文章编号：1005-0906(2019)03-0016-07 DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20190303

玉米WOX家族基因的鉴定与分析

郑 玲,冯梦园,韩建明
(洛阳师范学院生命科学学院,河南 洛阳 471934)

摘 要：利用生物信息学的方法鉴定31个玉米的WOX家族基因,对这31个玉米WOX家族基因进行分析。多序列对比结果表明,玉米WOX家族和拟南芥WOX成员均具有高度保守的HOX结构域组helix1-loop-helix2-turn-helix3结构。以拟南芥WOX家族成员作为参照,构建系统进化树,玉米WOX家族成员和拟南芥WOX家族成员共46个基因被分为3个进化支。通过进一步的内含子以及motif分析,结果显示,各个进化支内部的内含子和motif相似度极高,而不同的进化支间有较大的差别。对玉米WOX家族基因的表达模式和功能初步分析,结果表明,有6个WOX家族基因参与了玉米生长发育的调控。

关键词：玉米;WOX家族基因;生物信息学
中图分类号：S513.035.3 **文献标识码**：A

Identification and Analysis of WOX Family Genes in Maize

ZHENG Ling, FENG Meng-yuan, HAN Jian-ming
(*College of Life Science Biological Science, Luoyang Normal Uinversity, Luoyang* 471000, China)

Abstract: The maize(*Zea mays*) genome data was utilized to search and identify the three databases(Phytozome, PlantTFDB and NCBI). The 31 families of WOX family genes were identified. Multiple sequence comparisons revealed that the WOX family members of maize had a highly conserved HOX domain. The phylogenetic tree was constructed using the WOX family members of Arabidopsis thaliana as a reference, which was divided into 3 groups. Intron and motif analysis showed that the introns and motifs within each subfamily had extremely high similarities, and there were significant differences among different subfamily. Finally, the expression patterns and functions of the WOX family genes in maize were analyzed.

Key words: Maize; WOX family gene; Bioinformatic

WUSCHEL-related homeobox(WOX)家族是存在于植物体中的一类特异性家族基因,它具有调节植物干细胞分裂分化的动态平衡、参与植物的胚胎发育和胚后发育等多种功能[1]。WOX家族基因中发现的第一个基因是*WUS*。1996年,Laux等发现拟南芥(*Arabidopsis thaiana*)的*WUS*突变体存在茎尖分生组织和花序分生组织异常,不断产生有缺陷的茎尖分生组织、花的数量明显减少、缺少雄蕊等异常现象[2]。*WUS*基因虽然不会影响植物中干细胞的发生,但对其维持各种生命活动及功能的稳定性发挥着重要的影响。进一步的研究表明,*WUS*基因的缺失可导致干细胞分化加速,*WUS*的表达范围是茎顶端分生组织(SAM)的组织中心。因此,*WUS*的作用是维持SAM中的干细胞活性及数量、促进干细胞增殖生长、抑制干细胞分化。2004年,Haecher等在全面研究拟南芥基因组之后,发现了15个编码与*WUS*结构相似的蛋白基因,将他们正式命名为*WOX*基因[3]。

WOX转录因子家族共有15个成员,包括*WUS*以及*WOX1*~*WOX14*,他们共同参与了植物胚胎以及胚后发育的调控。*WUS*基因维持茎尖顶端的分生组织,影响子房和花药的发育,诱导茎尖生成分生组织,进而形成叶片和花序[4]。*WOX3*参与拟南芥花瓣的发育过程,突变体的花瓣缺失或变窄[5]。*WOX13*和*WOX14*也参与影响根和花的发育[6]。拟南芥中*WOX11*和*WOX12*共同参与影响外植体根的发育[7]。*WOX5*具有维持根端分生组织(RAM)中干细

录用日期：2019-03-20
基金项目：河南省科技攻关计划项目(172102110105)
作者简介：郑 玲(1981-),女,河南南阳人, 讲师,硕士,从事植物学研究。
韩建明为本文通讯作者。

胞干性的功能[8]。WOX基因家族参与了植物胚胎以及胚后发育的调控。在植物胚后发育的阶段中,各种生物和非生物胁迫通过相应的信号传导途径,影响干细胞动态平衡的调控,使植物体调整发育进程来适应环境的变化[9]。根尖干细胞动态平衡通过两个相对独立的途径调控来实现建立和维持,其一是转录因子PLT和植物激素生长素[10];其二是GRAS家族中的SHR和SCR。在拟南芥根尖组织中,茉莉酸能负向调控根尖干细胞的维持能力和根分生的组织活力,其中机理是参与茉莉酸信号途径的转录因子能够直接PLT1/2的启动子区域结合并且抑制其表达,从而通过影响生长素梯度分布来调控干细胞的动态平衡[11]。

