



木本植物性别决定基因研究进展

陆静^{1,2}, 陈赢男^{1,2*}, 尹佟明^{1,2}

¹南京林业大学林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 南京 210037

²南京林业大学林学院, 南方现代林业协同创新中心, 南京 210037

摘要 雌雄异株植物是研究性别决定遗传机制及性染色体起源与进化的理想材料, 而克隆性别决定基因是解析性别决定遗传机制的关键。木本植物中有丰富的雌雄异株植物, 且包括2种相反的性别决定系统: XY型(雌株为同配型的XX, 雄株为异配型的XY)和ZW型(雌株为异配型的ZW, 雄株为同配型的ZZ)。此外, 不同性别植株的经济价值也有所不同。在木本植物中开展性别决定机制研究不仅具有重要的理论意义, 还具有较高的生产应用价值。随着大规模基因测序技术的快速发展, 越来越多的木本植物性别决定基因被鉴定和克隆, 为解析雌雄异株植物性别决定机制和性染色体的演化过程提供了有力的实验证据。该文详细总结了近年来木本植物性别决定基因研究的重要进展, 并展望了未来的研究方向及发展趋势。

关键词 雌雄异株, 木本植物, 性别决定系统, 性别决定基因, 基因克隆

陆静, 陈赢男, 尹佟明 (2021). 木本植物性别决定基因研究进展. 植物学报 56, 90–103.

性别决定的遗传机制一直是生物学研究领域的热点问题。与动物相比, 植物性别类型更加复杂多样, 除了常见的雌雄同花(hermaphroditism)、雌雄异花同株(monoecy)、雌雄异株(dioecy), 还有雌花/两性花同株(gynomonoecy)、雄花/两性花同株(andromonoecy)、雌花/两性花异株(gynodioecy)和雄花/两性花异株(androdioecy)等(Dellaporta and Calderon-Urrea, 1993)。植物性别进化模型显示, 雌雄异株植物起源于雌雄同花植物, 两性花是较为原始的类型, 单性花由于可以促进异花授粉和遗传物质交换, 具有较强的进化优势(Le Roux and Kellogg, 1999)。Mitchell和Diggle (2005)通过调查来自482个属的678种雌雄异株植物的花器官发育过程, 发现大多数雌雄异株植物的单性花在发育初期都存在两性阶段, 即在花芽形成的初始时期兼具雌蕊和雄蕊原基, 随着花芽发育, 某一种性别的原基在特定阶段发生败育, 从而形成单性花(I型单性花)。在这一类单性花中能够观察到相反性别花器官的残留。例如, 柿子(*Diospyros* spp.)的雌花中存在败育的雄蕊, 而雄花中有退化的心皮(Akagi et al., 2013)。此外, 部分雌雄异株植物的单

性花并不经历两性阶段, 花分生组织只形成雌蕊或雄蕊原基, 典型代表如杨柳科植物, 其花器官没有相反性别花器官残留(II型单性花)。雌雄异株植物为研究性别决定机制以及性染色体起源与进化提供了理想材料。

被子植物中大约有5%–6%的雌雄异株植物, 木本植物中这一比例更高, 在Coder (2008)调查的442种树木中, 雌雄异株植物占15%。与草本植物相比, 木本植物一般都有长达数年的幼年期, 在开花前难以通过枝干和叶形等营养器官的特征鉴定性别, 不同性别植株往往具有不同的经济价值, 因此开展木本植物性别决定机制研究不仅具有重要的理论意义, 也为树木性别的早期鉴别、新品种选育和栽培等生产实践提供技术支撑。性别决定基因的克隆是理解雌雄异株植物性别决定机制的关键, 随着分子生物学技术的快速发展, 特别是大规模测序技术及相关生物信息学分析方法的迭代升级, 以猕猴桃(*Actinidia* spp.)和柿子等经济树种为代表, 越来越多的性别决定基因在木本植物中被鉴定和克隆。本文详细梳理了近年来报道的木本植物中性别决定基因, 并根据Mitchell和Diggle (2005)的调查结果, 将所涉及的木本植物进行归类总

收稿日期: 2020-07-09; 接受日期: 2020-10-14

基金项目: 国家自然科学基金(No.32071795)

* 通讯作者。E-mail: chenyingnan@njfu.edu.cn

结, 以期为深入理解植物性别决定的分子机制以及雌雄同株向雌雄异株植物进化的遗传机制提供参考。

1 隐性雌雄异株木本植物

根据单性花形成过程, Mayer和Charlesworth (1991)将具有I型单性花(即经历雌蕊或雄蕊败育形成单性花)的雌雄异株植物称为隐性雌雄异株(cryptic dioecy)。

1.1 柿子

柿属(*Diospyros*)植物不仅染色体倍性复杂, 性别类型也较为丰富, 存在雌株、雄株和雌雄异花同株等多种类型(Yonemori et al., 1993)。近年来, 柿雌雄花性别分化的调控机理研究取得了重要进展。柿属二倍体植物君迁子(*D. lotus*)为雌雄异株, 成熟雄花3朵合生、呈聚伞状花序, 雌花1朵单生, 其性别决定系统为XY型(Akagi et al., 2013)。在没有参考基因组序列的情况下, 研究人员对君迁子种内杂交F₁代个体(32雌株和25雄株)分别进行基因组从头测序, 根据雌、雄性别将测序数据合并建成2个序列库, 通过对这2个序列库进行K-mer比较分析, 筛选出雄株特异的K-mer片段, 进行局部组装, 最终得到Y染色体上约1 Mb的雄株特异区间。结合雌雄花芽转录组差异表达分析, 结果表明该区间含有22个性别决定候选基因, 其中仅有1个基因(*OGI*)只在雄花中表达。此外, 通过差异表达分析还检测到1个位于常染色体上、仅在雌花中表达的基因(*MeGI*)。序列分析显示, *OGI*基因能够转录形成发卡结构, 产生小RNA分子; *MeGI*基因编码HD-Zip蛋白(同源异型-亮氨酸拉链蛋白), 属于高等植物特有的转录因子, 且*OGI*产生的小RNA能够介导*MeGI*基因沉默, 这也是雄花中未检测到*MeGI*基因表达的原因。过表达*MeGI*基因的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)出现雄蕊缺损、变短和花粉萌发率降低等表型, 表明*MeGI*基因能够抑制雄蕊发育。由此证明, 位于Y染色体特异片段上的*OGI*基因决定君迁子的性别, 该基因通过产生小RNA抑制*MeGI*基因在雄株中表达, 从而促进雄蕊发育; 而雌株由于没有*OGI*基因, *MeGI*基因能够正常表达, 导致雌花中的雄蕊退化(Akagi et al., 2014)。随着君迁子雄株全基因组序列图谱的完成, *OGI*和*MeGI*基

因的起源以及柿属植物性别决定系统的进化机制得到进一步明晰。*Ks*分析表明, 君迁子基因组在进化过程中经历了1次柿属植物特有的全基因组重复事件(*Dd-α WGD*), *MeGI* (Chr. 13)由其旁系同源基因*SiMeGI* (Chr. 4)经过全基因组重复或片段重复而来, *MeGI*和*SiMeGI*分化后演化出新的功能, 能够抑制雄蕊发育, 而*SiMeGI*仍保留祖先基因的功能, 调控花器官发育但不影响性别分化(Akagi et al., 2020)。基于以上发现, Akagi等(2020)提出柿属植物从雌雄同株向雌雄异株的演化模型: 在柿子祖先基因组中仅有*SiMeGI*基因, 其经历*Dd-α WGD*产生*MeGI*, *MeGI*在演化过程中获得新的功能, 导致雌株出现; *MeGI*经过片段重复产生*OGI*, *OGI*反过来抑制*MeGI*的表达, 导致雄株产生。因此, 位于Y染色体特异片段上的*OGI*通过调控*MeGI*基因表达与否决定君迁子雌雄性别。*MeGI*是1个重要的整合器, 它通过整合影响下游靶基因的表达进而影响雄蕊或雌蕊的发育。综合利用雌雄花芽转录组差异表达和共表达网络, Yang等(2019)预测了*MeGI*基因下游调控网络。该基因通过*KNOX/OFP/GRF*激活细胞分裂素/生长素/赤霉素途径相关基因促进雌蕊发育; 同时通过*SVP/SOC*抑制PI的表达来抑制雄蕊发育。

