

干旱胁迫下‘宁玉’草莓生长发育及相关基因表达特点

张超博, 李 傲, 崔梦杰, 刘众杰, 陈立德, 贾海峰, 房经贵*

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘 要: 为分析基因诊断草莓在干旱逆境条件下生长状态的可行性, 以‘宁玉’草莓为试材, 调查了不同干旱胁迫条件下的生长特点以及与生长素合成、脱落酸合成、花果发育、色素合成相关的 10 个基因的表达情况。研究表明: 在不同干旱条件下草莓均可完成从营养生长到生殖生长的生命周期, 所选基因也都行使并完成了其调控功能。与对照植株相比, 在轻度和中度干旱胁迫(50%~65%土壤含水量)条件下, 草莓植株的物候期较对照(80%土壤含水量)提早, 而在严重干旱胁迫(35%土壤含水量)条件下延缓, 随着干旱胁迫条件的加重, 草莓植株、叶片、果实明显变小, 果实着色加深。每个基因在不同干旱条件下表达水平的变化趋势基本一致, 且都与相应的物候期以及生长发育时间长短的变化情况相一致, 但所选基因在几种干旱条件下其表达开始的早晚、表达水平的高低以及表达相应程度持续时间的长短存在不同。在轻度和中度干旱条件下, 这些基因的表达时间提早, 但持续时间较短, 表达水平高于对照; 而在重度干旱条件下, 这些基因的表达开始的时间较对照延缓, 表达水平较低但持续时间拉长。上述研究表明, 利用基因的表达信息可以提前推断草莓植株在不同干旱条件下的生长发育状态, 了解干旱胁迫对草莓生长发育的影响以及为是否需要提早采取管理措施等提供重要依据。

关键词: 草莓; 干旱胁迫; 表观性状; 基因表达

中图分类号: S 668.4

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 12-2351-10

The Growth and Gene Expression Characteristics of *Fragaria* × *ananassa* ‘Ningyu’ Response to Drought Stress

ZHANG Chaobo, LI Ao, CUI Mengjie, LIU Zhongjie, CHEN Lide, JIA Haifeng, and FANG Jinggui*
(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to understand the feasibility of genetic diagnosis for strawberry under drought stress, it is necessary to recognize the growth and development characteristics of strawberry under drought conditions and information for the expression of important genes and their relationships. *Fragaria* × *ananassa* ‘Ningyu’ was used as material to analyze the growth characteristics and 10 genes expression related to auxin synthesis, abscisic acid synthesis, flower and berry development, pigment synthesis under different drought stress. The results showed that strawberry can complete the life cycle from vegetative

收稿日期: 2017-08-15; **修回日期:** 2017-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401847); 江苏省自然科学基金项目(BK20140707); 国家博士后基金项目(2014M561663); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(KJQN201541)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: fanggg@naju.edu.cn)

growth to reproductive growth under different drought conditions; the selected genes are also exercise and completed its regulation function. Comparing with the control plants, the phenology phases of strawberry under mild or moderate drought conditions with 50% - 65% of soil water holding capacity were earlier than in control (80% soil water holding capacity), when severe stress that the soil water holding capacity of 35%, the growth and development of strawberry were delayed, with the increasing of drought stress, strawberry plants, crown diameter, leaves, and berries were become significantly smaller than the control, but with deep color; under different drought conditions, the trend of growth-related gene expression in strawberry were similar basically, the time of gene expression was in accordance with the phase of phenology and the growth length of the corresponding plants under all kinds of drought stress. In mild to moderate drought conditions, the expression time of these genes advanced, with a shorter expression period, but gene expression level increased comparing with the control; while in severe drought conditions, the beginning time of gene expression was close to the control, but the expression period elongated, with low level of gene expression. It can be deduced from gene expression that the mechanism of smaller plant, fewer and smaller berry under light and moderate drought stress might not be the same as that under severe drought stress; the shorter gene expression period and lower expression might be one of the reason which causing the smaller crown diameter, smaller leaves and berries or fewer berries.

