



•综述•

植物雌雄异株性别决定研究进展

彭丹¹, 武志强^{1,2*}

1. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室深圳分中心, 农业农村部农业基因数据分析重点实验室, 中国农业科学院(深圳)农业基因组研究所, 广东深圳 518124

2. 佛山鲲鹏现代农业研究院, 广东佛山 528200

摘要: 植物中雌雄性别分化是一种进化的性状。雌雄异株在多个开花植物谱系中独立演化, 但各个支系的性染色体状态、性别决定区域与性别决定基因不尽相同。多样的植物性染色体和性别决定系统为研究植物性别相关基因的形成机制、性别决定区域和性染色体进化提供了极好的机会。随着测序技术的进步和分析方法的提高, 近年来越来越多物种性别决定的相关分子机制得到解析, 并将理论成果应用于提升经济效益与城市环境等实际问题中。本文将从目前的研究现状和方法, 性别决定单、双基因模型的建立, 植物性染色体进化过程等方面进行总结, 对未来植物性别决定的研究提出四点建议: (1)研究方向逐步从基因研究扩展到调控途径研究; (2)从单一物种转向相关科属比较研究; (3)改进现有性别决定基因模型或探索新模型和性别模式物种; (4)加强性别鉴定技术在实际生产中的研发工作。同时探讨性别决定理论研究未来在农业生产、园艺绿化种植中幼苗性别鉴别筛选等方面的应用前景。

关键词: 雌雄异株; 性别决定; 性染色体; 重组抑制; 双基因模型

彭丹, 武志强 (2022) 植物雌雄异株性别决定研究进展. 生物多样性, 30, 21416. doi: 10.17520/biods.2021416.

Peng D, Wu ZQ (2022) Progress on sex determination of dioecious plants. Biodiversity Science, 30, 21416. doi: 10.17520/biods.2021416.

Progress on sex determination of dioecious plants

Dan Peng¹, Zhiqiang Wu^{1,2*}

1 Shenzhen Branch, Guangdong Laboratory of Lingnan Modern Agriculture, Genome Analysis Laboratory of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen, Guangdong 518124

2 Kunpeng Institute of Modern Agriculture at Foshan, Foshan, Guangdong 528200

ABSTRACT

Background & Aims: Sexual differentiation of plants, also known as dioecy, is the phenomenon of the different female and male reproductive organs in different species and individuals. Dioecious species of flowering plants evolved independently into multiple phylogenetic branches, with each expressing different sex chromosome status, sex determination regions and genes for each branch. In this review, we will summarize the current direction of sex determination research in angiosperms, and appropriately prospect the direction of future research.

Progress: We summarized the formation process of the plant sex determining gene model and the evolution of plant sex chromosomes after conducting a literature review. Two types of mutation models for plant sex determination have been proposed: the ‘two-mutations’ model clarifies that the evolution of sex determination requires two mutations, leading to male sterility and female sterility respectively, while the ‘single-mutation’ model is a single mutant gene that regulates and determines both male and female development of the plant. The diversity of plant sex chromosomes and sex determination systems provides an excellent opportunity to study the formation mechanism of plant sex-related genes, sex determination regions, and sex chromosome evolution. The evolution of plant chromosomes started with a pair of autosomes producing sex-determining gene mutations, forming the initial sex chromosomes. With different

收稿日期: 2021-10-19; 接受日期: 2021-12-23

基金项目: 深圳市优秀科技创新人才培养-优秀青年基础研究(STIC: RCYX20200714114538196)和中国农业科学院深圳农业基因组研究所启动资金(SJXW19073)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: wuzhiqiang@caas.cn

<https://www.biodiversity-science.net>

selection pressure between female and male plant individuals, the mutant genes were gradually antagonized, and the recombination inhibition was promoted. Accumulation of repeated elements and inhibition of recombination causes the Hill-Robertson effect, which increases the difference between the two chromosomes and eventually leads to the formation of sex chromosomes. The sex chromosomes of some species gradually evolved from homomorphic chromosomes to heteromorphic chromosomes. In this review, sex-determined regions and genes are sorted out and compared in detail according to currently existing characteristics. At present, most studies on the sex-determining regions and genes of angiosperms are carried out by methods such as genome, transcriptome, and resequencing, and the results are primarily in line with the ‘two-mutations’ or ‘single-mutation’ models. Meanwhile, this review further outlines the application of sex determination research in practical production.

Prospects: We propose four suggestions for future research on sex determination in plants: (1) gradually expanding the sight from gene to the regulatory pathways of research; (2) shifting from a single species to research comparisons of related families and genera; (3) improving and exploring current or new sex-determining gene models or sex-model species; and (4) strengthening the identification technology in actual production research and development efforts.

Key words: dioecious plants; sex determination; sex chromosomes; recombination suppression; ‘two-mutations’ model

花是植物的生殖器官, 分为单性花和两性花。单性花是指只包含雄蕊或雌蕊的花, 两性花是指在一朵花中同时包含雄蕊和雌蕊。一株植物同时具有两种性别的单性花称为雌雄同株(monoecious), 具有两性花的植株称为雌雄同花(hermaphrodite), 只具有单一性别的单性花植株称为雌雄异株(dioecious)。不同类别的植物中, 雌雄异株物种所占的比例不尽相同。苔藓植物谱系中, 68%的苔藓、57%的地钱和40%的角苔植物为雌雄异株(Villarreal & Renner, 2013); 种子植物内存在一个相对较大的差异现象, 即裸子植物已报道的1,033个物种中, 667种都是雌雄异株(Walas et al, 2018); 而在被子植物中雌雄异株较为罕见, 只占有所有被子植物物种的6% (Renner & Ricklefs, 1995)。相比动物而言, 植物的性别分化方式更为复杂。除了雌雄同株、雌雄异株物种外, 还存在雌/雄全同株、雌/雄全异株物种, 即雌雄同株和一种性别分离个体同时存在于一个个体或自然群体中, 以及雌性、雄性个体和两性个体同时存在于一个自然群体的现象(Westergaard, 1958; Spigler et al, 2008)。

雌雄异株物种性别决定的相关研究一直是植物学家研究的热点课题, 根据已有的研究成果不难发现, 被子植物雌雄异株物种广泛分布在不同的进化谱系之中(表1)。已报道的大多数物种为XY型性别系统, 少数为与鸟类相同的ZW型, 这两种不同的性别系统可能存在于同一个科或属的物种中, 如杨柳科(Yang et al, 2021)。另外也存在极少数物种为XO型性别决定系统(Charlesworth, 2019)。随着近年来测序成本的降低和分析技术水平的提高, 利用基

因组学的方法, 已经有多个物种的性别决定区域和基因得到鉴定, 其中被子植物物种包括较早期的蝇子草(*Silene latifolia*) (Sondur et al, 1996; Delph et al, 2010; Kazama et al, 2016; Lorenzo et al, 2018)、番木瓜(*Carica papaya*) (Liu et al, 2004; Wang et al, 2012; Aryal & Ming, 2014)和近几年的芦笋(*Asparagus officinalis*) (Harkess et al, 2017, 2020)、猕猴桃(*Actinidia chinensis*) (Akagi et al, 2018, 2019)、杨树(Müller et al, 2020; Xue et al, 2020; Yang et al, 2021)、大麻(*Cannabis sativa*) (Prentout et al, 2020)等。尽管发现的大多数性别决定基因在相似的激素反应途径中发挥作用, 但基因本身并不相同, 性染色体所处的进化状态差异也非常大, 这种现象说明雌雄异株进化的过程有着许多相互独立的途径(Ming et al, 2011)。