*MeGI*基因对性别分化的调控作用在不同柿属植物中的保守性较高。六倍体栽培柿(*D. kaki*)一般仅开雌花, 性染色体组成为XXXXXX; 或者雌雄异花同株, 性染色体组成为XXXXXY/XXXXYY (简称Dka-□)。仅开雌花的栽培柿中不具有*OGI*基因, 能够检测到*MeGI*基因, 其性别决定机制与君迁子雌株相同。雌雄异花同株的栽培柿同时含有*OGI*(Y染色体特异)和*MeGI*基因, 但*OGI*基因在雌花和雄花中均不表达; 而*MeGI*仅在雌花中表达, 在雄花中不表达。研究发现, 在Dka-□的*OGI*启动子区域有1个268 bp的类SINE (short interspersed nuclear element-like)反转录转座子插入, 且SINE-like元件在雌、雄花和营养器官均呈现高度甲基化, 这些因素导致*OGI*沉默; *MeGI*基因启动子和编码序列在Dka-□的雄花中高度甲基化, 而在Dka-□的雌花中甲基化水平较低, 这是导致*MeGI*仅在雌花中表达的原因。与君迁子相比, *D. kaki*通过更灵活的甲基化修饰影响花的性别, 且这种表观调控方式可以发生反转(Akagi et al., 2016)。在果树生产中对雌株需求明显大于雄株, 性别决定基因的克

隆为柿树的早期性别鉴定提供了有利的分子工具。例如, Zhang等(2016)利用 *OGL* 基因开发了雄株特异的分子标记, 该标记不仅能准确鉴别 *D. kaki* 杂交子代性别, 在另外9种柿属植物中也具有很好的通用性。

1.2 猕猴桃

猕猴桃 (*Actinidia* spp.) 和柿子同属杜鹃花目 (Ericales), 多为雌雄异株, 具有XY型性别决定系统 (Harvey et al., 1997)。利用与克隆君迁子性别决定基因相似的研究策略, 同一研究团队先后克隆了猕猴桃性别决定基因 *SyGI* 和 *FrBy* (Akagi et al., 2018, 2019)。这2个基因均位于Y染色体特异片段上大约500 kb区间内, 且都在雄株中特异表达, 2个基因完全连锁且相互独立地决定猕猴桃性别。其中, *SyGI* 基因编码C型细胞分裂素反应调节因子, 在雄花退化的心皮表层高表达。异源表达该基因的拟南芥和烟草雌蕊发育受到抑制, 但花药和花粉萌发率基本不受影响, 表明 *SyGI* 基因具有抑雌功能 (Akagi et al., 2018)。而 *FrBy* 基因编码一种糖蛋白, 仅在花药发育前期表达, 特别是在绒毡层中表达量较高, 利用CRISPR技术敲除拟南芥和烟草中 *FrBy* 的同源基因, 突变体出现花粉萌发率降低、绒毡层降解延迟等表型, 但雌蕊发育不受影响。值得注意的是, 在猕猴桃雌株中表达 *FrBy* 基因, 出现雌雄同花, 并且能够自花授粉形成果实和可育种子, 表明 *FrBy* 基因具有促雄功能 (Akagi et al., 2019)。

1.3 葡萄

葡萄 (*Vitis vinifera*) 的花型有3种: 雌花、雄花和两性花。雌花可产生少量畸形花粉, 两性花可自交产生后代。3种花型在发育前期难以区分, 只有在花发育后期才能准确鉴别 (Ramos et al., 2014)。野生葡萄 (*V. vinifera* subsp. *sylvestris*) 为雌雄异株, 性别决定系统为XY型, 而栽培葡萄 (*V. vinifera* subsp. *vinifera*) 绝大多数为两性花 (Fechter et al., 2012)。葡萄在驯化过程中由雌雄异株向雌雄同株转变体现了人工选择压力对植物性别分化的影响。根据Antcliff (1980) 提出的模型, 葡萄的性别由3个等位基因控制, 包括雄株基因 *M*、雌株基因 *F* 和雌雄同株基因 *H*, 且等位基因之间的显性效应为 $M > H > F$ 。雌株基因型为 *FF*, 雄株基因型为 *MF* 或 *MH*, 雌雄同株基因型为 *HF* 或 *HH*。等位基因多样性和单倍型网络分析表明, *H* 和 *M* 的关系更

密切, 栽培葡萄雌雄同株基因 *H* 可能来源于野生葡萄的雄性等位基因 *M* (Picq et al., 2014)。Fechter等 (2012) 将葡萄性别基因精细定位在2号染色体上143 kb的区间内, 综合不同葡萄参考基因组版本注释结果, 该区间包含13个基因和1个反转录转座子, 其中 *APT* 基因 (*AtAPT3* 的同源基因) 参与细胞分裂代谢, *APT* 缺陷的拟南芥和小麦 (*Triticum aestivum*) 均表现花粉发育不良, 利用该基因序列开发了能够鉴别葡萄雌株的分子标记 (不能区分雄株和雌雄同株葡萄), 并推测 *APT* 很可能是葡萄的性别决定基因。Coito等 (2017) 将 *APT* 基因更名为 *VviAPRT3*, 并利用该基因第2个内含子序列开发了雄株特异的分子标记 (不能区分雌株和雌雄同株葡萄)。qRT-PCR分析显示, *VviAPRT3* 在葡萄3种不同花型的发育早期表达, 但在花发育后期只在雄花中表达量较高, 在雌花和两性花中表达量降低。原位杂交显示, *VviAPRT3* 在雄花发育早期的分生组织中心表达, 随后在花药和退化的心皮中表达, 推测该基因可能在雄花中起抑制雌蕊发育的作用。此外, 通过对Fechter等 (2012) 定位的性别决定区进一步解析, Coito等 (2017) 发现1个与性别连锁的新基因 *VviFSEX*, 利用该基因序列他们开发了雌株特异的分子标记, 但qRT-PCR结果显示该基因在3种花型发育的整个时期都持续表达, 在花瓣、花药和心皮原基均表达。 *VviFSEX* 基因在葡萄性别决定中的作用还需进一步验证。Zhou等 (2017) 利用多种野生型和栽培葡萄的基因组数据, 通过群体遗传学方法, 深入分析了葡萄的人工驯化历史, 检测到栽培葡萄在驯化过程中由雌雄异株向雌雄同株转变的关键基因组区段, 推测该区段内10个性别特异表达的基因为性别决定候选基因, 其中包括 *VviFSEX*。

在已定位的葡萄性别决定区间 (sex determination region, SDR) 基础上, Massonnet等 (2020) 利用单分子实时 (single-molecule real-time, SMRT) 测序技术和FALCON-Unzip组装工具, 重建了11种不同性别葡萄的SDR单倍型序列, 并通过比较不同单倍型SDR的结构变异, 分析群体中与性别关联的多态性位点, 同时结合3种花型花芽的转录组数据, 提出 *INP1* 是葡萄性别决定的候选基因。该基因在雌株中显著高表达, 但雄株和雌雄同株葡萄中具备有功能的 *INP1* 完整序列, 雌株 *INP1* 基因存在8 bp缺失, 导致移码突变和编码提前终止, 推测该基因功能缺失是导

致雌花花粉畸形的原因。*INP1*同源基因在拟南芥花粉萌发孔的形成中发挥重要作用(Dobritsa and Cooper, 2012)。此外, Massonnet等(2020)还提出葡萄从雌雄同花祖先进化为雌雄异株植物, 以及由雄株性别决定位点间的稀有重组事件导致雌雄同花葡萄再次产生的进化模型。目前, 关于葡萄性别决定基因的研究提出多个候选基因, 但大部分处于生物信息学预测阶段, 尚缺乏对基因功能进行验证的实验证据。

1.4 番木瓜

番木瓜科(Caricaceae)大多是雌雄异株植物。番木瓜(*Carica papaya*)是其中仅有的2种单全异株(trioecious)植物之一, 其种群内既有雌株和雄株, 还具有两性株(雌雄同花), 雄花中可见心皮遗迹, 而雌花中没有雄蕊痕迹, 在不良环境条件下, 雄株和两性株可以发生性别转换(Aryal and Ming, 2014)。番木瓜由于生长周期短、性别多样且有良好的遗传学和基因组学研究基础, 被作为植物性别决定研究的模式植物(Ming et al., 2007), 特别是对其性染色体分化的系列研究(Liu et al., 2004; Yu et al., 2008a, 2008b; Ming et al., 2011; Wang et al., 2012; VanBuren et al., 2015), 为人们认识和理解植物性染色体起源与进化提供了非常重要的证据。

番木瓜性别决定机制曾存在多种假说(Ming et al., 2007), 目前被普遍接受的是Horovitz和Jiménez(1967)根据属间杂交结果提出的XX-XY模型, 认为番木瓜雌株、雄株和两性株的基因型分别是XX、XY和XY₂, Y₂染色体由Y突变而来, Y和Y₂染色体上均含有致死因子, 因此不存在YY、YY₂和Y₂Y₂基因型的后代。由于雄株与两性株的Y染色体相似性很高(Liu et al., 2004), Ming等(2007)用Y^h替代Y₂, 用XY^h表示两性株基因型。染色体序列比对和共线性分析显示, Y和Y^h相似性高达99.60%。进一步分析发现Y^h起源于Y染色体, 在约4 000年前完成分化, 在番木瓜长期的人工驯化过程中Y^h被保留和固定下来(VanBuren et al., 2015)。精细定位和FISH结果显示, 番木瓜性别决定基因位于LG1着丝粒附近约8 Mb的区间内, 该区间重组抑制严重, 且富含重复序列和转座子, 基因克隆难度较高(Yu et al., 2007; Wang et al., 2012)。近年来, 基于转录组测序多个研究团队相继报道了番木瓜性别决定候选基因。Urasaki等(2012)通过转录组差