Keywords: strawberry; drought stress; phenotypic trait; gene expression

由于任何植物性状的形成归根到底都是基因与环境共同作用的结果,因此,研究果树在逆境条件下的生长发育以及与其相关基因的表达情况对于认识果树响应逆境的机理以及探讨基因表达信息在评价果树逆境条件下的生长发育状态等方面具有重要意义(Davies et al., 1986; 王忠和, 2007)。基因的表达信息在表型性状出现变化前就已经响应外界条件的改变,并随之变化,在基因水平上及早判断,可大大提高对植物真实生长状态认识的预见性和采取措施的目的性(房经贵, 2014; Fang, 2016)。

干旱、冷害、冻害等逆境是影响果树生产的重要因素(王传印等, 2008)。认识逆境条件下果树基因的表达特点可为精确诊断逆境对果树生长的影响以及制定管理措施提供重要的理论依据。干旱胁迫是果树生产中最常见的逆境因子之一,研究干旱条件下果树的表观性状、物候期变化以及与生长发育、激素代谢、花果发育等相关基因的表达谱情况,有助于研究果树响应干旱胁迫的机理、探讨基因表达信息服务于果树管理的可行性。

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)是广泛栽培的重要经济植物。草莓根系分布浅、叶面积较大,蒸腾旺盛、生长迅速、结果能力强,叶片更新频繁,其生长发育易受干旱胁迫的影响(黄建昌和肖艳, 1998; 刘明池等, 2001; 徐金娥和陈静, 2004; 樊国华, 2008)。为认识干旱条件对草莓生长发育以及基因表达的影响,本研究中以‘宁玉’草莓为试材,研究了正常生长和不同干旱胁迫条件下草莓生长发育的特点,以及激素代谢、花发育、色素合成、果实成熟等与草莓生长发育相关基因表达的情况。以期为更好地认识草莓响应干旱的机理,为基因的信息表达服务,为草莓管理的可行性奠定研究基础。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

试验于2015年10月—2016年4月在南京农业大学进行。供试草莓是江苏省农业科学院选育的特早熟品种‘宁玉’(蔡伟建等, 2014; 王婷, 2014)。试材为生长相对一致、生长健壮的一年生‘宁玉’盆栽苗。2015年12月1日—2016年1月30日, 每10 d取样1次; 2016年2月5—25日, 每5 d取样1次。所取样品依次为花苞、盛花期的花和落花期小果、小绿果、大绿果、白果、转色果、成熟果(Fait et al., 2008)。每次都选择相同生长部位的样品, 1个果为1次, 每个指标重复测定3次。样品采集后拍照, 并用液氮速冻处理, 放-80℃冰箱备用。

1.2 干旱胁迫处理

草莓盆栽苗进行了充分缓苗后10 d, 开始进行水分胁迫处理。每处理10株, 重复3次, 共30株。设置4个水平处理: 正常供水对照、轻度、中度、重度水分胁迫土壤含水量分别为田间最大持水量的80%、60%、50%和35%。土壤含水量采用盆栽称质量控水法控制(王韶唐等, 1987; 邹琦, 2001), 每天18:00时补水。

1.3 植株生长发育性状观察

参照草莓简易测定方法(张志良和瞿伟菁, 2003; 乔宝营等, 2004)测定植株冠径、叶片数、单果质量。

1.4 基因表达定量分析

使用传统CTAB方法(李合生, 2000)进行总RNA提取, 参照TaKaRa产品DNase I (RNase free)使用说明书进行微量基因组DNA的去除。使用One Drop OD-1000+超微量分光光度计检测样品RNA的纯度, 然后取3 μL样品琼脂糖电泳检测RNA的完整性。以RNA样品为模板, 参考TaKaRa产品RNA反转录试剂盒说明书进行cDNA的合成, 获得的cDNA产物直接用于PCR或-20℃贮藏备用。