玉米(*Zea mays*)在全世界的热带和温带地区广泛种植,是一种重要的粮食谷物[12]。近些年来,人们对玉米中的*WOX*基因进行了深入的研究。本研究通过生物信息学的方法鉴定玉米WOX家族基因,通过各种软件研究玉米WOX家族基因的进化关系,预测其表达模式,为研究玉米基因结构和功能的研究提供有效理论依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

玉米的WOX转录因子家族蛋白序列数据均来自于Phytozome、PlantTFDB、NCBI等数据库。转录因子在玉米各个组织中的表达来源于qTeller网站。分析使用的软件以及在线网站包括PlantTFDB、Phytozome、NCBI、InterPro、ClustalX、GeneDoc、MEGA6、GSDS2.0、Tbtools、MapInspect、MEME、qTeller、MEV4和Plant-mPLoc。

1.2　实验方法

1.2.1　玉米WOX家族基因的鉴定

在PlantTFDB和NCBI中下载对应的序列,为了保证数据的准确度和全面性,需要把在数据库中下载的序列依次在PlantTFDB、Phytozome和NCBI这3个数据库中进行在线Blastp。这3个数据库检索到的结果有一定的差异,需要将冗余去除,将得到的候选基因利用InterPro在线验证网站鉴定是否含有WOX Homeobox等HOX结构域,将含有HOX结构域的基因选为玉米WOX家族基因,记录玉米WOX家族基因的基本信息,并制成表格。

1.2.2　玉米WOX家族基因的保守域分析

在PlantTFDB中下载拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的WOX家族序列,将玉米和拟南芥含有HOX结构域的domain标出,再利用ClustalX进行多序列比对,通过GeneDoc将得到的图片进行设置,调整灰度、截取保守部分、保存图片来分析玉米WOX家族蛋白序列的保守结构。

1.2.3　玉米WOX家族基因系统进化树的构建

从PlantTFDB上下载拟南芥序列,利用MEGA6构建系统进化树,得到ZmWOX家族和AtWOX家族进化树,用红色圆点标注出拟南芥家族基因。

1.2.4　玉米WOX家族基因基因结构的分析

在Phytozome数据库中下载各个玉米WOX家族基因对应的CDS序列和基因序列,再用在线软件GSDS2.0分析,按照进化树的顺序进行排列,并生成图片。利用在线网站MEME进行蛋白质的motif分析,通过Tbtools软件制图,并将图片拼接调整。

1.2.5　玉米WOX家族基因在染色体上的定位分析

将在Phytozome中搜索到的ZmWOX家族基因在染色体上的位置信息,按照在一条染色体上的位置进行排序,利用制作染色体定位图的map模板整理成map文件,再利用MapInspect软件制图。

1.2.6　玉米WOX家族基因表达模式和功能分析

利用玉米转录组数据库qTeller中的RNAseq在各种组织中的表达结果用来分析玉米WOX转录因子的表达模式,选取花药、胚胎、胚乳、胚珠、种子、成熟丝、未受精果穗、维管束鞘细胞、发育叶、成熟叶、叶肉细胞、根、芽共16组转录量数据,按照模板格式将数据整理成文档,并利用MEV4软件对检测到的ZmWOX家族成员进行聚类分析。

2　结果与分析

2.1　玉米WOX家族基因的鉴定

利用Pfam数据库(http://pfam.sanger.ac.uk/)搜索关键词"WOX",获得登录号为"PF00046"的序列。以"PF00046"为搜索序列在PlantTFDB和NCBI中进行Blastp,共获得58个候选基因。清除结果中重复的基因,一共得到31个候选基因,将这31个候选基因在InterPro中进行验证,结果显示,这31个基因编码的蛋白都具有两个完整的HOX结构域。将氨基酸长度、CDs长度、理论等电点、蛋白分子量、亚细胞定位以及基因在染色体上的位置信息数据保存制作成表格(表1)。对鉴定的玉米WOX家族成员的理化性质进行分析发现,各个成员的理化性质均存在差异,氨基酸长度介于192~842 aa之间,理论等电点介于5.660 2~11.004 6之间,蛋白质分子量则介于17 479.7~92 379.5 Da之间。亚细胞定位结果发现,只有ZmWOX19除了定位在核中,还可能定位在叶绿体中,其余30个WOX家族基因均只定位在细胞