现结合国内外具有代表性和阶段性意义的性别决定研究成果, 从植物性别决定基因模型、植物性染色体进化过程、性别决定区域和基因、性别决定的研究方法以及性别决定研究的实际应用和前景进行综述。

1 双基因和单基因决定模型

开花植物的雌雄异株通常被认为是从雌雄同株或雌雄同花进化而来(Charlesworth, 2016)。一个物种由两性系统转变为性别分离的物种至少需要两个基因突变: 一个突变影响胚珠的产生, 另一个突变则影响花粉的产生(Westergaard, 1958)。Brian Charlesworth和Deborah Charlesworth曾提出一个双基因突变模型假说, 即从常染色体进化到有效的Y

染色体至少涉及到两个基因: 一个是抑雌因子(the suppressor of feminization, SuF)的显性突变, 另一个是导致雄性不育的隐性突变(Charlesworth, 2015)(图1); 并推测在进化过程中, 首先产生雄性不育突变并在群体里传播, 产生分离的雌性个体, 然后出现雌性不育突变, 产生最终的雌雄异株物种(Charlesworth & Charlesworth, 1978)。这种双基因决定性别的设想下, SuF的获得需要具有显性效应的功能增益突变, 以便在杂合子(例如XY异形配子)的雄性中能发挥效应, 后续的许多关于雌雄异株植物的研究都支持植物性别决定的双基因模型。如Harkess等(2017)在园林芦笋性别决定文章中通过基

因组组装鉴别出两个性别决定基因: 一个是潜在的促雄因子(M) *aspTDF1*, 另一个是潜在的抑雌因子(SuF) *SOFF*。Akagi等(2018, 2019)在猕猴桃的性别决定研究中发现了一对基因 *Shy Girl* (*SyGl*)、*Friendly Boy* (*FrBy*), 分别具有促使心皮不育和促进花药生长的功能。

促进雄性或抑制雌性的性别突变会显著降低雌性相关功能的适合度, 即促雄基因和促雌基因之间存在遗传冲突(genetic conflict) (Werren & Beukeboom, 1998), 从而促使多个雄性增益基因连锁遗传。但如果促雄或抑雌突变的产生不降低雌性的适合度, 并且在雄性个体中足够有利, 这种突变

表1 典型代表植物性别决定的研究成果
Table 1 Results of sex determination of representative plants

类群 Taxon	物种 Species	性别决定系统 Sex determination system	性别决定区域或基因 Sex-linked region or genes	同源基因或家族 Ortholog gene or family	参考文献 Reference
苔藓植物 Bryophyte	地钱 <i>Marchantia polymorpha</i>	XY	14个雄性特异性基因 14 male-specific genes	–	Yamato et al, 2007
裸子植物 Gymnosperm	银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	ZW	<i>GbMADS18</i> , <i>Gb_15883</i> , <i>Gb_15884</i> , <i>Gb_15885</i> , <i>Gb_15886</i> , <i>Gb_28587</i>	<i>MADS-box</i> (<i>GbMADS18</i>), <i>RR12</i> (<i>Gb_15883</i>), <i>RR2</i> (<i>Gb_15884</i>), <i>ELF6</i> (<i>Gb_15885</i>), <i>AtBAT1</i> (<i>Gb_15886</i>), <i>AGL8</i> (<i>Gb_28587</i>)	Zhang et al, 2019; Liao et al, 2020
被子植物 Angiosperm	番木瓜 <i>Carica papaya</i>	XY	MSY4–5Mb, HSY8.1 Mb, XSY3.5 Mb	–	Liu et al, 2004; Wang et al, 2012
	菠菜 <i>Spinacia oleracea</i>	XY	4号连锁群 LG4 (66.98–69.72 cM and 75.48–92.96 cM)	–	Qian et al, 2017; She et al, 2021
	杨梅 <i>Myrica rubra</i>	ZW	59 kb 8号染色体雌性特异性片段 59 kb female-specific region on chromosome 8	–	Jia et al, 2019
	大麻 <i>Cannabis sativa</i>	XY	性染色体 Sex chromosomes	–	Prentout et al, 2020
	蝇子草 <i>Silene latifolia</i>	XY	<i>SIAP3</i> , <i>SISTM</i> , <i>SICUC</i>	<i>AP3</i> (<i>SIAP3</i>), <i>STM</i> (<i>SISTM</i>), <i>CUC1/CUC2</i> (<i>SICUC</i>)	Zlucvova et al, 2006; Cegan et al, 2010
	草莓 <i>Fragaria virginiana</i>	ZW	<i>GMEW</i> , <i>RPP0W</i>	GDP-mannose 3,5-epimerase 2 (<i>GMEW</i>), 60S acidic ribosomal protein P0 (<i>RPP0W</i>)	Charlesworth, 2013; Tennessen et al, 2018
	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>	XY	<i>VviINP1</i> , <i>VviYABBY3</i>	<i>INP1</i> (<i>VviINP1</i>), <i>YAB1</i> (<i>VviYABBY3</i>)	Massonnet et al, 2020
	君迁子 <i>Diospyros lotus</i>	XY	<i>MeGI</i> , <i>OGL</i>	<i>HB40</i> (<i>MeGI</i>)	Akagi et al, 2020; Xue et al, 2020
	芦笋 <i>Asparagus officinalis</i>	XY	<i>SOFF</i> , <i>aspTDF1</i>	<i>DUF247</i> (<i>SOFF</i>), <i>TDF1</i> (<i>aspTDF1</i>)	Harkess et al, 2017, 2020
	猕猴桃 <i>Actinidia chinensis</i>	XY	<i>SyGl</i> , <i>FrBy</i>	<i>ARR24</i> (<i>SyGl</i>), <i>FAS1</i> (<i>FrBy</i>)	Akagi et al, 2018, 2019
	杨树 <i>Populus deltoides</i> , <i>P. tremula</i> , <i>P. alba</i>	XY, ZW	<i>FERR-R</i> , <i>FERR</i> , <i>MmS</i> , <i>ARR17</i>	<i>ARR17</i>	Müller et al, 2020; Xue et al, 2020
	柳树 <i>Salix purpurea</i> , <i>S. triandra</i>	ZW	<i>RR</i>	<i>RR9/ARR17</i>	Li et al, 2020; Zhou et al, 2020