异表达分析, 发现与序列标签Cp2671对应的基因编码1个MADS-box转录因子, 与拟南芥调控花期的转录因子SVP存在85%的序列相似性。*SVP-like*基因是Y和Y^h染色体特异基因, 仅在雄花和两性株中表达, 由此提出*SVP-like*基因是番木瓜性别决定候选基因。通过比较MSY (male-specific region of Y)和HSY (hermaphrodite-specific region of Y^h)的序列, 发现Y染色体上的*SVP-like*基因编码1个完整蛋白, 但Y^h上*SVP-like*基因内有转座子插入, 编码不完整蛋白(Ueno et al., 2015)。基于基因表达差异和选择性剪切(alternative splicing, AS)分析, Lee等(2018)同样认为CpSVPL (*SVP-like*)是番木瓜性别决定基因, 他们还提出另外2个性别相关基因CpSERK和CpCAF1AL。其中, CpSERK基因在不同性别花中表达量差异不显著, 但存在AS; CpCAF1AL在雄花和正常发育的两性花中表达量较高, 不存在AS, 在发育不正常的两性花中表达量较低且存在AS。Zerpa-Catanho等(2019)通过比较3种不同性别和不同发育时期番木瓜花RNA-seq数据, 发现CpMS1仅在花器官中表达, 且在雄花和两性花发育前期表达量较高, 该基因在拟南芥、大麦(*Hordeum vulgare*)和水稻(*Oryza sativa*)等植物中的同源基因功能相似, 能够调控花粉发育, 但由于CpMS1基因位于2号染色体, 且3种性别的番木瓜均含有该基因, 因此该基因不具有性别决定功能。最近, Zhou等(2019)通过对不同季节雌、雄花全基因组甲基化水平和转录组差异表达基因进行分析, 发现雄花基因组甲基化水平低于雌花, 常染色体上CpSVP和CpAP1基因的去甲基化可能是导致雄花比雌花早开放的原因。此外, 他们还发现CpARR5基因在雄花中的表达量和甲基化水平均较雌花低, 在检测到的10个与激素信号转导相关的差异表达基因中, CpARR5基因是唯一存在甲基化修饰位点差异的基因, 推测甲基化介导的植物激素稳态的改变可能影响番木瓜性别。

1.5 椰枣

棕榈科刺葵属(*Phoenix*)植物均为雌雄异株, 进化分析显示, 该属植物性染色体分化时间早于物种形成事件(Cherif et al., 2016)。椰枣(*P. dactylifera*)是刺葵属中唯一可供食用的植物, 与油棕(*Elaeis guineensis*)和椰子(*Cocos nucifera*)并列为棕榈科三大具有商

业价值的经济作物,其性别决定系统为XY型(Siljak-Yakovlev et al., 1996; Cherif et al., 2013),性别决定基因位于LG12长臂13 Mb区间内(AI-Dous et al., 2011; Mathew et al., 2014)。Torres等(2018)收集了刺葵属13种植物的雌、雄株材料,通过基因组 *de novo*测序和雄株特异的K-mer分析,并利用雄株特异序列筛选椰枣BAC文库和分型基因组序列,最终筛选到3个BAC和1个分型序列骨架,总长度为913 kb。基因注释显示,这些序列仅含4个蛋白质编码基因,即CYP703、GPAT3、LOG-like和Cytidine deaminase-like。其中,CYP703和GPAT3是Y染色体特异基因,仅在雄花中表达,在水稻中CYP703和GPAT3的同源基因均在绒毡层细胞表达,参与合成和分泌花粉中的孢粉素前体。LOG-like是Y特异基因,在雄花中表达量较高,但在常染色体上也存在其同源基因,推测Y特异区间内的LOG-like基因可能由其常染色体拷贝易位而来,水稻LOG基因的突变体表现为胚珠缺失或无雌蕊。而Cytidine deaminase-like基因在X和Y染色体上均存在,但X和Y单倍型已出现序列分化,且该基因序列分化时间早于物种形成。以上候选基因的鉴别为研究椰枣性别决定机制提供了重要信息,但其对椰枣性别的决定性功能仍需进一步验证。

2 完全雌雄异株木本植物

参考Mitchell和Diggie (2005)的调查结果,本文将具有II型单性花(即不经历两性花阶段,性别分化在花芽发育初期就已完成)的雌雄异株植物称为完全雌雄异株(full dioecy)。

2.1 杨梅

杨梅科包括2个属:香蕨木属(*Comptonia*)为雌雄同株,杨梅属(*Myrica*)为雌雄异株(Chen et al., 2004; 贾慧敏, 2016)。杨梅(*Morella rubra*或*Myrica rubra*)是我国南方特有的重要经济树种,种质资源丰富,但由于缺乏其基因组信息,相关分子生物学研究起步较晚。Jia等(2019)分别对杨梅雌株和雄株开展全基因组测序,通过序列比对,结合遗传定位和关联分析将杨梅性别决定位点定位在雌株LG8远端59 kb的区间内(female specific region, FSR),揭示了杨梅性别决定系统为ZW型。基因注释显示,FSR含丰富的转座子序

列和7个蛋白质编码基因,其中MrASP2 (编码SUMO蛋白酶1)、MrFT2、MrCPS2 (编码GA合成关键酶)和MrSAUR2 (编码生长素反应蛋白SAUR家族成员)4个基因与植物激素或成花相关,这些基因在杨梅基因组其它位置也均存在同源基因。转录组分析显示,上述4个基因在雌花芽中特异表达,MrCPS2和MrASP2基因在成花起始阶段高表达,而MrSAUR2和MrFT2基因在雌花原基形成阶段表达量较高,推测MrCPS2和MrASP2基因对杨梅性别决定作用更为关键。Wang等(2020)利用MrFT2基因开发了与雌株完全连锁的分子标记,可准确鉴别203个栽培品种的雌雄性别。

2.2 杨柳科植物

杨柳科植物包括杨属(*Populus* spp.)和柳属(*Salix* spp.),均为雌雄异株,被广泛用于性染色体进化与性别决定机制研究。XY和ZW两种不同的性别决定系统在杨柳科植物中均存在,已有9种杨树和5种柳树的性别决定系统得到鉴定。我们构建了杨柳科植物的谱系树,并对其性别决定系统及性染色体信息进行了总结(图1)。

研究表明,有8种杨树和1种柳树的性别决定系统为XY型,其中,黑柳(*S. nigra*)性别决定位点位于7号染色体(Sanderson et al., 2020),胡杨(*P. euphratica*)的性别决定位点位于14号染色体(Yang et al., 2020),其余7种杨树的性别决定位点均位于19号染色体(Gaudet et al., 2008; Yin et al., 2008; Pakull et al., 2011; Gaudet et al., 2015)。根据性别决定区在19号染色体上的物理位置,7种杨树的又分为2类:一类其性别决定区位于19号染色体的近端粒区,包括美洲黑杨(*P. deltoides*)、毛果杨(*P. trichocarpa*)、香脂杨(*P. balsamifera*)和欧洲黑杨(*P. nigra*) (Gaudet et al., 2008; Yin et al., 2008; Müller et al., 2020; Xue et al., 2020);另一类其性别决定区位于19号染色体的着丝粒附近,包括美洲山杨(*P. tremuloides*)、欧洲山杨(*P. tremula*)和山杨(*P. davidiana*) (Pakull et al., 2009, 2011; Xue et al., 2020)。近年来,多个XY型杨柳属植物性别决定基因被报道。例如,在欧洲山杨和美洲山杨中,雄性特异的TOZ19被认为是性别决定候选基因,该基因对胚的早期发育至关重要(Pakull et al., 2015);香脂杨性别决定区的PbRR19基因存在