核中。

用“Zm”表示玉米的缩写，依据基因在染色体上的先后位置进行排序，将这31个基因命名为*ZmWOX1*～*ZmWOX31*。这31个基因在第1、2、3、4、4、8、9、10号染色体上分布，数量分别是4、4、6、1、3、7、4、2个。

表1 ZmWOX转录因子家族的特征

Table 1 Characteristics of WOX transcription factor family in Zea mays

名 称 Name	长度(aa) Length	等电点 pI	分子量(Da) Molecularweight	亚细胞定位 Subcells location	Phytozome编号 Phytozome number	染色体 Chromosome	开始位置 Start position	终止位置 End position
ZmWOX1	840	6.152 4	92 098.2	核	GRMZM2G042250_T01	Ch1	2791599	2798484
ZmWOX2	295	7.417 5	32 686.5	核	GRMZM2G038252_T02	Ch1	26128999	26132765
ZmWOX3	273	6.510 9	30 387.8	核	GRMZM2G038252_T01	Ch1	26128999	26132973
ZmWOX4	314	6.777 9	32 015.5	核	GRMZM2G314064_T01	Ch1	52343963	52347384
ZmWOX5	320	8.113 2	33 087.9	核	GRMZM2G047448_T01	Ch2	3392385	3393860
ZmWOX6	246	8.220 8	25 981.9	核	GRMZM2G069028_T02	Ch2	143166134	143167976
ZmWOX7	193	11.004 6	21 485.4	核	GRMZM2G069028_T03	Ch2	143167031	143167933
ZmWOX8	262	8.161 1	27 836.1	核	GRMZM2G069028_T01	Ch2	143166819	143168172
ZmWOX9	221	8.345 3	24 764.4	核	GRMZM2G116063_T01	Ch3	178369720	178371133
ZmWOX10	324	9.396 2	34 810.7	核	GRMZM2G108933_T01	Ch3	181120106	181123399
ZmWOX11	295	7.417 5	32 686.5	核	GRMZM2G069274_T01	Ch3	185489797	185493523
ZmWOX12	273	6.510 9	30 387.8	核	GRMZM2G069274_T02	Ch3	185489821	185493650
ZmWOX13	515	7.499 5	52 826.7	核	GRMZM2G031882_T01	Ch3	210664178	210668618
ZmWOX14	516	7.499 5	52 897.7	核	GRMZM2G031882_T02	Ch3	210664183	210668611
ZmWOX15	378	8.740 8	42 142.2	核	GRMZM2G419252_T01	Ch4	89175622	89178462
ZmWOX16	231	7.616 2	24 470.7	核	GRMZM2G122537_T01	Ch5	30106417	30107766
ZmWOX17	258	7.580 6	27 466.0	核	GRMZM2G122537_T02	Ch5	30106507	30108536
ZmWOX18	506	7.611 6	53 383.0	核	GRMZM2G409881_T01	Ch5	164845767	164849983
ZmWOX19	439	10.688 2	46 667.2	叶绿体、核	GRMZM2G010929_T02	Ch8	14086644	14092137
ZmWOX20	220	7.161 1	23 792.9	核	GRMZM2G140083_T01	Ch8	131860635	131861792
ZmWOX21	514	7.691 9	53 241.8	核	GRMZM2G133972_T02	Ch8	148836644	148840364
ZmWOX22	525	7.890 0	54 407.2	核	GRMZM2G133972_T01	Ch8	148836644	148840404
ZmWOX23	235	10.242 2	26 471.7	核	GRMZM2G478396_T01	Ch8	166836265	166837239
ZmWOX24	192	10.100 6	17 479.7	核	GRMZM2G339751_T01	Ch8	168495729	168496248
ZmWOX25	282	6.956 5	30 976.6	核	GRMZM5G805026_T01	Ch8	170258101	170261292
ZmWOX26	419	8.769 2	44 271.5	核	GRMZM2G162481_T02	Ch9	133354525	133357186
ZmWOX27	399	8.807 9	41 806.8	核	GRMZM2G162481_T01	Ch9	133354525	133358466
ZmWOX28	842	6.299 9	92 379.5	核	GRMZM2G109987_T05	Ch9	154912659	154919912
ZmWOX29	709	6.570 7	77 557.3	核	GRMZM2G109987_T01	Ch9	154913306	154920527
ZmWOX30	294	8.185 8	31 374.1	核	GRMZM2G170958_T01	Ch10	70352497	70354031
ZmWOX31	325	5.660 2	33 171.5	核	GRMZM2G028622_T01	Ch10	146494874	146496217