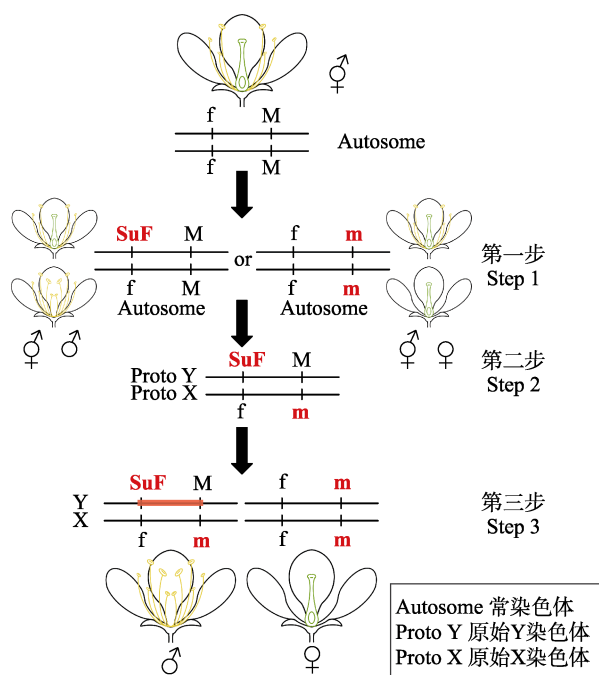


图1 双基因性别决定模型(改编自Charlesworth (2015))。
Step 1: 物种某对常染色体其中一条获得某种性别不育基因突变; **Step 2:** 另一条染色体获得对应另一种性别不育基因的突变, 形成性染色体前体; **Step 3:** 不育基因形成连锁, 性染色体初步形成。其中f→SuF为显性突变, M→m为隐性突变, **Step 3**中Y染色体阴影部分为不育基因形成连锁。
 Fig. 1 Sex determination genes of 'two-mutations' model (adapted from Charlesworth (2015)). Step 1: One of a pair of autochromosomes has acquired a mutation of a certain sex-sterile gene; Step 2: The other one autochromosome gains the mutation corresponding to another sex sterile gene, forming the precursor of sex chromosome; Step 3: Sterility genes are linked and sex chromosomes are preliminarily formed. 'f' to 'SuF' is a dominant mutation, and 'M' to 'm' is a recessive mutation. The shaded part of Y chromosome in Step 3 represents the linkage of sterile genes.

即使不与雌性相关基因发生连锁, 也可以在群体中传播, 产生单基因性别决定系统(Charlesworth, 2015)。单基因性别决定系统的植物如二倍体君迁子(*Diospyros lotus*), 性别决定由*OGI*控制, 当其存在时植株发育为雄性, 不存在的则发育为雌性(Akagi et al, 2014)。另外, 在已经形成的性别决定系统中, 新出现的性别突变基因可能取代原有的性别决定基因, 形成新的单基因决定系统(Charlesworth, 2012)。在被子植物雌雄异株进化的众多起源假设中, 单基因和双基因的性别决定模型之间并不冲突。

2 植物性染色体的进化

对许多动物和植物的研究均发现, 性染色体之

间存在不同程度的遗传和结构差异, 这些差异的形成被认为是一个逐步进化的过程(Charlesworth, 1991), 理论预测下性染色体是通过两个互补的显性连锁基因从祖先的常染色体连续突变进化而来(Charlesworth & Charlesworth, 1978; Charlesworth, 2013)。由于植物性别存在多种起源, 在不同的谱系位置独立进化, 几乎包含了所有进化阶段的性染色体类型与性染色体系统, 使得植物在性染色体进化研究中占有非常重要的地位。

首先, 如上文描述的双基因突变模型或者单基因模型, 雌雄同花植物的某一对常染色体上(图2a)分别产生性别决定基因, 一条染色体携带产生雌性不育的等位基因, 对应的另一条染色体携带产生雄性不育的等位基因(图2b) (Ming et al, 2011)。例如, Spigler等(2008)对于八倍体草莓(*Fragaria virginiana*)的性别决定研究显示, 草莓常染色体上发生了基因突变, 产生控制雄性性状的Aa等位基因以及控制雌性性状的Gg等位基因, 此时的性别决定基因并未稳定连锁, 与常染色体对应的区域重组时产生雌雄同株和不育个体。

由于两性存在不同的生殖策略, 它们对于不同性状产生的选择压力也不同甚至相反, 一些在一种性别中有益的等位基因在另一种性别中可能是有害的(Werren & Beukeboom, 1998), 在遗传冲突的影响下逐渐累积这些性拮抗突变基因, 这个过程促进重组抑制(recombination suppression)的形成(Charlesworth et al, 2005)。随后, 性别决定基因之间产生连锁, 重组抑制由性别决定基因位点逐渐往性拮抗突变基因方向扩散, 形成早期染色体的性别决定区域(sex determined region, SDR) (图2c), 重组抑制是两条性染色体开始发生遗传分化的必要条件(Charlesworth et al, 2005)。此时尚未有明确的X (Z)、Y (W)染色体之分。以芦笋为例, 该物种的XY染色体在细胞学上是同形的, 存在XX、XY、YY三种染色体类型的个体。Harkess等(2017)对芦笋的研究发现其Y染色体存在一段约1 Mb的非重组区域, 且YY个体中的13个雄性特异性基因中的12个位于该非重组区域, 这些基因在雌性个体中(XX)未能鉴别出来。

随着越来越多的对维持一种性别有利的基因在性别决定基因附近被选择固定, 性别决定区域逐

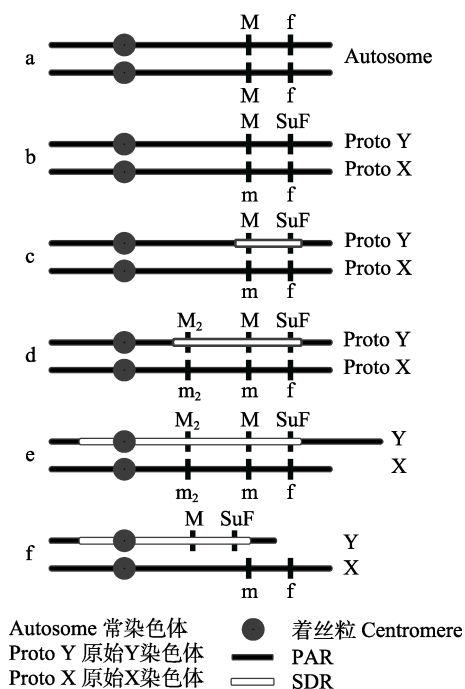


图2 性染色体进化推论(改编自Ming et al (2011))。a, 常染色体; b, 两个性别决定基因形成; c, 性别决定基因连锁, 形成初步性别决定区域; d, 更多性别相关基因连锁, 性别决定区域扩大; e, 由于重复序列累积, Y染色体增长; f, Y染色体退化; PAR, 拟常染色体区域; SDR, 性别决定区域; f→SuF为显性突变, M→m为隐性突变; M₂→m₂为雄性功能基因的隐性突变。

Fig. 2 Sex chromosome evolution corollary (adapted from Ming et al (2011)). a, Autosomes; b, Two sex-determining genes are formed; c, Sex determination genes are linked, forming a preliminary sex determination region; d, More sex related genes are linked, and the sex-determined region expands; e, The Y chromosome increases due to the accumulation of repeated sequences; f, Y chromosome degeneration; PAR, Pseudoautosomal regions; SDR, Sex-determined area. 'f' to 'SuF' is a dominant mutation, and 'M' to 'm' is a recessive mutation. 'M₂' to 'm₂' is a recessive mutation of another male functional gene.