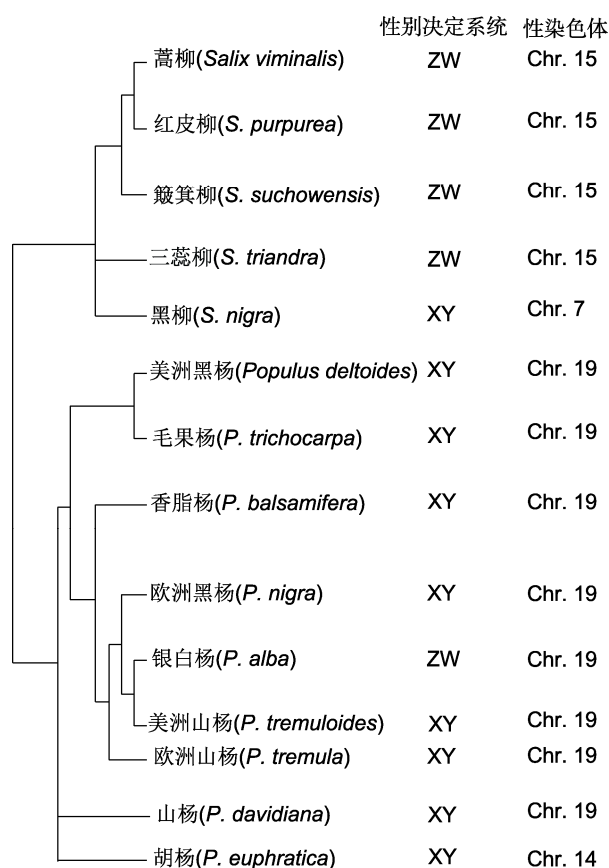


图1 已确定性别决定系统的杨柳科植物谱系树

文献来源: 蒿柳(Pucholt et al., 2015)、红皮柳(Carlson et al., 2017; Zhou et al., 2018, 2020)、簸箕柳(Chen et al., 2016)、三蕊柳(Li et al., 2020)、黑柳(Sanderson et al., 2020)、美洲黑杨(Geraldes et al., 2015; Xue et al., 2020)、毛果杨(Yin et al., 2008; Geraldes et al., 2015)、香脂杨(Geraldes et al., 2015)、欧洲黑杨(Gaudet et al., 2008; Geraldes et al., 2015)、银白杨(Paolucci et al., 2010; Sabatti et al., 2020)、美洲山杨(Pakull et al., 2009, 2011; Kersten et al., 2014)、欧洲山杨(Pakull et al., 2009, 2011; Kersten et al., 2014; Sabatti et al., 2020)、山杨(Xue et al., 2020)及胡杨(Yang et al., 2020)

Figure 1 The phylogenetic tree of Salicaceae species with known sex determination system

Sources of references: *Salix viminalis* (Pucholt et al., 2015), *S. purpurea* (Carlson et al., 2017; Zhou et al., 2018, 2020), *S. suchowensis* (Chen et al., 2016), *S. triandra* (Li et al., 2020), *S. nigra* (Sanderson et al., 2020), *Populus deltoides* (Geraldes et al., 2015; Xue et al., 2020), *P. trichocarpa* (Yin et al., 2008; Geraldes et al., 2015), *P. balsamifera* (Geraldes et al., 2015), *P. nigra* (Gaudet et al., 2008; Geraldes et al., 2015), *P. alba* (Paolucci et al., 2010; Sabatti et al., 2020), *P. tremuloides* (Pakull et al., 2009, 2011; Kersten et al., 2014), *P. tremula* (Pakull et al., 2009, 2011; Kersten et al., 2014; Sabatti et al., 2020), *P. davidiana* (Xue et al., 2020), and *P. euphratica* (Yang et al., 2020)

偏雄甲基化的现象(Bräutigam et al., 2017); Melnikova等(2019)以西伯利亚杨(*P. × sibirica*)为材料, 对定位在SDR区的*MET1*和*ARR17*基因开展深度测序, 发现这2个基因均存在雄株特异的SNP位点。最近, 来自不同国家和地区的研究团队分别在XY型杨属植物性别决定基因研究中取得重要突破。德国Matthias Fladung研究团队在毛果杨和欧洲山杨Y染色体特有的SDR区鉴定到多个*ARR17*基因的部分片段, 以反向重复的方式排列在一起, 而X和Y染色体上还分别存在*ARR17*完整基因, 利用CRISPR技术敲除*ARR17*基因的山杨雌株开雄花, 即发生性别转变, 由此提出*ARR17*基因是杨树的性别决定基因; 在毛果杨和欧洲山杨雄株中Y特有的*ARR17*反向重复片段通过产生小RNA介导*ARR17*基因甲基化或抑制其表达(Müller et al., 2020)。南京林业大学尹佟明团队在美洲黑杨雄株中鉴定并克隆到2个Y染色体特异的、与性别完全关联的基因*FERR-R*和*MSL* (Xue et al., 2020)。其中, *FERR-R*基因由位于19号染色体末端假常染色体区(pseudo-autosomal region, PAR)的*FERR*基因(*ARR17*的同源基因)片段重复而来, 在拟南芥中过量表达*FERR*基因产生柱头外露和雌蕊数目增加等表型, 说明*FERR*基因能够促进雌蕊发育。*MSL*基因编码雄株特异的长链非编码RNA(lncRNA), 在拟南芥中过量表达*MSL*导致雄蕊数目增加以及雄蕊分叉表型, 但不影响雌蕊发育, 证实该基因具有促进雄蕊发育的功能。美洲黑杨雌株中*FERR*基因能够正常表达, 从而促进雌蕊发育; 雄株中*FERR-R*基因通过产生Y染色体特异的小RNA抑制*FERR*基因表达, 从而抑制雌蕊发育, 同时*MSL*基因的表达能够促进雄蕊发育。对这2个基因的克隆和功能分析揭示了XY型杨树的性别决定分子机制, 为植物性别分化的“双基因”模型提供更多的实验证据(Xue et al., 2020)。四川大学马涛研究团队在胡杨雄株Y染色体(Chr. 14)近端粒区同样发现了*RR*基因的反向重复片段, 而胡杨完整*RR*基因位于19号染色体, 他们得出与上述两个团队相似的结论(Yang et al., 2020)。上述研究结果表明, *ARR17*反向重复片段对完整*ARR17*基因的调控作用在XY型杨树性别决定机制中具有保守性, 同时揭示了基因重复在植物性别系统分化中的重要作用, 为阐明杨树性别决定系统发生机制提供了丰富而扎实的实验证据。

在已鉴定性别决定系统的杨柳科植物中,有1种杨树和4种柳树为ZW型。其中,银白杨(*P. alba*)性别决定区位于19号染色体的着丝粒附近(Paolucci et al., 2010),而ZW型柳属植物性别决定位点均位于15号染色体(图1)(Hou et al., 2015; Pucholt et al., 2015; Zhou et al., 2018; Li et al., 2020; Sanderson et al., 2020)。Matthias Fladung团队和马涛团队均发现银白杨雌株的W染色体上存在3个完整*ARR17*基因的串联重复,而Z染色体上缺失该基因,说明*ARR17*在ZW型杨树的性别决定过程中同样发挥关键作用(Müller et al., 2020; Yang et al., 2020)。与杨树相比,柳树性别决定基因的研究相对滞后。簸箕柳(*S. suc-howensis*)原产于中国,具有个体小、世代周期短等优势,是研究植物ZW性别决定系统发生的理想材料。南京林业大学尹佟明团队率先完成了簸箕柳的全基因组测序及序列升级组装(Dai et al., 2014; Wei et al., 2020),为实现簸箕柳性别决定基因的克隆创造了条件。Chen等(2016)利用AFLP标记将簸箕柳性别决定基因精细定位在母本第15号连锁群中部。Zhou等(2018)利用重测序数据将红皮柳(*S. purpurea*)SDR定位在15号染色体着丝粒附近大约5 Mb的区间内,该区间重组抑制严重、富含重复序列。最近,Zhou等(2020)利用三代测序对红皮柳W染色体上SDR区(W-SDR)的结构特征进行了详细解析,发现W-SDR长6.8 Mb,占整条W染色体约40%,W-SDR内部200 kb的区间含有2组大的回文重复序列,并富含LTR反转录转座子,基因注释显示5个基因(*SMR*、*RR*、*R1*、*R2*和*HCT*)在这些回文序列中均有分布,其中*RR*基因(*SpRR9*)存在明显的基因转换(gene conversion)现象,并且在雌株茱萸花序中高表达。结合杨树中相关*RR*基因的研究结果,Zhou等(2020)推测*SpRR9*是红皮柳的性别决定基因。

综上,大部分杨树性别决定系统为XY型,而大部分柳树性别决定系统为ZW型。比较基因组学显示,杨树和柳树起源于共同的祖先,基因组具有高度的共线性关系(Tuskan et al., 2006; Dai et al., 2014)。但它们的性染色体分别由不同的常染色体进化而来:杨树的性染色体是19号染色体,而柳树的性染色体是15号染色体(Hou et al., 2015)。细胞学研究表明,杨树和柳树的性染色体均未出现形态上的差异,尚处于进化早期阶段(Peto, 1938)。由此可见,性别决定系

统的分化可能晚于杨、柳之间的物种分化,性染色体在杨、柳这2个姊妹属中分别独立起源和进化,演化形成XY和ZW两种完全不同的性别决定系统。我们对木本植物中已鉴别的性别决定基因进行了归类总结(表1)。