2.2 玉米WOX家族基因的保守域的分析

玉米和拟南芥共46个蛋白序列都具有Homeobox结构域，记录开始结束位置，在原基因中截出对应的domain区段，整理成Fas文件。利用ClustalX将得到的domain序列分别进行比对，通过多序列比较得出结果，用GENEDOC进行灰度调整，截取保守区域(图1)。已研究报道了11个同源异型结构域中保守的位点，包括helix1中的Q、L、Y以及helix3中I、V、W、F、N、K和R等。图1表明，玉米WOX家族基因在这些位点都是保守的，推测这些位点的氨基酸残基在玉米WOX家族基因的表达中起重要作用。同时在玉米的保守域中也发现了其他保守的残基，包括helix2中包含P、I、L和helix3中的F、Q，turn中的G等。

2.3 玉米WOX家族基因的进化分析

为了进一步研究玉米WOX家族基因的进化关系，以将拟南芥WOX家族基因(*AtWOX*)和玉米WOX家族基因共同构建进化树(图2)。拟南芥WOX家族

成员划分为3个进化支,其中,*WUS*支包含*WUS*和*WOX1*~*WOX7*共8个成员,中间支包括*WOX8*、*WOX9*、*WOX11*和*WOX12*共4个成员,远古支包括*WOX10*、*WOX13*、*WOX14*共3个成员[8]。根据拟南芥的进化支分析可确定玉米的进化支,玉米WOX家族基因中有9个为远古支,10个为中间支,12个为WUS支。