渐扩大, 出现重复元件的积累和基因组片段的复制或易位, 从而重组抑制被进一步加强, 导致性拮抗基因和性别决定基因座之间完全连锁(图2d)。由于重组抑制引起的希尔罗伯森效应(Hill-Robertson effect)使得Y染色体逐渐退化, 丢失部分X染色体上的基因逐渐形成性别特异性区域, 这个过程可能导致YY个体致死(Ming et al, 2011)。此阶段的XY染色体间虽然存在染色体结构上的差异, 但在细胞学上无法被检测, 依旧是同型的。2004年Liu等人关于番木瓜的性别研究发现, 番木瓜的性别受到3种等位基因控制: M雄性、M^h两性和m雌性, 但MM、MM^h以及M^hM^h致死, 对其性别特异性区域的重复元件

进行分析发现, 雄性特异性区域(male-specific region)比常染色体区域的反向元件密度高27.6%, 比反向重复序列密度高188.9% (Liu et al, 2004), 说明在番木瓜的性染色体中, 雄性特异性区域与对应染色体区域的重组受到严重抑制。

重复序列的不断积累使得Y染色体的重组抑制逐渐扩展到染色体的大多数区域, 致使XY染色体异形, 在结构、功能和基因密度上出现较大差异(图2e)。与哺乳动物较为短小的Y染色体不同, 开花植物性别分化出现较晚, Y染色体积累的大量重复序列和转座子导致其形态比常染色体还要长。如对叉枝蝇子草(*Silene latifolia*)的性别相关研究发现, 其XY染色体在约10 Mya出现分化, 两条染色体大小相差很大, 其中Y染色体长度约为X染色体的1.4倍。Y染色体上的非重组区域占整条染色体的绝大部分, 拟常染色体区域(pseudoautosomal regions, PAR)的长度仅占其总长的10%。两条染色体都累积了各种转座子和卫星DNA, 并在组蛋白修饰和DNA甲基化方面存在明显的区别(Bačovský et al, 2020)。

但是在植物中, Y染色体长度上的积累并不是一定发生的。在性染色体形成较早的裸子植物苏铁中, Abraham和Mathew (1962)发现了类似人类Y染色体相同进化状态, 丢失了一定序列片段形成短小的Y染色体。除XY (ZW)性别系统外, 酸模(*Rumex acetosa*) (Westergaard, 1958)中也发现了类似昆虫的性别决定系统, 即Y染色体不参与性别决定, 而是由X染色体与常染色体的比例决定个体性别。

3 性别决定区域和基因

3.1 性别决定区域研究

从雄性或者雌性材料中鉴定出每种植物中的性别特异性区域是研究性别决定的起点和关键步骤, 从已发表的文章来看, 该策略也是目前常用的有效策略之一。

番木瓜是研究性别决定的模式植物, 也是最早研究植物性别的物种之一。从20世纪40年代开始到60年代, 关于番木瓜性别决定的重要理论成果被相继提出, 由Storey (1953)先后发现修正, 并最终确认番木瓜性别决定为经典的XX-XY型, 雄性、雌性与两性的基因型分别为XY、XX和XY^h, 其中Y染

染色体上有个致死区域, Y^h 为Y染色体的突变体, 且木瓜的性别决定受性染色体上狭窄范围内一段序列中的多个基因控制(Ming et al, 2007)。随着遗传图谱和分子标记等技术运用于性别决定研究, Sondur等(1996)利用RAPD分子标记技术建立了一个由11个连锁群组成, 总长为999.3 cM的分子遗传连锁图谱, 其中将性别决定基因定位于两个遗传距离为14 cM的标记之间。Liu等(2004)利用AFLP分子标记技术建立了一个含有1,501个标记的高密度分子遗传连锁图谱, 结合BAC文库和SCAR标记技术估计出番木瓜雄性特异性区域(male-specific region of Y chromosome, MSY)长度大约为4–5 Mb, 且证实了该区域拥有高重复、非重组、快速进化的特征。Wang等(2012)通过BAC克隆与组装技术组装了番木瓜 Y^h 两性染色体的特异性区域(hermaphrodite-specific region of Y^h chromosome, HSY)和对应的X染色体特异性区域, 分别得到8.1 Mb和3.5 Mb的两段序列, 其中HSY序列由于反转录转座子插入, 长度比X染色体对应序列更长, 且存在两个大规模的倒位现象。番木瓜Y染色体特异性区域仅占染色体长度的10%左右, 是一个处于进化早期阶段的性染色体类型, 对番木瓜性染色体的研究可以探究染色体进化早期可能发生的事件, 为植物性别研究提供了非常丰富的理论和实践价值。

除番木瓜之外, 其他多种植物性别特异性区域的研究成果也先后被发表。菠菜(*Spinacia oleracea*)是一种广泛种植的叶菜类蔬菜, 早期的研究鉴定出其为XY性别决定系统, 雄性为XY, 雌性为XX(Janick & Stevenson, 1954)。Qian等(2017)基于SLAF-SEQ技术构建出菠菜的高密度遗传图谱, 并将性别决定基因定位于LG4 (66.98–69.72 cM和75.48–92.96 cM)处。随后She等(2021)根据10份重测序数据(雄性5株, 雌性5株), 在4号染色体上鉴定出一个约21 kb的雄性特异性区域(MSY)。同时开发出一个KASP标记SponR, 能够成功鉴定出菠菜不同基因型的植株。杨梅(*Myrica rubra*)是重要的水果类经济作物, Jia等(2018)采用混合二代和三代测序组装技术分别组装出雌性和雄性的基因组, 分别结合100个雌株和100个雄株混池测序以及3个雌株和3个雄株重测序, 检测到一段约为59 kb的雌性特异性区域(female-specific region, FSR), 并在FSR区域

筛选到了杨梅性别决定候选基因。芦笋的性别决定位点M被定位在5号染色体上一段0.25 cM的区域中(Harkess et al, 2017)。野生型葡萄(*Vitis vinifera*)的性别决定区域在2006年被定位到2号染色体上(Riaz et al, 2006)。随后Picq等(2014)精确到2号染色体一段154.8 kb的区域内。Prentout等(2020)利用RNA测序技术鉴定出超过500个性别连锁基因并将其比对至大麻基因组, 鉴别出大麻性染色体, 并在X染色体上鉴定出一段特异性序列, 根据性别连锁基因分析得出大麻的Y染色体已经严重退化, 可能为目前已知的最古老的植物性染色体系统。

3.2 性别决定基因研究

随着测序技术和分析手段不断优化, 以及前人研究成果的铺垫, 越来越多的植物性别研究逐渐深入到筛选和鉴别具体的性别决定基因上。Takashi Akagi课题组在植物性别决定研究上取得了许多成果。2014年该组研究人员结合转录组和进化的方法在君迁子中发现了一个Y特异性性别决定候选基因OGI (Akagi et al, 2014), 该基因在柿属(*Diospyros*)中比较保守, 编码一个可特异性剪切常染色体上MeGI基因的小RNA。在OGI存在的情况下, 编码的小RNA靶向MeGI抑制其表达, 抑制雌花发育, 促进雄花发育; 而雌花中不存在OGI基因时, MeGI正常表达, 抑制雄花发育, 促进雌花发育。后对六倍体君迁子的研究发现, 在OGI启动子区域插入一个长268 bp的Kali转座子元件可导致甲基化程度发生变化, 从而影响OGI的功能(Akagi et al, 2016)。2020年研究人员完成了一个完整君迁子基因组的组装, 通过进化分析得知该物种与猕猴桃属(*Actinidia*)分化后发生了一次谱系特异性的全基因组复制事件, 并提供了Y染色体的详细结构信息。同时鉴定出一个新的MeGI姐妹基因SiMeGI, 确定了3个基因MeGI、OGI和SiMeGI的旁系同源关系。进化分析还表明, MeGI基因在全基因组复制事件后经历了一次适应性进化突变, MeGI特异性地获得了一种抑制雄性器官发育的新功能, 而SiMeGI则可能保持了原有的功能。随后一个局部复制事件在Y染色体上产生了MeGI的调节因子OGI, 完成了雌雄异株的进化, 可能也由此导致Y染色体的形成(Akagi et al, 2020)。该课题组另一个研究物种猕猴桃的性别决定基因也得到鉴别, 2018年研究人员结合基因组测序和转

