOI:10.1002/jcp.29986.

[9] Li Y J, Huang K, Zhang L M, et al. A molecular framework for the GS2-SUG1 module-mediated control of grain size and weight in rice[J]. Nat Commun, 2025, 16: 3944. DOI:10.1038/s41467-025-59236-w.

[10] Zhang Y M, Yu H X, Ye W W, et al. A rice QTL GS3.1 regulates grain size through metabolic-flux distribution between flavonoid and lignin metabolons without affecting stress tolerance[J]. Commun Biol, 2021, 4: 1171. DOI:10.1038/s42003-021-02686-x.

[11] Abbas W, Shalmani A, Zhang J, et al. TheGW5-WRKY53-*SGW5* module regulates grain size variation in rice[J]. New Phytol, 2024, 242(5): 2011-2025. DOI: 10.1111/nph.19704.

[12] Li L F, Li J J, Liu K K, et al. *DGW1*, encoding an hnRNP-like RNA binding protein, positively regulates grain size and weight by interacting with *GW6* mRNA [J]. Plant Biotechnol J, 2024, 22(2): 512-526. DOI: 10.1111/pbi.14202.

[13] Zhang Y, Xiong Y, Liu R Y, et al. The Rho-family GTPase*OsRac1* controls rice grain size and yield by regulating cell division[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(32): 16121-16126. DOI:10.1073/pnas.1902321116.

[14] Liu S Y, Hua L, Dong S J, et al. OsMAPK6, a mitogen-activated protein kinase, influences rice grain size and biomass production [J]. Plant J, 2015, 84(4): 672-681. DOI:10.1111/tpj.13025.

[15] Wu W F, Zhu L H, Wang P, et al. Transcriptome-based construction of the gibberellin metabolism and signaling pathways in *Eucalyptus* grandis × E. urophylla, and functional characterization of *GA20ox* and *GA2ox* in regulating plant development and abiotic stress adaptations [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(8): 7051. DOI: 10.3390/ijms24087051.

[16] Feng W Q, Zhou Y H, Duan H M, et al. Maize ZmBES1/BZR1-4 recruits ZmTLP5 to regulate drought tolerance and seed development by regulating *ZmPum6* and *ZmMBP1*[J]. Plant J, 2025, 122: e70162. DOI: 10.1111/tpj.70162.

[17] Lu X, Xiong Q, Cheng T, et al. A PP2C-1 allele underlying a quantitative trait locus enhances soybean 100-seed weight[J]. Mol Plant, 2017, 10(5): 670-684. DOI:10.1016/j.molp.2017.03.006.

[18] Gu Y Z, Li W, Jiang H W, et al. Differential expression of a WRKY gene between wild and cultivated soybeans correlates to seed size[J]. J Exp Bot, 2017, 68(11): 2717-2729. DOI:10.1093/jxb/erx147.

[19] Ge L F, Yu J B, Wang H L, et al. Increasing seed size and quality by manipulating *BIG SEEDS1* in legume species[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(44):

12414-12419. DOI:10.1073/pnas.1611763113.

[20] Liu J, Hua W, Hu Z Y, et al. Natural variation in *ARF18* gene simultaneously affects seed weight and silique length in polyploid rapeseed[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(37): 5123-5132. DOI:10.1073/pnas.1502160112.

[21] Xie G N, Li Z X, Ran Q J, et al. Over-expression of mutated *ZmDA1* or *ZmDAR1* gene improves maize kernel yield by enhancing starch synthesis[J]. Plant Biotechnol J, 2018, 16(1): 234-244. DOI:10.1111/pbi.12763.

[22] Kumar R, Saini M, Taku M, et al. Identification of quantitative trait loci (QTLs) and candidate genes for seed shape and 100-seed weight in soybean [*Glycine max* (L.) Merr [J]. Front Plant Sci, 2023, 13: 1074245. DOI:10.3389/fpls.2022.1074245.

[23] Lv J H, Liu Z B, Liu Y H, et al. Comparative transcriptome analysis between cytoplasmic male-sterile line and its maintainer during the floral bud development of pepper[J]. Hortic Plant J, 2020, 6(2): 89-98. DOI: 10.1016/j.hpj.2020.01.004.

[24] Singh V K, Jain M. Genome-wide survey and comprehensive expression profiling of Aux/IAA gene family in chickpea and soybean[J]. Front Plant Sci, 2015, 6: 918. DOI:10.3389/fpls.2015.00918.

[25] Hibberd J M, Quick W P. Characteristics of C4 photosynthesis in stems and petioles of C3 flowering plants [J]. Nature, 2002, 415 (6870): 451-454. DOI: 10.1038/415451a.

[26] Zhang Y, Mulpuri S, Liu A Z. Photosynthetic capacity of the capsule wall and its contribution to carbon fixation and seed yield in castor (*Ricinus communis* L.)[J]. Acta Physiol Plant, 2016, 38 (10): 245. DOI: 10.1007/s11738-016-2263-y.