3 其它雌雄异株木本植物

阿月浑子(*Pistacia vera*)又名开心果,是漆树科(*Anacardiaceae*)黄连木属(*Pistacia*)的重要经济树种,其性别早期鉴定具有较大的理论意义和应用价值。为开发与性别连锁的SNP位点用于分子标记辅助选择,Kafkas等(2015)随机挑选了阿月浑子杂交F₁代中的8雄8雌,与亲本分别进行RAD测序,从筛选出的38个与性别连锁的SNP标记中开发出4对可以用于性别早期鉴定的引物,利用这些引物对166份种质资源进行性别鉴定的准确率高达100%。此外,38个与性别连锁的SNP位点均为雌株杂合、雄株纯合。该研究首次确定了阿月浑子的性别决定系统为ZW型。

无花果(*Ficus carica*)属桑科(*Moraceae*)榕属(*Ficus*),隐头花序,根据其花类型和结实情况分为4种:野生型(*caprifig*)、斯密尔那型(*Smyrna*)、圣比罗型(*San Pedro*)和普通型(*common*) (乔峰等, 2018)。野生型雌雄同花(由雄花和短柱雌花构成),主要为无花果传粉蜂的寄主,因此又被认为是无花果雄株;而其它3种类型仅产生长柱雌花,无花果的性别决定类型为XY型(Valdeyron and Lloyd, 1979)。Mori等(2017)构建了无花果基因组草图,并结合家系连锁分析和全基因组关联分析(GWAS)将性别位点定位在1号染色体约100 kb的区间内。进一步分析该区间内所有SNP位点与性别的相关性,发现有2个SNP位点(造成错义突变)与性别呈中等相关且在雄株中为杂合,这2个SNP位点位于同一基因(*RAN1*)内部,该基因编码铜转运ATP酶,参与乙烯信号响应,在雌株果实中表达量最高,因此推测*RAN1*是无花果性别决定候选基因。

银杏(*Ginkgo biloba*)是典型的雌雄异株裸子植物,基于染色体核型分析和FISH技术对银杏性别决定系统的判断不一致,既有结果支持XX/XY型(Newcomer, 1954; Pollock, 1957),也有支持ZW/ZZ型(Chen et al., 1987; Lan, 2008)。Du等(2016)对银杏

表1 目前已鉴定的木本植物性别决定基因

Table 1 The sex determination genes identified in woody plants

类型	种名	性别决定系统	性别决定基因	基因注释	在性别分化中的作用	参考文献
隐性雌雄异株(I型单性花)	君迁子(<i>Diospyros lotus</i>)	XY	<i>OGI</i>	Y染色体特异的21 bp小RNA	雄株中抑制雌蕊发育	Akagi et al., 2014
	猕猴桃(<i>Actinidia spp.</i>)	XY	<i>SyGI</i>	Type-C类型细胞分裂素响应调节因子	雄株中抑制雌蕊发育	Akagi et al., 2018
			<i>FrBy</i>	类成束阿拉伯半乳糖蛋白(fasciclin-like arabinogalactan proteins, FLAs)是一类广泛分布于植物体内的富含羟脯氨酸的糖蛋白	雄株中激活雄蕊发育	Akagi et al., 2019
	葡萄(<i>Vitis vinifera</i>)	XY	<i>APT3/APRT3</i>	腺嘌呤磷酸核糖转移酶	推测在雄株抑制心皮发育	Fechter et al., 2012; Coito et al., 2017
			<i>INP1</i>	功能未知蛋白	推测与花粉萌发孔发育相关	Massonnet et al., 2020
					功能未知	
	番木瓜(<i>Carica papaya</i>)	XY	<i>CpSVP</i>	MADS-box转录因子		Urasaki et al., 2012; Lee et al., 2018
			<i>CpSERK</i>	体细胞胚发生相关类受体蛋白激酶		
			<i>CpCAF1AL</i>	组蛋白伴侣, 染色质组装因子		
椰枣(<i>Phoenix dactylifera</i>)	XY	<i>CYP703</i>	细胞色素蛋白	推测促进雄蕊发育	Torres et al., 2018	
		<i>GPAT3</i>	甘油-3-磷酸酰基转移酶			
		<i>LOG-like</i>	细胞分裂素激活酶	推测抑制雌蕊发育		
完全雌雄异株(II型单性花)	美洲黑杨	XY	<i>FERR-R</i>	Y染色体特异小RNA	抑制雌蕊发育	Xue et al., 2020
			<i>MSL</i>	Y染色体特异lncRNA	促进雄蕊发育	
	毛果杨(<i>P. trichocarpa</i>)	XY	<i>ARR17</i>	Type-A类型细胞分裂素响应调节因子	促进雌蕊发育	Müller et al., 2020
	欧洲山杨(<i>P. tremula</i>)	XY	<i>ARR17</i>			
	胡杨(<i>P. euphratica</i>)	XY	<i>RR</i>	Type-A类型细胞分裂素响应调节因子		Yang et al., 2020

雌雄花芽及大小孢子叶球转录组进行分析,发现有大量基因在雌雄个体之间存在差异表达,其中有11个基因在雌雄花芽和大小孢子叶球中共同差异表达,这些基因可能在银杏性别决定中发挥重要作用。此外,DNA甲基转移酶基因在雌花芽和大孢子叶球中均显著上调表达,推测甲基化水平上升可能有助于银杏雌株的分化发育。基于银杏基因组序列(Guan et al., 2016), Zhang等(2019)利用Hi-C技术实现了染色体水平的序列组装。后续,他们利用362株银杏重测序数据(97雄株和265雌株)开展GWAS分析,发现银杏SDR位于2号染色体上约4.6 Mb的区间内,通过对该区间进行深度测序(4雄株和5雌株),证实银杏性别决定系统为XY型;通过序列解析发现银杏SDR区有16个蛋白编码基因,其中2个RR基因(RR2和RR12)仅在雄株中特异表达,表明RR2和RR12可能在银杏性别决定中发挥重要作用。

4 结语与展望

Charlesworth和Charlesworth (1978)提出的双基因模型是学界普遍认可的雌雄同株向雌雄异株进化的分子模型。该模型认为,植物的两性祖先先后经历2次不育突变并最终产生单性植株。但由于缺乏足够的实验证据支持,该模型长期停留在假说阶段。相对于控制植物其它性状的基因,克隆性别决定基因难度更大,原因在于SDR区往往有严重的重组抑制,造成目标区间较大(几十到上百kb),且SDR区富含重复序列,二代测序技术条件下SDR区序列的组装难度和错误率都非常高,而读长可达100 kb的三代测序技术彻底改变了这一现状,利用染色质构象捕获发展起来的Hi-C技术也进一步加快了目的基因精细定位过程,这也是性别决定基因在短时间内被广泛报道的重要原因。不同科属植物性别决定基因的鉴别和克隆在不

同程度上支持和发展了双基因模型。例如, 柿子性别决定基因 *OGI* 的发现使人们意识到, 植物两性祖先经历的2次不育突变有可能发生在同一个基因上, 用双突变模型来修正双基因模型可能更为准确。此外, 柿子 *OGI* 基因与黑杨性别决定基因 *FERR-R* 均编码小RNA, 同一种植物不同性别之间DNA甲基化水平不同, 说明表观遗传调控在性别决定过程中发挥重要作用。阐明表观遗传调控对植物性别分化的影响将成为今后的重要研究内容之一。

植物的性染色体起源于1对常染色体, 性别决定基因的出现是性染色体演化的最初阶段(Ming et al., 2011; 秦力等, 2016)。自性染色体首次在苔类植物 *Sphaerocarpos donnellii* 中被发现(Allen, 1917), 同型或异型性染色体(homomorphic or heteromorphic sex chromosome)已在17科39种雌雄异株被子植物中被发现(Ming et al., 2011)。性染色体在不同科属植物中独立起源和进化, 且在多数植物中尚处于进化的早期阶段, 在动物中已完成的性染色体演化过程可以在植物中进行追溯。Ming等(2011)在总结前人结果的基础上提出植物性染色体演化模型: 1条常染色体上发生了1个雄性或者雌性不育突变, 由于某种未知原因造成突变部位的重组受到抑制, 重组抑制引起原始性染色体结构及功能的分化; 同时也使一些雄性或者雌性特异序列在重组抑制区累积, 导致非重组区域逐渐扩展, 经过长期的进化, 常染色体最终演化成有形态差异的性染色体。克隆性别决定基因、揭示SDR区的结构变异不仅为性染色体进化模型提供重要的实验证据, 而且为进一步探索性染色体的起源及演化动力奠定基础。大部分雌雄异株植物的性别决定类型为XY型, ZW型雌雄异株植物很少。相对于研究比较深入的XY性别决定系统, ZW性别决定系统的发生机制尚不清楚。对ZW型植物性别决定基因的挖掘以及对不同性别决定系统转换的探索将会进一步丰富对性染色体演化的认知。