录组分析鉴定到一个C类细胞分裂素响应调控子(type-C cytokinin response regulator), 作为猕猴桃潜在的一个性别决定基因, 在拟南芥和烟草中的功能转基因分析显示该基因是心皮发育的显性抑制子, 命名为*SyGI* (Akagi et al, 2018)。他们对几个猕猴桃属物种的进化分析表明, *SyGI*定位于基因组Y染色体特异的区域, 可能起源于支系特异性的基因复制事件, 其同源基因*Achn384741*与*SyGI*编码功能相同的蛋白, 但表达部位为嫩叶, 与*SyGI*完全不同。可能由于转录组取样时间过早导致花发育时期涵盖不完全, 此次研究并未发现促雄基因。2019年该课题组再次鉴定到了Y染色体上编码的另外一个控制猕猴桃性别决定的促雄基因*FrBy*, 且独立于*SyGI*基因。相关的重测序研究发现由于Y染色体上*SyGI*基因的缺失, 一个含有*FrBy*基因的群体均为雌雄同花个体。同时, 在雌性猕猴桃中表达*FrBy*基因也能够获得雌雄同花的猕猴桃个体(Akagi et al, 2019)。该课题组的两种不同研究结果均显示性别决定基因由基因复制事件产生, 说明这个过程可能是植物性别决定基因进化的重要途径, 并且恰好与早期提出的单基因与双基因模型吻合。

2017年Harkess等人完成了YY芦笋染色体的组装, 并找到了Y特异性区域, 完成了对*SOFF*基因和*aspTDF1*基因的寻找和鉴别(Harkess et al, 2017), 但*aspTDF1*基因的功能没有在所有雌雄异株的芦笋上起作用。2020年该课题组进行了XX的姊妹个体基因组组装, 鉴别到一段163 kb的X特异性区域(Harkess et al, 2020), 该区域两端序列与Y特异性区域序列相似, 并通过共线性分析排除了移位倒位现象。研究发现*SOFF*和*aspTDF1*没有在XX个体或是X同源区域中表达, 根据之前的研究推测*aspTDF1*可能是一个性别决定的分子基础, 处于进化阶段。后对*SOFF*和*aspTDF1*进行功能验证, 发现确实是两个性别决定基因, 推测*aspTDF1*可能不是唯一的雄性性别决定基因, 或许存在多个促雄性性别决定基因的起源。Müller等(2020)对两类性别决定区域位置有差异的杨属(*Populus*)植物使用组装Y染色体和重测序鉴定出*ARR17*基因, 该基因发生不同位置的反向重复从而通过RNA介导DNA甲基化的过程决定杨树性别。随后, Yang等(2021)结合以往多个杨柳科的研究成果, 发现杨柳科植物性染色体上都存在编码

A型细胞分裂素响应调控因子(type-A cytokinin response regulator, *RR*)的同源序列, 并提出了杨柳科植物性别系统频繁转换的分子遗传学普适模型, 即通过*RR*反向重复片段形成siRNA, 介导*RR*完整基因的甲基化修饰和转录沉默, 从而控制其发展形成XY性别决定系统; 而*RR*反向重复片段的丢失或去功能化, 则导致形成ZW性别决定系统。关于葡萄的研究, Massonnet等(2020)通过对8个葡萄品种进行组装和测序, 解析了20个葡萄的性别决定区域(SDR)单倍型, 明确了葡萄的SDR边界, 并将其分成了F、M和H 3种单倍型, 同时鉴别出*VviINP1*基因和转录因子*VviYABBY3*分别作为雄性和雌性不育的候选基因。

通过这些物种具体性别决定基因的研究不难发现, 虽然这些基因最终表型大多为雄蕊或心皮不育, 但其发育的基因和停滞时期各不相同, 这些雌雄异株植物所在的系统发育位置也较为分散, 染色体发育阶段也大不相同, 说明植物的性别进化在不同的植物谱系中独立演化, 发生的机制也存在差异。同时也进一步说明后续需要在更多的植物类群中进行更详实的性别决定研究。

4 性别决定的研究方法

随着性别决定研究的深入, 解析性别决定的方法也越来越多。特别是测序成本、技术和方法的快速发展, 使得人们可以更快更准地了解到植物性别决定的区域、机理和成因。目前, 可以应用到该领域的技术方法主要包括分子标记技术以及测序组装技术。

4.1 分子标记技术

早期的性别决定研究手段主要为各种DNA分子标记技术。作为一类基础的分子生物学技术, DNA分子标记技术主要包括: 随机扩增多态性DNA (random amplified polymorphism DNA, RAPD) 标记、序列特异性扩增区(sequence-characterized amplified region, SCAR)标记、扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)标记、酶切扩增多态性序列(cleaved amplified polymorphism sequences, CAPS)标记和限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)标记等。

RAPD是早期最广泛应用于植物性别相关研究的标记手段之一, 基于DNA指纹差异, 利用PCR技术, 可以进行多态位点筛选, 寻找和识别性别特异性标记从而鉴定植物性别。该标记技术拥有操作简单、实验设备要求低、花费少等优点, 但由于实验中需要经历复杂的引物筛选过程, 且RAPD标记对实验条件比较敏感, 同时实验结果难重复, 缺乏可靠性。SCAR标记是在RAPD标记的基础上发展起来的, 在反应敏感度、重复性上较RAPD标记表现更好, 现在研究分析通常利用引物将RAPD标记转化为更稳定的SCAR标记, 以获得更多的信息位点。目前雌雄异株植物性别连锁的RAPD标记和转化后的SCAR标记在许多物种, 如番木瓜、大麻、猕猴桃、芦笋等的早期性别决定中均有应用报道。RFLP标记是一种杂交分子标记技术, 是最早期发展的DNA分子标记之一, 利用探针杂交检测不同个体基因组中限制性内切酶酶切位点的突变, 从而比较不同个体DNA水平上的差异, 应用于遗传图谱的构建和基因定位等研究。但该技术操作繁琐、花费较高, 应用受到极大限制。AFLP标记技术是基于RAPD和RFLP技术发展而来, 结合二者高重复性和操作简便的优点, 避免了制备探针、敏感性差等缺点, 该技术能够同时检测大量的遗传位点和多态性标记, 广泛应用于植物性别鉴定的研究中。

早期分子标记为性别决定研究开通了一条全新的道路, 但分子标记技术仅能得到各标记基因之间的距离, 还需结合其他研究手段才能粗略估计染色体大小和性别决定区域长短。总体来说, 早期分子标记技术缺乏一定的精度, 无法对上下游基因和整体代谢通路进行研究。