[27] Hua W, Li R J, Zhan G M, et al. Maternal control of seed oil content in *Brassica napus*: the role of silique wall photosynthesis[J]. Plant J, 2012, 69(3): 432-444. DOI:10.1111/j.1365-313x.2011.04802.x.

[28] Pengelly J J L, Kwasny S, Bala S M, et al. Functional analysis of corn husk photosynthesis[J]. Plant Physiol, 2011, 156(2): 503-513. DOI:10.1104/pp.111.176495.

[29] Chaudhary C, Sharma N, Khurana P. The contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat[J]. Field Crop, 2010, 119: 48-58. DOI: 10.1016/j.fcr.2010.06.014.

[30] 陈艳妮, 徐鸿儒, 赵云燕, 等. 芝麻蒴果发育过程中蒴果皮的光合作用及籽粒充实的变化研究[J]. 植物生理学报, 2022, 58 (4): 723-732. DOI:10.13592/j.cnki.ppj.100054.

[31] 赵俊, 段先琴, 陈艳妮, 等. 芝麻蒴果光合作用对粒重形成相关性状的贡献率分析[J]. 作物杂志, 2024, (4): 121-129. DOI: 10.16035/j. issn. 1001-7283.2024.04.015.

[32] Wang L H, Xia Q J, Zhang Y X, et al. Updated sesame genome assembly and fine mapping of plant height and seed coat color QTLs using a new high-density genetic map[J]. BMC Genom, 2016, 17(1): 31. DOI:10.1186/s12864-015-2316-4.

[33] Wang H, Cui C Q, Liu Y Y, et al. Genetic mapping of QTLs controlling brown seed coat traits by genome resequencing in sesame (*Sesamum indicum* L.)[J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1131975. DOI: 10.3389/fpls.2023.1131975.

[34] Mei H X, Cui C Q, Liu Y Y, et al. QTL analysis of traits related to seed size and shape in sesame (*Sesamum indicum* L.)[J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0293155. DOI:10.1371/journal.pone.0293155.

[35] Weldemichael M Y, Gebremedhn H M. QTL mapping in sesame (*Sesamum indicum* L.): a review[J]. J Biotechnol, 2023, 376: 11-23. DOI: 10.1016/j. jbiotec.2023.09.003.

[36] Hardcastle T J, Kelly K A. baySeq: Empirical Bayesian methods for identifying differential expression in sequence count data[J]. BMC Bioinform, 2010, 11(1): 422. DOI:10.1186/1471-2105-11-422.

[37] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method[J]. Nat Protoc, 2008, 3(6): 1101-1108. DOI:10.1038/nprot.2008.73.

[38] Li N, Li Y H. Signaling pathways of seed size control in plants[J]. Curr Opin Plant Biol, 2016, 33: 23-32. DOI:10.1016/j.pbi.2016.05.008.

[39] Zhang J P, Yao J, He K R, et al. Jasmonate signaling coordinates with the SOD7 - KLU pathway to regulate seed size in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell, 2025, 37(8): koaf178. DOI:10.1093/plcell/koaf178.

[40] 杨阳, 苍晶, 王学东, 等. 大豆豆荚光合特性及其对产量的贡献[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(12): 51-56. DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2008.12.012.

[41] Zhang W X, Mao P S, Li Y, et al. Assessing of the contributions of pod photosynthesis to carbon acquisition of seed in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42026. DOI:10.1038/srep42026.

[42] Zhou B W, Serret M D, Elazab A, et al. Wheat ear carbon assimilation and nitrogen remobilization contribute significantly to grain yield[J]. J Integr Plant Biol, 2016, 58(11): 914-926. DOI:10.1111/jipb.12478.

[43] Hu Y Y, Zhang Y L, Luo H H, et al. Important photosynthetic contribution from the non-foliar green organs in cotton at the late growth stage[J]. Planta, 2012, 235

(2): 325-336. DOI:10.1007/s00425-011-1511-z.

[44] Vert G, Walcher C L, Chory J, et al. Integration of auxin and brassinosteroid pathways by Auxin Response Factor 2[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(28): 9829-9834. DOI:10.1073/pnas.0803996105.

[45] Peng Y C, Chen L L, Lu Y R, et al. The ubiquitin receptors DA1, DAR1, and DAR2 redundantly regulate endoreduplication by modulating the stability of TCP14/15 in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2015, 27(3): 649-662. DOI:10.1105/tpc.114.132274.

[46] Liu H, Li H F, Hao C Y, et al. *TaDA1*, a conserved negative regulator of kernel size, has an additive effect with *TaGW2* in common wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Plant Biotechnol J, 2020, 18(5): 1330-1342. DOI:10.1111/pbi.13298.

(责任编辑:郭学兰)