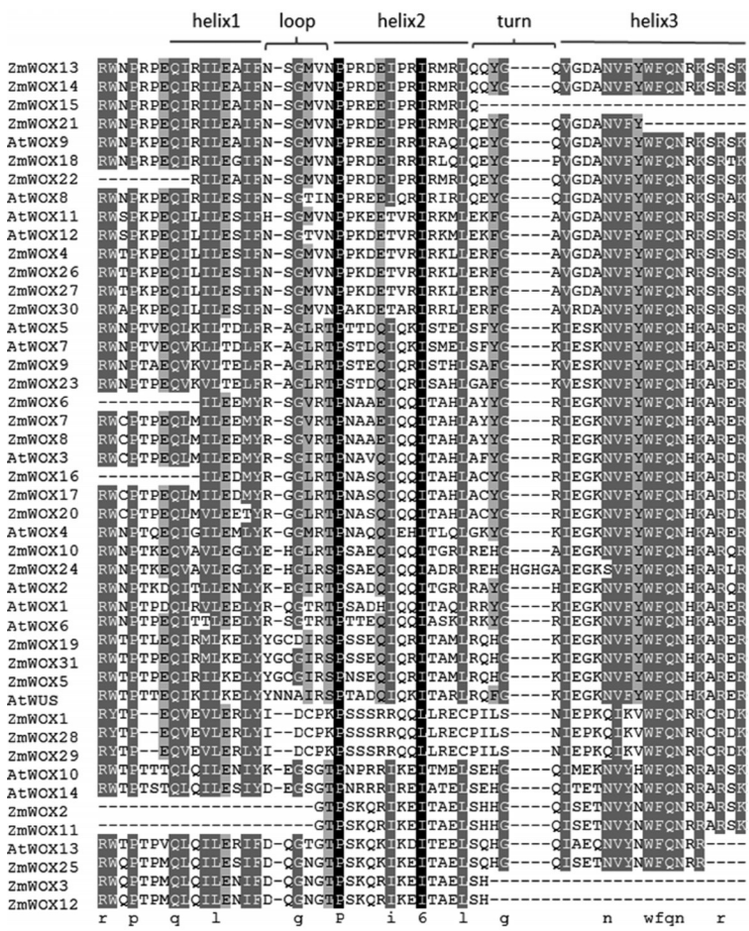

图1　ZmWOX Homeobox结构域的多重序列比对

Fig. 1　Conserved Homeobox domain analysis of WOX family proteins in *Zea mays*

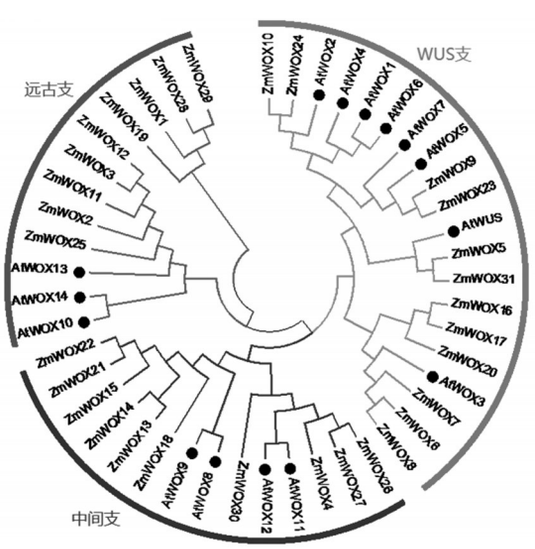

图2　玉米和拟南芥WOX家族进化树

Fig.2　Phylogenetic tree of WOX family in *Zea mays* and *A. thaliana*

2.4 玉米WOX家族基因内含子和motif的分析

将在Phytozome数据库中下载的cDNA 和相对应基因组 DNA 序列进行比对，结果表明，玉米WOX家族基因中只有2个ZmWOX家族基因不含内含子，分别为*ZmWOX24*和*ZmWOX25*，剩余的29个基因中含有1～17个不等的内含子。将结果进行统计，得出ZmWOX中有内含子的基因占总数比为93.54%，含内含子最多的基因是*ZmWOX28*和*ZmWOX1*，为17个内含子；*ZmWOX29*内含子个数为15个；含1个和2和内含子的基因数较多，其中，含1个内含子的基因有8个，占比25.81%；含2个内含子的基因有11个，占比35.48%；*ZmWOX2*、*ZmWOX11*和*ZmWOX18*含有3个内含子；*ZmWOX15*含有5个内含子；*ZmWOX19*含有8个内含子。

用MEGA6构建玉米WOX系统进化树，同时对ZmWOX家族的基因结构(内含子和motif)进行分析(图3)，结果表明，*ZmWOX11*含有的内含子数最多，为17个，各进化支内含子由一定的差异，其中，*WUS*支中基因内含子数为0～2个；中间支中大部分基因含有的内含子数为1～2个；个别含有3、5个内含子；远古支含有的内含子数最多，为2～17个。所有玉米WOX 基因家族都含有Motif 1，Motif3 在绝大多数成员中也是保守的。同一进化支内部的 WOX 转录因子家族成员的保守基序的种类、数目和组织形式具有很强的一致性，同样从侧面反映了系统发育分析的可靠性。而不同的进化支间有较大的差别，表明玉米WOX家族进化具有多样性但在统一进化方向中保守。

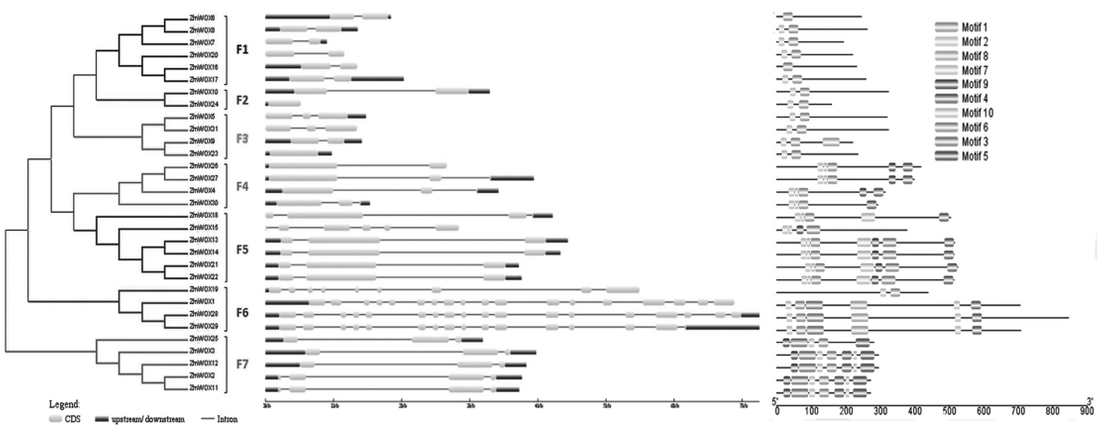

图3 玉米WOX转录因子家族系统进化树及基因结构

Fig.3 Phylogenetic analysis, gene structure and conserved motifs of WOX family in *Zea mays*