4.2 基因组、转录组测序和组装

细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome, BAC)克隆组装技术是早期研究性别特异性区域相对精确的手段, 该技术的发明是基因组研究中一个较大且重要的转折点, 由此研究人员对性别决定的探索由性别决定区域逐渐转向关键基因的挖掘。

随着测序技术的发展, 基因组相关的二代、三代测序和组装技术逐渐应用于研究, 越来越多的植物物种性别决定相关机制得到解析。猕猴桃是经典的利用二代测序和组装技术研究植物性别决定的物种(Akagi et al, 2018, 2019)。研究人员结合二代基

因组和转录组测序, 将基因组和转录组测序数据(reads, 150 bp)分别打断成更小的30 bp和35 bp的Kmer片段, 筛选含有雄性个体特有Kmer片段的reads进行组装。随后将组装好的重叠群(contigs)比对到已有的雌性猕猴桃参考基因组上, 通过相似性将contigs分为Y染色体特异重叠群(Y-specific contigs)、Y染色体等位基因完全连锁重叠群(Y-allelic fully sex-linked contigs)和Y染色体等位基因部分连锁重叠群(Y-allelic fully sex-linked contigs), 同时将Y特异性contigs进一步组装成一段约为0.49 Mb的MSY序列。结合基因组、转录组contigs基因结构注释和差异表达分析筛选出2条雄性特异性contigs的61个基因, 进一步根据表达部位和个体差异现象确定了1个编码C型细胞分裂素反应调节因子的候选基因, 命名为*SyGl*。后续功能验证证实了该基因为猕猴桃性别决定基因中的抑雌基因。该课题组另外的研究也通过转录组数据用相同方法发现猕猴桃的促雄基因*FrBy*, 并利用Y染色体组装注释和基因表达进一步佐证*SyGl*和*FrBy*是猕猴桃的两个性别决定基因。二代测序的低成本、高通量和高准确性的特性使植物性别决定的研究速度有了质的提升, 但受限于固定且较短的插入片段长度, 使得测序数据在重复序列方面的组装效果稍有欠缺。三代测序则弥补了二代读长短的缺陷, 测序reads长度可以跨越大部分重复区域, 在重复序列部分可以组装得更加完整, 有利于后续对重复序列部分的分析。XY性别系统和ZW系统在杨柳科内反复转换的模型被证明与RR基因复制插入染色体的不同位置有关, 而杨属内RR基因的插入则可能由Helitron转座子和类Copia转座子片段的插入捕获部分RR基因, 从而驱动RR基因的复制和插入(Yang et al, 2021), 而这都得益于三代长片段测序技术的发展和组装。

重测序技术测序和全基因组关联分析也是鉴别定位植物性别决定基因的方法之一, 通过对群体在全基因组范围内的遗传变异位点与表型进行关联分析, 筛选与性状显著相关的变异位点从而定位基因。美洲黑杨(*Populus deltoides*)的性别相关研究中, 研究人员利用49个雌株和46个雄株进行重测序, 以雌性*P. deltoides*个体和其F2代雄性个体组装的两个基因组为参考基因组, 分别进行全基因组关联分

析,定位到*TCP*、*CLC*、*MET1*、*FERR*、*FERR-R*和*MmS*这几个基因中,后结合转录组等技术进一步确定*FERR-R*是抑雌基因,产生siRNAs抑制*FERR*的雌性功能,而*MmS*则能够促进雄性功能表达(Müller et al, 2020)。由此可见,测序技术和方法的发展正在加速植物性别决定的解析步伐,会有越来越多具有不同性别系统的机制被解析出来。

5 性别决定研究的实际应用和前景

雌雄异株植物由于性别差异,其群体性别比例与经济价值和应用方向有着直接的关系。以果实种子为主要经济来源的植物,提高其雌性植株占比可以大大增加产量以提升经济价值,如猕猴桃、黄瓜等瓜果蔬菜,需通过提高雌株(雌花)的比例从而提高产量;而主要收获营养器官,或是用于各种行道树、景观绿化的植物使用更多的是雄性个体,这种类型的物种应提高雄性个体比例从而获得更高的经济价值,如杨树、柳树等,通过筛选雌树减少杨絮柳絮的产生。而许多植物幼生期较长,在开花前的营养期雌雄株差异并不十分明显,若通过花器官鉴别植物性别则存在耗时长、效率低等问题,所以在幼生期鉴定雌雄异株植物性别则显得尤为重要。

目前在生产实践中已有许多方法可以进行植株雌雄性别鉴定。部分植物不同性别的个体在外观上存在一定的差异,通过形态差异鉴别植株性别是最为方便快捷的方法之一。陶应时等(2013)对连香树雌雄株叶片形态的比较研究发现,雄株的叶长、叶宽、叶片表面积、叶片的鲜质量和干质量等指标均显著高于雌株叶片。部分植物性别不同,其酶活力、次生代谢物和内源激素水平方面存在较为明显的差异。李国梁等(1993)利用HPLC色谱图分别对杨梅、猕猴桃和银杏(*Ginkgo biloba*)进行水溶性酚类含量测定,发现银杏雌株的咖啡酸和某种未知酚类的相对含量比雄株高;杨梅和猕猴桃的水溶性酚类含量存在显著差异,雌株酚类含量显著高于雄株,且在猕猴桃中表现更为明显,并利用水溶性酚类总量将大多数实生苗鉴定出性别。王白坡等(1999)发现银杏芽尖及叶片中的GA3、ZT、IAA和ABA在雌株和雄株间均有较为明显的差异。但生理生化指标容易受到各种客观条件的影响,例如环境、取样时间、取样部位等,准确性容易受到干扰。傅力等(2019)

根据同种植物雌雄株叶片中化学成分不同引起的电化行为差异鉴定部分植物的性别。还有多种其他方法,例如同工酶图谱鉴别、染色体组鉴别、化学药剂处理鉴别等已投入实际应用中。

随着研究越来越深入,鉴别植物性别的方法逐渐从外形、蛋白质、激素等方向转向染色体和DNA序列层面。王白坡等(1999)发现银杏雌雄株除了在内源激素方面存在差异外,核酸含量在不同性别的个体中也不同。Hormaza等(1994)运用RAPD标记技术在阿月浑子(*Pistacia vera*)中找到一段945 bp雌性特异性区域标记。She等(2021)在菠菜中从与MSR紧密连锁的SNP (T/A)中开发了一个KASP标记SponR,并对958个个体(475个雌株,483个雄株)进行了检测,成功将XX、XY和YY 3种基因型区分开来。但由于不同植物种类间存在较大差异,许多雌雄异株物种幼生期在外形上无区别,差异代谢物检测困难或其他方面的原因,致使目前的植物性别鉴定方法不具有普适性,许多未开展研究或是研究基础比较薄弱的物种依旧无法区分植株性别。而基因组学的发展将可以加速植物雌雄特异序列的开发,进而研发快速有效的分子标记进行不同性别个体的精准鉴定。