参考文献

- 贾慧敏 (2016). 杨梅全基因组测序和雌雄性别控制遗传分析. 博士论文. 杭州: 浙江大学. pp. 37–41.
- 乔峰, 王敬民, 李金平, 李敬华, 程栋 (2018). 无花果常用树形及栽培模式. 落叶果树 50(6), 65–67.
- 秦力, 陈景丽, 潘长田, 叶蕾, 卢钢 (2016). 植物性染色体进化及性别决定基因研究进展. 植物学报 51, 841–848.
- Akagi T, Henry IM, Kawai T, Comai L, Tao R (2016). Epigenetic regulation of the sex determination gene *MeGI* in polyploid persimmon. *Plant Cell* 28, 2905–2915.
- Akagi T, Henry IM, Ohtani H, Morimoto T, Beppu K, Kataoka I, Tao R (2018). A Y-encoded suppressor of feminization arose via lineage-specific duplication of a cytokinin response regulator in kiwifruit. *Plant Cell* 30, 780–795.
- Akagi T, Henry IM, Tao R, Comai L (2014). A Y-chromosome-encoded small RNA acts as a sex determinant in persimmons. *Science* 346, 646–650.
- Akagi T, Kajita K, Kibe T, Morimura H, Tsujimoto T, Nishiyama S, Kawai T, Yamane H, Tao R (2013). Development of molecular markers associated with sexuality in *Diospyros lotus* L. and their application in *D. kaki* Thunb. *J Jpn Soc Hortic Sci* 83, 214–221.
- Akagi T, Pilkington SM, Varkonyi-Gasic E, Henry IM, Sugano SS, Sonoda M, Firl A, McNeilage MA, Douglas MJ, Wang TC, Rebstock R, Voogd C, Datson P, Allan AC, Beppu KJ, Kataoka I, Tao R (2019). Two Y-chromosome-encoded genes determine sex in kiwifruit. *Nat Plants* 5, 801–809.
- Akagi T, Shirasawa K, Nagasaki H, Hirakawa H, Tao R, Comai L, Henry IM (2020). The persimmon genome reveals clues to the evolution of a lineage-specific sex determination system in plants. *PLoS Genet* 16, e1008566.
- Al-Dous EK, George B, Al-Mahmoud ME, Al-Jaber MY, Wang H, Salameh YM, Al-Azwani EK, Chaluvadi S, Pontaroli AC, DeBarry J, Arondel V, Ohlrogge J, Saie IJ, Suliman-Elmeer KM, Bennetzen JL, Kruegger RR, Malek JA (2011). *De novo* genome sequencing and comparative genomics of date palm (*Phoenix dactylifera*). *Nat Biotechnol* 29, 521–527.
- Allen CE (1917). A chromosome difference correlated with sex differences in *Sphaerocarpos*. *Science* 46, 466–467.
- Antcliff AJ (1980). Inheritance of sex in *Vitis*. *Ann Amelior Plantae* 30, 113–122.
- Aryal R, Ming R (2014). Sex determination in flowering plants: papaya as a model system. *Plant Sci* 217–218, 56–62.
- Bräutigam K, Soolanayakanahally R, Champigny M, Mansfield S, Douglas C, Campbell MM, Cronk Q (2017). Sexual epigenetics: gender-specific methylation of a gene in the sex determining region of *Populus balsamifera*. *Sci Rep* 7, 45388.
- Carlson CH, Choi Y, Chan AP, Serapiglia MJ, Town CD,

- Smart LBQ** (2017). Dominance and sexual dimorphism pervade the *Salix purpurea* L. transcriptome. *Genome Biol Evol* **9**, 2377–2394.
- Charlesworth B, Charlesworth D** (1978). A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *Am Nat* **112**, 975–997.
- Chen KS, Xu CJ, Zhang B, Ferguson IB** (2004). Red bayberry: botany and horticulture. In: Janick J, ed. Horticultural Reviews. Washington: Wiley. pp. 83–114.
- Chen RY, Song WQ, Li XL** (1987). Study on the sex chromosomes of *Ginkgo biloba*. In: Hong DY, ed. Plant Chromosome Research 1987. Beijing and Hiroshima: Organizing Committee of the Sino-Japanese Symposium on Plant Chromosomes. pp. 86.
- Chen YN, Wang TT, Fang LC, Li XP, Yin TM** (2016). Confirmation of single-locus sex determination and female heterogamety in willow based on linkage analysis. *PLoS One* **11**, e0147671.
- Cherif E, Zehdi S, Castillo K, Chabrilange N, Abdoukader S, Pintaud JC, Santoni S, Salhi-Hannachi A, Glémin S, Aberlenc-Bertossi F** (2013). Male-specific DNA markers provide genetic evidence of an XY chromosome system, a recombination arrest and allow the tracing of paternal lineages in date palm. *New Phytol* **197**, 409–415.
- Cherif E, Zehdi-Azouzi S, Crabos A, Castillo K, Chabrilange N, Pintaud JC, Salhi-Hannachi A, Glémin A, Aberlenc-Bertossi F** (2016). Evolution of sex chromosomes prior to speciation in the dioecious *Phoenix* species. *J Evol Biol* **29**, 1513–1522.
- Coder KD** (2008). Tree Sex: Gender & Reproductive Strategies. <https://www.genderportal.eu/resources/tree-sex-gender-reproductive-strategies>. Athens, GA: Warnell School, University of Georgia. WSFNR08-12.
- Coito JL, Ramos MJN, Cunha J, Silva HG, Amâncio S, Costa MMR, Rocheta M** (2017). *VviAPRT3* and *VviFSEX*: two genes involved in sex specification able to distinguish different flower types in *Vitis*. *Front Plant Sci* **8**, 98.
- Dai XG, Hu QJ, Cai QL, Feng K, Ye N, Tuskan GA, Milne R, Chen YN, Wan ZB, Wang ZF, Luo WC, Wang K, Wan DS, Wang MX, Wang J, Liu JQ, Yin TM** (2014). The willow genome and divergent evolution from poplar after the common genome duplication. *Cell Res* **24**, 1274–1277.
- Dellaporta SL, Calderon-Urrea A** (1993). Sex determination in flowering plants. *Plant Cell* **5**, 1241–1251.
- Dobritsa AA, Coerper D** (2012). The novel plant protein INAPERTURATE POLLEN 1 marks distinct cellular domains and controls formation of apertures in the *Arabidopsis* pollen exine. *Plant Cell* **24**, 4452–4464.
- Du SH, Sang YL, Liu XJ, Xing SY, Li JH, Tang HX, Sun LM** (2016). Transcriptome profile analysis from different sex types of *Ginkgo biloba* L. *Front Plant Sci* **7**, 871.
- Fechter I, Hausmann L, Daum M, Sörensen TR, Viehöver P, Weisshaar B, Töpfer R** (2012). Candidate genes within a 143 kb region of the flower sex locus in *Vitis*. *Mol Genet Genomics* **287**, 247–259.
- Gaudet M, Jorge V, Paolucci I, Beritognolo I, Mugnozza GS, Sabatti M** (2008). Genetic linkage maps of *Populus nigra* L. including AFLPs, SSRs, SNPs, and sex trait. *Tree Genet Genomes* **4**, 25–36.
- Geraldes A, Hefer CA, Capron A, Kolosova N, Martinez-Nuñez F, Soolanayakanahally RY, Stanton B, Guy RD, Mansfield SD, Douglas CJ, Cronk QCB** (2015). Recent Y chromosome divergence despite ancient origin of dioecy in poplars (*Populus*). *Mol Ecol* **24**, 3243–3256.
- Guan R, Zhao YP, Zhang H, Fan GY, Liu X, Zhou WB, Shi CC, Wang JH, Liu WQ, Liang XM, Fu YY, Ma KL, Zhao LJ, Zhang FM, Lu ZH, Lee SMY, Xu X, Wang J, Yang HM, Fu CX, Ge S, Chen WB** (2016). Draft genome of the living fossil *Ginkgo biloba*. *GigaScience* **5**, 49.
- Harvey CF, Gill GP, Fraser LG, McNeilage MA** (1997). Sex determination in *Actinidia*. 1. Sex-linked markers and progeny sex ratio in diploid *A. chinensis*. *Sex Plant Reprod* **10**, 149–154.
- Horovitz S, Jiménez H** (1967). Cruzamientos interespecíficos e intergenericos en caricáceas y sus implicaciones fitotécnicas. *Agron Trop* **17**, 323–343.
- Hou J, Ye N, Zhang DF, Chen YN, Fang LC, Dai XG, Yin TM** (2015). Different autosomes evolved into sex chromosomes in the sister genera of *Salix* and *Populus*. *Sci Rep* **5**, 9076.
- Jia HM, Jia HJ, Cai QL, Wang Y, Zhao HB, Yang WF, Wang GY, Li YH, Zhan DL, Shen YT, Niu QF, Chang L, Qiu J, Zhao L, Xie HB, Fu WY, Jin J, Li XW, Jiao Y, Zhou CC, Tu T, Chai CY, Gao JL, Fan LJ, van de Weg E, Wang JY, Gao ZS** (2019). The red bayberry genome and genetic basis of sex determination. *Plant Biotechnol J* **17**, 397–409.
- Kafkas S, Khodaeiaminjan M, Güney M, Kafkas E** (2015). Identification of sex-linked SNP markers using RAD sequencing suggests ZW/ZZ sex determination in *Pistacia vera* L. *BMC Genomics* **16**, 98.