2.5 玉米WOX家族基因的染色体定位分析

依据表1中基因在染色体上的定位信息，用制作染色体定位图的map模板整理成map文件，再用MapInspect软件进行制图(图4)。图4所示，有4个基因分布在1号染色体，4个基因分布在2号染色体，6个基因分布在3号染色体，1个基因分布在4号染色体，3个基因分布在5号染色体，7个基因分布在8号染色体，4个基因分布在9号染色体，2个基因分布在10号染色体。各染色体基因分布比较均匀。

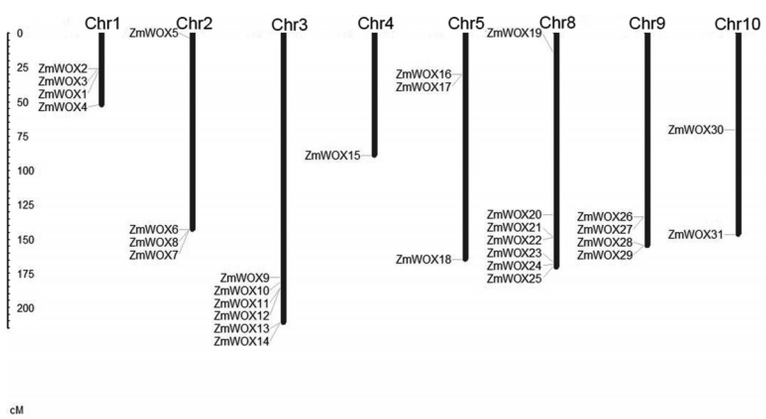

图4 玉米*WOX*基因在染色体上的定位

Fig.4 Distribution of *ZmWOX* genes on Chromosome

2.6　玉米WOX家族基因表达模式和功能分析

将玉米WOX家族基因在各种组织中的表达量进行聚类分析(图5),结果表明,31个玉米WOX转录因子家族中有6个*WOX*基因参与相关的基因调控,分别是*ZmWOX2*、*ZmWOX11*、*ZmWOX21*、*ZmWOX24*、*ZmWOX28*和*ZmWOX29*。其中,*ZmWOX2*基因在胚胎、胚乳、胚珠、成熟丝、种子、受精前果穗、发育叶、成熟叶、幼苗根、芽中表达量较高,在花药、花粉、维管束鞘细胞中表达量低;*ZmWOX11*基因在花粉发育中表达量最低,其他各组织中表达量都比较高;*ZmWOX21*基因在花药、胚胎、胚乳、胚珠、成熟丝、种子、受精前果穗、发育叶、成熟叶、幼苗根、芽中表达量都较高,在花粉、维管束鞘细胞中表达量较低;*ZmWOX24*基因和*ZmWOX26*基因在各组织中表达量都非常低,甚至不表达;*ZmWOX29*基因在维管束鞘细胞中表达量较低,其他组织中表达量都很高。*ZmWOX11*是唯一在叶肉细胞和维管束鞘细胞中大量表达的基因,可能参与了玉米纤维发育的过程。*ZmWOX29*是唯一在花粉中大量表达的基因,推测其参与了玉米花粉的产生。*ZmWOX2*、*ZmWOX11*、*ZmWOX21*、*ZmWOX29*在种子发育过程中表达量较高。