6 展望

性别决定被称为“达尔文之谜”,一直以来是植物进化研究的重点方向。雌雄异株在植物谱系中拥有很多相互独立的进化途径,测序技术水平的提高,为雌雄异株进化过程的理论模型建立提供了较为可靠精细的支撑结果,从而验证及突显了性别决定机制的多样性(Charlesworth & Charlesworth, 1978)。对不同雌雄异株物种的性别决定基因和候选基因进行初步的比较分析,证实近缘的科、属物种有着不同的性别决定基因的起源,以及相似的基因和途径被重复用于雌雄异株的独立进化,尤其是细胞分裂素相关基因似乎在几个雌雄异株物种的性别决定中都十分重要。但目前大多数研究仅停留在鉴别出单个物种具体的某个或者某些性别决定基因,缺乏后续功能验证和对应调控通路的解析,需要进一步深入挖掘。新兴的HiFi和超长ONT三代测序技术,以及基因编辑、多组学研究方法在近年来迅速成为鉴定性别决定基因和雌雄异株进化潜在遗传机制

的热门技术, 未来几年必然会出现更多雌雄异株植物的性别决定相关研究结果, 研究重点可能会逐渐向性别决定基因的上下游基因以及整体调控通路方向延展。同时, 对于多次独立起源这一进化特征, 后续研究可以将聚焦点从单一物种逐步转向同科属物种, 或是具有相同、相近基因家族的性别决定基因以及同一调控通路上下游基因的物种, 从而扩大研究类群, 挖掘雌雄异株进化过程中的异同性, 解析基因组特征。随着更多物种研究结果的发表或许可以对现有模型进行补充和完善, 也可能探究出新的植物性别研究模式物种。

植物性别决定机制和进化的研究不仅为染色体进化和花发育提供了生物学理论见解, 也可以为农业方面研发作物增产技术提供理论基础, 从而获得更高的经济收益。但目前对于雌雄异株植物性别鉴别方法的相关研究略显不足, 已有的雌雄个体物种鉴别手段大多是早期研发, 主要是利用外形、代谢物等生理生化指标进行辨别, 且部分鉴别方法易受个体和环境差异影响。近期的成果多为理论基础研究, 仅有极少数的物种, 获得了合适的分子标记应用于区分不同的雌雄个体。未来的研究方向应当将理论成果多与实际生产相结合, 积极开发和推广雌雄个体筛选的分子标记技术以及其他鉴别技术的应用。

ORCID

武志强  <https://orcid.org/0000-0002-4238-7317>

参考文献

- Abraham A, Mathew PM (1962) Cytological studies in the cycads: Sex chromosomes in *Cycas*. *Annals of Botany*, 26, 261–266.
- Akagi T, Henry IM, Kawai T, Comai L, Tao R (2016) Epigenetic regulation of the sex determination gene MeGI in polyploid persimmon. *The 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. *The Plant Cell*, 30, 780–795.
- Akagi T, Henry IM, Tao R, Comai L (2014) Plant genetics. A Y-chromosome-encoded small RNA acts as a sex determinant in persimmons. *Science*, 346, 646–650.
- Akagi T, Pilkington SM, Varkonyi-Gasic E, Henry IM, Sugano SS, Sonoda M, Firl A, McNeillage MA, Douglas MJ, Wang T, Rebstock R, Voogd C, Datson P, Allan AC, Beppu K,

- Kataoka I, Tao R (2019) Two Y-chromosome-encoded genes determine sex in kiwifruit. *Nature 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 Genetics*, 16, e1008566.
- Aryal R, Ming R (2014) Sex determination in flowering plants: Papaya as a model system. *Plant Science*, 217/218, 56–62.
- Báčovský V, Čegan R, Šimoníková D, Hřibová E, Hobza R (2020) The formation of sex chromosomes in *Silene latifolia* and *S. dioica* was accompanied by multiple chromosomal rearrangements. *Frontiers in Plant Science*, 11, 205.
- Cegan R, Marais GA, Kubekova H, Blavet N, Widmer A, Vyskot B, Dolezel J, Safár J, Hobza R (2010) Structure and evolution of *Apetala3*, a sex-linked gene in *Silene latifolia*. *BMC Plant Biology*, 10, 180.
- Charlesworth B (1991) The evolution of sex chromosomes. *Science*, 251, 1030–1033.
- Charlesworth B, Charlesworth D (1978) A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*, 112, 975–997.
- Charlesworth D (2012) Plant sex chromosome evolution. *Journal of Experimental Botany*, 64, 405–420.
- Charlesworth D (2013) Evolution of Sex Chromosomes in Plants. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0025144>.
- Charlesworth D (2015) Plant contributions to our understanding of sex chromosome evolution. *New Phytologist*, 208, 52–65.
- Charlesworth D (2016) Plant sex chromosomes. *Annual Review of Plant Biology*, 67, 397–420.
- Charlesworth D (2019) Young sex chromosomes in plants and animals. *New Phytologist*, 224, 1095–1107.
- Charlesworth D, Charlesworth B, Marais G (2005) Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. *Heredity*, 95, 118–128.
- Delph LF, Arntz AM, Scotti-Saintagne C, Scotti I (2010) The genomic architecture of sexual dimorphism in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Evolution*, 64, 2873–2886.
- Fu L, Zheng YH, Wu MY, Han FG, Gu YH, Zhang HW (2019) A Method for Identifying the Sex of A Dioecious Plant. CN109655519A. Released date: 20190419. (in Chinese) [傅力, 郑玉红, 吴梦瑶, 韩福贵, 顾永华, 张怀伟 (2019) 一种雌雄异株植物的性别鉴定方法. CN109655519A. 发布日期: 20190419]
- Harkess A, Huang K, van der Hulst R, Tissen B, Caplan JL, Koppula A, Batish M, Meyers BC, Leebens-Mack J (2020) Sex determination by two Y-linked genes in garden Asparagus. *The Plant Cell*, 32, 1790–1796.
- Harkess A, Zhou J, Xu C, Bowers JE, van der Hulst R, Ayyampalayam S, Mercati F, Riccardi P, McKain MR, Kakrana A, Tang H, Ray J, Groenendijk J, Arikiti S,