- Kersten B, Pakull B, Groppe K, Lueneburg J, Fladung M** (2014). The sex-linked region in *Populus tremuloides* Turesson 141 corresponds to a pericentromeric region of about two million base pairs on *P. trichocarpa* chromosome 19. *Plant Biol* **16**, 411–418.
- Lan TY** (2008). Microdissection and painting of the W chromosome in *Ginkgo biloba* showed different labelling patterns. *Bot Stud* **49**, 33–37.
- Le Roux LG, Kellogg EA** (1999). Floral development and the formation of unisexual spikelets in the Andropogoneae (Poaceae). *Am J Bot* **86**, 354–366.
- Lee CY, Lin HJ, Viswanath KK, Lin CP, Chang BCH, Chiu PH, Chiu CT, Wang RH, Chin SW, Chen FC** (2018). The development of functional mapping by three sex-related loci on the third whorl of different sex types of *Carica papaya* L. *PLoS One* **13**, e0194605.
- Li W, Wu HT, Li XP, Chen YN, Yin TM** (2020). Fine mapping of the sex locus in *Salix triandra* confirms a consistent sex determination mechanism in genus *Salix*. *Hortic Res* **7**, 64.
- Liu ZY, Moore PH, Ma H, Ackerman CM, Ragiba M, Yu QY, Pearl HM, Kim MS, Charlton JW, Stiles JI, Zee FT, Paterson AH, Ming R** (2004). A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature* **427**, 348–352.
- Massonnet M, Cochetel N, Minio A, Vondras AM, Lin J, Muyle A, Garcia JF, Zhou YF, Delledonne M, Riaz S, Figueroa-Balderas R, Gaut BS, Cantu D** (2020). The genetic basis of sex determination in grapes. *Nat Commun* **11**, 2902.
- Mathew LS, Spannagl M, Al-Malki A, George B, Torres MF, Al-Dous EK, Hussein E, Mathew S, Mayer KFX, Mohamoud YA, Suhre K, Malek JA** (2014). A first genetic map of date palm (*Phoenix dactylifera*) reveals long-range genome structure conservation in the palms. *BMC Genomics* **15**, 285.
- Mayer SS, Charlesworth D** (1991). Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol Evol* **6**, 320–325.
- Melnikova NV, Kudryavtseva AV, Borkhert EV, Pushkova EN, Fedorova MS, Snezhkina AV, Krasnov GS, Dmitriev AA** (2019). Sex-specific polymorphism of *MET1* and *ARR17* genes in *Populus × sibirica*. *Biochimie* **162**, 26–32.
- Ming R, Bendahmane A, Renner SS** (2011). Sex chromosomes in land plants. *Annu Rev Plant Biol* **62**, 485–514.
- Ming R, Yu QY, Moore PH** (2007). Sex determination in papaya. *Semin Cell Dev Biol* **18**, 401–408.
- Mitchell CH, Diggie PK** (2005). The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *Am J Bot* **92**, 1068–1076.
- Mori K, Shirasawa K, Nogata H, Hirata C, Tashiro K, Habu T, Kim S, Himeno S, Kuhara S, Ikegami H** (2017). Identification of *RAN1* orthologue associated with sex determination through whole genome sequencing analysis in fig (*Ficus carica* L.). *Sci Rep* **7**, 41124.
- Müller NA, Kersten B, Leite Montalvão AP, Mähler N, Bernhardsson C, Bräutigam K, Carracedo Lorenzo Z, Hoenicka H, Kumar V, Mader M, Pakull B, Robinson KM, Sabatti M, Vettori C, Ingvarsson PK, Cronk Q, Street NR, Fladung M** (2020). A single gene underlies the dynamic evolution of poplar sex determination. *Nat Plants* **6**, 630–637.
- Newcomer EH** (1954). The karyotype and possible sex chromosomes of *Ginkgo biloba*. *Am J Bot* **41**, 542–545.
- Pakull B, Groppe K, Mecucci F, Gaudet M, Sabatti M, Fladung M** (2011). Genetic mapping of linkage group XIX and identification of sex-linked SSR markers in a *Populus tremula × Populus tremuloides* cross. *Can J For Res* **41**, 245–253.
- Pakull B, Groppe K, Meyer M, Markussen T, Fladung M** (2009). Genetic linkage mapping in aspen (*Populus tremula* L. and *Populus tremuloides* Michx.). *Tree Genet Genomes* **5**, 505–515.
- Pakull B, Kersten B, Lüneburg J, Fladung M** (2015). A simple PCR-based marker to determine sex in aspen. *Plant Biol* **17**, 256–261.
- Paolucci I, Gaudet M, Jorge V, Beritognolo I, Terzoli S, Kuzminsky E, Muleo R, Mugnozza GS, Sabatti M** (2010). Genetic linkage maps of *Populus alba* L. and comparative mapping analysis of sex determination across *Populus* species. *Tree Genet Genomes* **6**, 863–875.
- Peto FH** (1938). Cytology of poplar species and natural hybrids. *Can J Res* **16**, 445–455.
- Picq S, Santoni S, Lacombe T, Latreille M, Weber A, Ardisson M, Ivorra S, Maghradze D, Arroyo-Garcia R, Chatelet P, This P, Terral JF, Bacilieri R** (2014). A small XY chromosomal region explains sex determination in wild dioecious *V. vinifera* and the reversal to hermaphroditism in domesticated grapevines. *BMC Plant Biol* **14**, 229.
- Pollock EG** (1957). The sex chromosomes of the maiden-hair tree. *J Hered* **48**, 290–294.
- Pucholt P, Rönnberg-Wästljung AC, Berlin S** (2015).