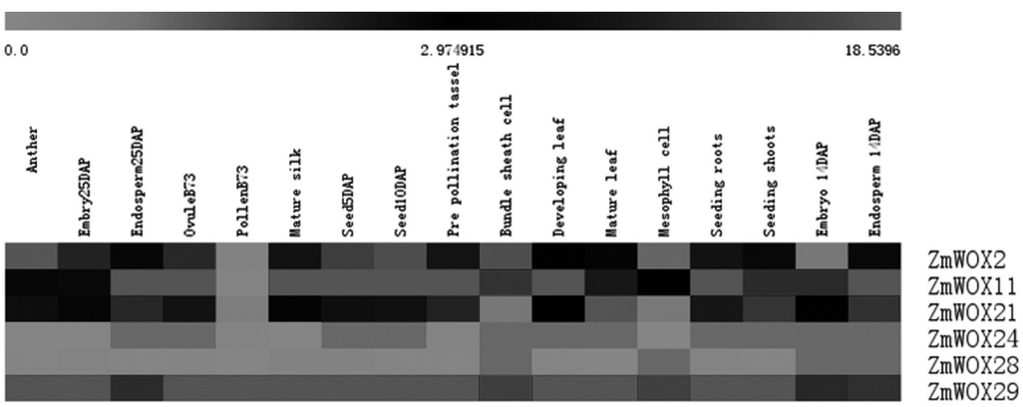

图5　*ZmWOX*基因在玉米各组织的表达模式热图

Fig.5　Heatmap representation for expression patterns of *ZmWOX* genes in tissues

3　结论与讨论

本研究鉴定分析了31个玉米WOX家族基因。保守结构域分析的结果表明,31个WOX家族基因都具有完整的的HOX基序,玉米WOX家族基因与拟南芥WOX家族基因高度保守,组成helix1-loop-helix2-turn-helix3结构。进化树分析结果表明,玉米和拟南芥WOX家族基因可分为3个进化支。通过对玉米WOX家族基因的内含子的分析,发现每个进化支内部的内含子数都比较稳定。motif分析结果显示,各个亚进化支内部的motif相似度极高,而不同的进化支间有较大的差别,证明了玉米WOX家族基因的进化方向具有多样性,并且在同一个进化支即同一进化方向具有保守性。染色体定位得出这31个玉米WOX家族基因都有明确的位置信息,说明基因的鉴定结果具有一定的准确性。

对ZmWOX家族基因的表达模式和功能进行了初步的分析,发现有6个WOX家族基因参与了相关的基因调控。玉米WOX家族基因的表达具有一定的组织特异性,其中,*ZmWOX11*只在叶肉细胞和维管束鞘细胞中大量表达,*ZmWOX29*在花粉中大量表达。WOX家族基因控制植物整体的形态建成方面的作用。植物的生长发育必然要受到外部环境的影响,植物在受到逆境胁迫时,必须调整或改变自己的形态,以更好地适应环境,因此推测,*ZmWOX11*可能参与了响应胁迫的过程,探索其作用的分子机制,可为培育抗逆性强的作物新品种提供重要参考。本研究通过分析31个玉米WOX家族基因,为以后玉米植株的改造,提高其经济价值和研究WOX家族基因的生物学功能提供了理论依据。*ZmWOX2*、*ZmWOX11*、*ZmWOX21*、*ZmWOX29*在种子中表达量都较高,未来可对这4个基因进行深入的研究。

参考文献:

[1] Vander Graaff E, Laux T, Rensing S A. The WUS homeobox-containing(WOX) protein family[J]. Genome Biol, 2009, 10(12): 248.

[2] Laux T, Mayer K F, Berger J, et al. The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in Arabido psis[J]. Development, 1996, 122(1): 87-96.

[3] Haecker A, Gross-Hardt R, Geides B, et al. Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in Arabidopsis thaliana[J]. Development, 2004, 131(3): 657-668.

[4] Deyhle F, Sarkar A, Tucker E J, et al. WUSCHRL regulates cell dif-

ferentiation during anther development[J]. Developmental Biology, 2007, 302(1): 154-159.

[5] Vandenbussche M, Horstman A, Zethof J, et al. Differential recruitment of WOX transeription factors for lateral derelopment and organ fusion in Petion and Arabidopsis[J]. The Plant Cell, 2009, 21(8): 2269-2283.

[6] Deveaux Y, Toffanonioche C, Claisse G, et al. Genes of the most conserved WOX clade in plants affect root and flower development in Arabidopsis[J]. BMC Evolutionary Biology, 2008, 8: 291.

[7] Liu J, Sheng L, Xu Y, et al. WOX11 and WOX12 are involved in the first-step cell fate transition during de novo root organcgenesis in Arabidopsis[J]. The Plant Cell, 2014, 26(3): 1081-1093.