- Mathioni SM, Nakano M, Shan H, Telgmann-Rauber A, Kanno A, Yue Z, Chen H, Li W, Chen Y, Xu X, Zhang Y, Luo S, Chen H, Gao J, Mao Z, Pires JC, Luo M, Kudrna D, Wing RA, Meyers BC, Yi K, Kong H, Lavrijsen P, Sunseri F, Falavigna A, Ye Y, Leebens-Mack JH, Chen G (2017) The asparagus genome sheds light on the origin and evolution of a young Y chromosome. *Nature Communications*, 8, 1279.
- Hormaza JI, Dollo L, Polito VS (1994) Identification of a RAPD marker linked to sex determination in *Pistacia vera* using bulked segregant analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 89, 9–13.
- Janick J, Stevenson EC (1954) A genetic study of the heterogametic nature of the staminate plant in spinach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 63, 444–446.
- 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 (2018) The red bayberry genome and genetic basis of sex determination. *Plant Biotechnology Journal*, 17, 397–409.
- Kazama Y, Ishii K, Aonuma W, Ikeda T, Kawamoto H, Koizumi A, Filatov DA, Chibalina M, Bergero R, Charlesworth D, Abe T, Kawano S (2016) A new physical mapping approach refines the sex-determining gene positions on the *Silene latifolia* Y-chromosome. *Scientific Reports*, 6, 18917.
- Li GL, Lin BN, Shen DX (1993) Sex identification of horticultural dioecious plants by phenolics analysis. *Acta Horticulturae Sinica*, 20, 397–398. (in Chinese) [李国梁, 林伯年, 沈德绪 (1993) 酚类物质在鉴别园艺雌雄性植物中的应用研究. *园艺学报*, 20, 397–398.]
- 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*. *Horticulture Research*, 7, 64.
- Liao QG, Du R, Gou JB, Guo LJ, Shen H, Liu HL, Nguyen JK, Ming R, Yin TM, Huang SW, Yan JB (2020) The genomic architecture of the sex-determining region and sex-related metabolic variation in *Ginkgo biloba*. *The Plant Journal*, 104, 1399–1409.
- Liu Z, Moore PH, Ma H, Ackerman CM, Ragiba M, Yu Q, 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.
- Lorenzo JLR, Hobza R, Vyskot B (2018) DNA methylation and genetic degeneration of the Y chromosome in the dioecious plant *Silene latifolia*. *BMC Genomics*, 19, 540.
- Massonnet M, Cochetel N, Minio A, Vondras AM, Lin J, Muyle A, Garcia JF, Zhou Y, Delledonne M, Riaz S, Figueroa-Balderas R, Gaut BS, Cantu D (2020) The genetic basis of sex determination in grapes. *Nature Communications*, 11, 2902.
- Ming R, Bendahmane A, Renner SS (2011) Sex chromosomes in land plants. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 485–514.
- Ming R, Yu QY, Moore PH (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 18(3), 401–408.
- 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. *Nature Plants*, 6, 630–637.
- 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 Biology*, 14, 229.
- Prentout D, Razumova O, Rhoné B, Badouin H, Henri H, Feng C, Käfer J, Karlov G, Marais GAB (2020) An efficient RNA-seq-based segregation analysis identifies the sex chromosomes of *Cannabis sativa*. *Genome Research*, 30, 164–172.
- Qian W, Fan GY, Liu DD, Zhang HL, Wang XW, Wu J, Xu ZS (2017) Construction of a high-density genetic map and the X/Y sex-determining gene mapping in spinach based on large-scale markers developed by specific-locus amplified fragment sequencing (SLAF-seq). *BMC Genomics*, 18, 276.
- Renner SS, Ricklefs RE (1995) Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany*, 82, 596–606.
- Riaz S, Krivanek AF, Xu K, Walker MA (2006) Refined mapping of the Pierce's disease resistance locus, *PdR1*, and sex on an extended genetic map of *Vitis rupestris* × *V. arizonica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 1317–1329.
- She HB, Xu ZS, Zhang HL, Li GL, Wu J, Wang XW, Li Y, Liu ZY, Qian W (2021) Identification of a male-specific region (MSR) in *Spinacia oleracea*. *Horticultural Plant Journal*, 7, 341–346.
- Sondur SN, Manshardt RM, Stiles JI (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 547–553.
- Spigler RB, Lewers KS, Main DS, Ashman TL (2008) Genetic mapping of sex determination in a wild strawberry, *Fragaria virginiana*, reveals earliest form of sex chromosome. *Heredity*, 101, 507–517.
- Storey WB (1953) Genetics of the papaya. *Journal of Heredity*, 44, 70–78.
- Tao YS, Liao YM, Li YX, Wang BX, Liao XL, Ye XD, Chen

- JS (2013) Morphological characteristics and physiological-biochemical indexes of male and female *Cercidiphyllum japonicum*. Journal of Northeast Forestry University, 41(3), 18–19, 39. (in Chinese with English abstract) [陶应时, 廖咏梅, 黎云祥, 王碧霞, 廖兴利, 叶兴东, 陈劲松 (2013) 连香树雌雄株叶片形态及生理生化指标比较. 东北林业大学学报, 41(3), 18–19, 39.]
- Tennessen JA, Wei N, Straub SCK, Govindarajulu R, Liston A, Ashman TL (2018) Repeated translocation of a gene cassette drives sex-chromosome turnover in strawberries. PLoS Biology, 16, e2006062.
- Villarreal JC, Renner SS (2013) Correlates of monoicy and dioicy in hornworts, the apparent sister group to vascular plants. BMC Evolutionary Biology, 13, 239.
- Walas L, Mandryk W, Thomas PA, Tyrula-Wierucka Z, Iszkulo G (2018) Sexual systems in gymnosperms: A review. Basic and Applied Ecology, 31, 1–9.
- Wang BP, Cheng XJ, Dai WS, Yang FF (1999) Seasonal variation of endogenous hormones and nucleic acids in female and male plants of *Ginkgo biloba*. Journal of Zhejiang Forestry College, 16, 114–118. (in Chinese with English abstract) [王白坡, 程晓建, 戴文圣, 杨飞峰 (1999) 银杏雌雄株内源激素和核酸的变化. 浙江林学院学报, 16, 114–118.]
- 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. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 109, 13710–13715.
- Werren JH, Beukeboom LW (1998) Sex determination, sex ratios, and genetic conflict. Annual Review of Ecology and Systematics, 29, 233–261.
- Westergaard M (1958) The mechanism of sex determination in dioecious flowering plants. Advances in Genetics, 9, 217–281.
- Xue LJ, Wu HT, Chen YN, Li XP, Hou J, Lu J, Wei SY, Dai XG, Matthew S. Olson, Liu JQ, Wang MX, Charlesworth D, Yin TM (2020) Two antagonistic effect genes mediate separation of sexes in a fully dioecious plant. bioRxiv: 993022. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.15.993022v1>. (accessed on 2020-08-10)
- Yamato KT, Ishizaki K, Fujisawa M, Okada S, Nakayama S, Fujishita M, Bando H, Yodoya K, Hayashi K, Bando T, Hasumi A, Nishio T, Sakata R, Yamamoto M, Yamaki A, Kajikawa M, Yamano T, Nishide T, Choi SH, Shimizu-Ueda Y, Hanajiri T, Sakaida M, Kono K, Takenaka M, Yamaoka S, Kuriyama C, Kohzu Y, Nishida H, Brennicke A, Shin-i T, Kohara Y, Kohchi T, Fukuzawa H, Ohyama K (2007) Gene organization of the liverwort Y chromosome reveals distinct sex chromosome evolution in a haploid system. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 104, 6472–6477.
- Yang WL, Wang DY, Li YL, Zhang ZY, Tong SF, Li MM, Zhang X, Zhang L, Ren LW, Ma XZ, Zhou R, Sanderson BJ, Keefeover-Ring K, Yin TM, Smart LB, Liu JQ, DiFazio SP, Olson M, Ma T (2021) A general model to explain repeated turnovers of sex determination in the Salicaceae. Molecular Biology and Evolution, 38, 968–980.
- Zhang H, Zhang R, Yang XW, Gu KJ, Chen WB, Chang Y, Xu QW, Liu Q, Qin YT, Hong XN, Seim I, Lin HY, Li WH, Tian JF, Li SS, Liu JN, 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: 517946. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/517946v1>. (accessed on 2020-08-24)
- 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 Biology, 21, 38.
- Zlucova J, Nicolas M, Berger A, Negritiu I, Monéger F (2006) Premature arrest of the male flower meristem precedes sexual dimorphism in the dioecious plant *Silene latifolia*. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 103, 18854–18859.

(责任编辑: 张大勇 责任编辑: 李会丽)