- Single locus sex determination and female heterogamety in the basket willow (*Salix viminalis* L.). *Heredity* **114**, 575–583.
- Ramos MJ, Coito JL, Silva HG, Cunha J, Costa MM, Rocheta M (2014). Flower development and sex specification in wild grapevine. *BMC Genomics* **15**, 1095.
- Sabatti M, Gaudet M, Müller NA, Kersten B, Gaudiano C, Mugnozza GS, Fladung M, Beritognolo I (2020). Long-term study of a subdioecious *Populus* × *canescens* family reveals sex lability of females and reproduction behaviour of cosexual plants. *Plant Rep* **33**, 1–17.
- Sanderson BJ, Feng GQ, Hu N, Carlson CH, Smart LB, Keefover-Ring K, Yin TM, Ma T, Liu JQ, DiFazio SP, Olson MS (2020). Sex determination through X-Y heterogamety in *Salix nigra*. *bioRxiv* doi: 10.1101/2020.03.23.000919.
- Siljak-Yakovlev S, Cerbah M, Benmalek S, Bounaga N, Coba de la Pena T, Brown SC (1996). Chromosomal sex determination and heterochromatin structure in date palm. *Sex Plant Reprod* **9**, 127–132.
- Torres MF, Mathew LS, Ahmed I, Al-Azwani IK, Krueger R, Rivera-Núñez D, Mohamoud YA, Clark AG, Suhre K, Malek JA (2018). Genus-wide sequencing supports a two-locus model for sex-determination in *Phoenix*. *Nat Commun* **9**, 3969.
- Tuskan GA, Difazio S, Jansson S, Bohlmann J, Grigoriev I, Hellsten U, Putnam N, Ralph S, Rombauts S, Salamov A, Schein J, Sterck L, Aerts L, Bhalerao RR, Bhalerao RP, Blaudez D, Boerjan W, Brun A, Brunner A, Busov V, Campbell M, Carlson J, Chalot M, Chapman J, Chen GL, Cooper D, Coutinho PM, Couturier J, Covert S, Cronk Q, Cunningham R, Davis J, Degroove S, Déjardin A, Depamphilis C, Detter J, Dirks B, Dubchak I, Duplessis S, Ehling J, Ellis B, Gendler K, Goodstein D, Gribskov M, Grimwood J, Groover A, Gunter L, Hamberger B, Heinze B, Helariutta Y, Henrissat B, Holligan D, Holt R, Huang W, Islam-Faridi N, Jones S, Jones-Rhoades M, Jorgensen R, Joshi C, Kangasjärvi J, Karlsson J, Kelleher C, Kirkpatrick R, Kirst M, Kohler A, Kalluri U, Larimer F, Leebens-Mack J, Lepié JC, Locascio P, Lou Y, Lucas S, Martin F, Montanini B, Napoli C, Nelson DR, Nelson C, Nieminen K, Nilsson O, Pereda V, Peter G, Philippe R, Pilate G, Poliakov A, Razumovskaya J, Richardson P, Rinaldi C, Ritland K, Rouzé P, Ryaboy D, Schmutz J, Schrader J, Segerman B, Shin H, Siddiqui A, Sterky F, Terry A, Tsai CJ, Uberbacher E, Unneberg P, Vahala J, Wall K, Wessler S, Yang G, Yin T, Douglas C, Marra M, Sandberg G, van de Peer Y, Rokhsar D (2006). The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* **313**, 1596–1604.
- Ueno H, Urasaki N, Natsume S, Yoshida K, Tarora K, Shudo A, Terauchi R, Matsumura H (2015). Genome sequence comparison reveals a candidate gene involved in male-hermaphrodite differentiation in papaya (*Carica papaya*) trees. *Mol Genet Genomics* **290**, 661–670.
- Urasaki N, Tarora K, Shudo A, Ueno H, Tamaki M, Miyagi N, Adaniya S, Matsumura H (2012). Digital transcriptome analysis of putative sex-determination genes in papaya (*Carica papaya*). *PLoS One* **7**, e40904.
- Valdeyron G, Lloyd DG (1979). Sex differences and flowering phenology in the common fig, *Ficus carica* L. *Evolution* **33**, 673–685.
- VanBuren R, Zeng FC, Chen CX, Zhang JS, Wai CM, Han J, Aryal R, Gschwend AR, Wang JP, Na JK, Huang LX, Zhang LM, Miao WJ, Gou JQ, Arro J, Guyot R, Moore RC, Wang ML, Zee F, Charlesworth D, Moore PH, Yu QY, Ming R (2015). Origin and domestication of papaya Y^h chromosome. *Genome Res* **25**, 524–533.
- Wang JP, Na JK, Yu QY, Gschwend AR, Han J, Zeng FC, Aryal R, VanBuren R, Murray JE, Zhang WL, Navajas-Pérez R, Feltus FA, Lemke C, Tong EJ, Chen CX, Wai CM, Singh R, Wang ML, Min XJ, Alam M, Charlesworth D, Moore PH, Jiang JM, Paterson AH, Ming R (2012). Sequencing papaya X and Y^h chromosomes reveals molecular basis of incipient sex chromosome evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 13710–13715.
- Wang Y, Jia HM, Shen YT, Zhao HB, Yang QS, Zhu CQ, Sun DL, Wang GY, Zhou CC, Jiao Y, Chai CY, Yan LJ, Li XW, Jia HJ, Gao ZS (2020). Construction of an anchoring SSR marker genetic linkage map and detection of a sex-linked region in two dioecious populations of red bayberry. *Hortic Res* **7**, 53.
- Wei SY, Yang YH, Yin TM (2020). The chromosome-scale assembly of the willow genome provides insight into Salicaceae genome evolution. *Hortic Res* **7**, 45.
- Xue LJ, Wu HT, Chen YN, Li XP, Hou J, Lu J, Wei SY, Dai XG, Olson MS, Liu JQ, Wang MX, Charlesworth D, Yin TM (2020). Two antagonistic effect genes mediate separation of sexes in a fully dioecious plant. *bioRxiv* doi: 10.1101/2020.03.15.993022.
- Yang HW, Akagi T, Kawakatsu T, Tao R (2019). Gene networks orchestrated by *MeG1*: a single-factor mechanism underlying sex determination in persimmon. *Plant J*

- 98, 97–111.
- Yang WL, Zhang ZY, Wang DY, Li LY, Tong SF, Li MM, Zhang X, Zhang L, Ren LW, Ma XZ, Zhou R, Sanderson BJ, Keefover-Ring K, Yin TM, Smart LB, Liu JQ, DiFazio SP, Olson M, Ma T (2020). A general model to explain repeated turnovers of sex determination in the Salicaceae. *bioRxiv* doi: 10.1101/2020.04.11.037556.
- Yin TM, DiFazio SP, Gunter LE, Zhang XY, Sewell MM, Woolbright SA, Allan GJ, Kelleher CT, Douglas CJ, Wang MX, Tuskan GA (2008). Genome structure and emerging evidence of an incipient sex chromosome in *Populus*. *Genome Res* **18**, 422–430.
- Yonemori K, Sugiura A, Tanaka K, Kameda K (1993). Floral ontogeny and sex determination in monoecious-type persimmons. *J Am Soc Hortic Sci* **118**, 293–297.
- Yu QY, Hou SB, Feltus FA, Jones MR, Murray JE, Veatch O, Lemke C, Saw JH, Moore RC, Thimmapuram J, Liu L, Moore PH, Alam M, Jiang JM, Paterson AH, Ming R (2008a). Low X/Y divergence in four pairs of papaya sex-linked genes. *Plant J* **53**, 124–132.
- Yu QY, Hou SB, Hobza R, Feltus FA, Wang X, Jin WW, Skelton RL, Blas L, Lemke C, Saw JH, Moore PH, Alam M, Jiang JM, Paterson AH, Vyskot B, Ming R (2007). Chromosomal location and gene paucity of the male specific region on papaya Y chromosome. *Mol Genet Genomics* **278**, 177–185.
- Yu QY, Navajas-Pérez R, Tong E, Robertson J, Moore PH, Paterson AH, Ming R (2008b). Recent origin of dioecious and gynodioecious Y chromosomes in papaya. *Trop Plant Biol* **1**, 49–57.
- Zerpa-Catanho D, Wai J, Wang ML, Yu L, Nguyen J, Ming R (2019). Differential gene expression among three sex types reveals a *MALE STERILITY 1* (*CpMS1*) for sex differentiation in papaya. *BMC Plant Biol* **19**, 545.
- Zhang H, Zhang R, Yang XW, Gu KJ, Chen WB, Chang Y, Xu QW, Liu Q, Qin YT, Hong XN, Yin, Seim I, Lin HY, Li WH, Tian JF, Li SS, Liu, Liu JN, Liu SS, Su XS, Wang CY, Zhang FM, Ge S, Fu CX, Lee SMY, Xia YJ, Wang J, Yang HM, Fan GY, Xu X, Zhao YP, Xin (2019). Recent origin of an XX/XY sex-determination system in the ancient plant lineage *Ginkgo biloba*. *bioRxiv* doi: 10.1101/517946.
- Zhang PX, Yang SC, Liu YF, Zhang QL, Xu LQ, Luo ZR (2016). Validation of a male-linked gene locus (*OG1*) for sex identification in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) and its application in F_1 progeny. *Plant Breed* **135**, 721–727.
- Zhou P, Fatima M, Ma XY, Liu J, Ming R (2019). Auxin regulation involved in gynoecium morphogenesis of papaya flowers. *Hortic Res* **6**, 119.
- Zhou R, Macaya-Sanz D, Carlson CH, Schmutz J, Jenkins JW, Kudrna D, Sharma A, Sandor L, Shu SQ, Barry K, Tuskan GA, Ma T, Liu JQ, Olson M, Smart LB, DiFazio SP (2020). A willow sex chromosome reveals convergent evolution of complex palindromic repeats. *Genome Biol* **21**, 38.
- Zhou R, Macaya-Sanz D, Rodgers-Melnick E, Carlson CH, Gouker FE, Evans LM, Schmutz J, Jenkins JW, Yan JY, Tuskan GA, Smart LB, DiFazio SP (2018). Characterization of a large sex determination region in *Salix purpurea* L. (Salicaceae). *Mol Genet Genomics* **293**, 1437–1452.
- Zhou YF, Massonnet M, Sanjak JS, Cantu D, Gaut BS (2017). Evolutionary genomics of grape (*Vitis vinifera* ssp. *vinifera*) domestication. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 11715–11720.

Research Progress on Sex Determination Genes of Woody Plants

Jing Lu^{1,2}, Yingnan Chen^{1,2*}, Tongming Yin^{1,2}

¹Key Laboratory of Forest Genetics and Biotechnology of Ministry of Education, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; ²Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract Dioecious plants provide ideal materials for studying the sex determination mechanisms and the origin and evolution of sex chromosomes. Cloning of sex determination genes is crucial for revealing the sex-determination mechanism. There are many woody dioecious plant species, which contain two opposite sex determination systems: XY (females are homogametic XX and males are heterogametic XY) and ZW (females are heterogametic ZW and males are homogametic ZZ). Besides, trees of different sexes may have different economic values. Studies on the sex determination of woody plants not only have theoretical significances, but also have potential practical applications. With the development of large-scale sequencing technology, more and more sex determination genes of woody plants have been identified and cloned, which provides strong experimental evidence for the evolutionary history of dioecious plants and sex chromosomes. In this review, we summarized the important research progress on sex determination genes of woody plants, and discussed some future perspectives in this area.

Key words dioecy, woody plant, sex determination system, sex determination gene, gene cloning

Lu J, Chen YN, Yin TM (2021). Research progress on sex determination genes of woody plants. *Chin Bull Bot* **56**, 90–103.

* Author for correspondence. E-mail: chenyingnan@njfu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)