[8] 王俞程,何瑞平,彭献军,等 . WOX转录因子家族的研究进展[J] . 草业科学,2015,32(5):760-769 .
Wang Y C, He R P, Peng X J, et al. The research progress of WOX transcription factor family[J]. Pratacultural Science, 2015, 32(5): 760-769. (in Chinese)

[9] 李晓旭,刘 成,李 伟,等 . 番茄WOX转录因子家族的鉴定及其进化、表达分析[J] . 遗传,2016,38(5):444-460 .
Li X X, Liu C, Li W. Genome-wide identification,phylogenetic analysis and expression profiling of the WOX family genes in *Solanum lycopersicum*[J]. Hereditas, 2016, 38(5): 444-460. (in Chinese)

[10] 于燕杰,张大兵,袁 政 . WOX蛋白家族调控干细胞发育分子机制的研究进展[J] . 植物学报,2016,51(4):565-574 .
Yu Y J, Zhang D B, Yuan Z. The updated functiona lstudy of WOX protein family in regulating stem cell development[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2016, 51(4): 565-574. (in Chinese)

[11] Sabatini S, Heidstra R, Wildwater M, et al. SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem[J]. Gene Dev, 2003, 17(3): 354-358.

[12] Chen Q, Sun J Q, Zhai Q Z, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor MYC2 directly represser PLETHORA expression during jasmonate-mediated modulation of the root ste cell niche in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2011, 23(9): 3335-3352.

(责任编辑:朴红梅)

(上接第15页)

[30] 邹 佳,蔺万煌,罗红兵,等 . 玉米C型胞质雄性不育系POD、CAT、SOD活性及POD酶谱分析[J] . 玉米科学,2009,17(6):45-49 .
Zhou J, Lin W H, Lou H B, et al. Comparison the activities of peroxidase, catalase, superoxide dismutase and peroxidase zymogram in C-cytoplasmic male sterility line on maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2009, 17(6): 45-49. (in Chinese)

[31] 周国昌,石海春,余学杰,等 . 玉米雄性不育K932MS不育株和可育株生理生化特性的比较研究[J] . 玉米科学,2018,26(3):6-11 .
Zhou G C, Shi H C, Yu X J, et al. Comparison of physiological-biochemical characteristic between sterile and fertile plants of male sterile K932MS in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2018, 26 (3): 6-11. (in Chinese)

[32] 刘忠松 . 不育花药的生理生化研究进展与展望[J] . 植物生理学通讯,1987(2):16-21 .
Liu Z S.The Advance and prospect of the study on physiology and biochemistry of male sterile anther in angiosperm[J].Plant Physiology Conmunication,1987(2):16-21. (in Chinese)

[33] 焦东宝,赵永锋,郭晋杰,等 . 玉米S型细胞质雄性不育系可溶性糖、游离脯氨酸及丙二醛含量分析[J] . 玉米科学,2015(3):66-70,75 .
Jiao D B, Zhao Y F, Guo J J, et al. Analysis of soluble sugar, free proline and MDA content of s-cytoplasmic male sterile line in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2015(3): 66-70, 75. (in Chinese)

[34] 邹 佳,蔺万煌,罗红兵,等 . 玉米C型胞质雄性不育与可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸含量的关系[J] . 湖南农业大学学报(自然科学版),2009(3):249-251 .
Zhou J, Lin W H, Lou H B, et al. Relationship between contents of soluble sugar, soluble protein and free proline and C-cytoplasmic male sterility in maize[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2009(3): 249-251. (in Chinese)

[35] 曲 敏,秦丽楠,刘羽佳,等 . 两种检测SOD酶活性方法的比较[J] . 食品安全质量检测学报,2014,1(10):3318-3323 .
Qu M, Qin L N, Liu Y J, et al. The comparison of two methods of testing superoxide dismutase activity[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 1(10): 3318-3323. (in Chinese)

[36] 高俊凤 . 植物生理学实验技术[M] . 西安世界图书出版公司,2000 .

[37] 向 荣,王鼎年 . 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进[J] . 生物化学与生物物理进展,1990,17(3):241-242 .
Xiang R, Wang D N. Improvement of spectrophotometry of lipid peroxide thiobarbituric acid[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 1990, 17(3): 241-242. (in Chinese)

[38] 汤继华,赫忠友,谭树义,等 . 玉米温敏核雄性不育系的育性转换机制研究[J] . 河南农业大学学报,2000,34(1):4-6 .
Tang J H, Hao Z Y, Tan S Y, et al. Study on the fertility conversion mechanism of the temperature-sensitivegenic male-sterile line in maize[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2000, 34(1): 4-6. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)