选取了*DFR*、*ANS*、*LAR*、*PL*、*bHLH78*、*PG*、*LFY*、*API*、*YUC1*和*NCED1*等10个与草莓生长素合成、脱落酸合成、花果发育、色素合成等相关的重要基因(Mandel et al., 1992; Wagner et al., 1999; Taylor et al., 2000; Thompson et al., 2000; Pena et al., 2001; Zhao et al., 2001; 金晓磊等, 2007; 孙梓健, 2010; 邹冬梅, 2012; 谢为发等, 2013; 周厚成, 2014)进行表达情况分析。根据定量PCR引物的设计原则, 利用Primer Premier5.0软件, 分别设计看家基因以及与10个基因的定量PCR引物(表1), 由上海捷瑞生物技术有限公司合成。

按照SYBR Premix Ex Taq™试剂盒(宝生物工程有限公司)操作指导, 采用实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)法, 检测基因的相对表达量。反应体系按SYBR Green I (ToYoBo)说明书进行。以草莓看家基因*ACTIN*作为内参。扩增体系含1 μL cDNA, 上、下游引物各0.8 μL, 10 μL反应MIX, 7.4 μL ddH₂O, 总体积20 μL。反应程序为95℃变性1 min, 95℃变性10 s, 退火20 s, 退火温度为58℃, 72℃延伸30 s, 40个循环; 反应结束后分析荧光值变化曲线以及溶解曲线。以重度水分胁迫处理的值为对照来计算相对值, 试验设3次重复, 试验数据用LinRegPCR和Excel软件分析, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算方法, 相对表达量为处理和对照的相对值。以不加

模板 cDNA 为阴性对照, 标准品 cDNA 和待测样品均设置 3 次重复。

表 1 基因引物序列

Table 1 List of primers in this study

基因名称 Gene name	正向引物序列 Forward primer sequence	反向引物序列 Reverse primer sequence
ANS	GTGAGGGAGAAATGTAGGGAGGAT	GGAGATGCCGTGGTTGATAAGG
LAR	TGTCACCTTCTATTGCCTCTG	CGACGAAGTGGCCATGA
DRF	GCTACATCTGTTTCATCAC	GTCAAGTTCTCCTCAATG
CHS	GAACATTACCGACTGGAA	TGGATTCTAACTTCTCAG
PL	CTGAGAAGTATGGTATAC	GAGTGAAGTAGTTGTTGG
PbHLH78	CTCTTCATCTCCCTCTGT	CATTGATTCTTTGTTTG
ACS	GAGAACTGGCTTACTTC	GACCCATCTGAATAACAC
YUC1	TGGAGGAAGTAGATGTAG	GACATTGGAGATATTGAGG
LFY	GATTACCTCTCCATCTC	GCATACCTAAACACCTTC
API	GCAGCAGCTTGATACTACT	GTTTTGCTCCTGTATTGCCCT
ACTIN	TGGGTTTGCTGGAGATGAT	CAGTAGGAGAACTGGGTGC

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对植株叶片数和冠径的影响

在 3 种干旱胁迫条件下, 草莓植株都可以开花结果, 但植株生长势变弱, 不同程度干旱胁迫都会造成草莓植株生长势变弱的现象, 表现为随着干旱胁迫增加, 叶片变少、植株变小、单果质量变轻(表 2, 图 1), 与前人在草莓以及其他受干旱胁迫的植物的研究(陈立松和刘星辉, 1999; Subbzaio et al., 2000; 解振强, 2011; 李娜, 2014) 相似。与对照相比, 3 组干旱胁迫植株在营养生长期时叶片数、冠径面积差异不大, 生殖生长期时, 田间持水量 65% 的处理植株叶片数、冠径面积与对照差距较小, 叶片分别为 16 片, 冠径面积为 28 cm × 25.8 cm。田间持水量 50%、35% 的处理叶片数分别为对照组的 60% 和 50%, 冠径面积分别为 17.0 cm × 15.3 cm 和 12.3 cm × 11.0 cm。65%、50% 和 35% 处理的单果质量分别占对照的 95%、79% 和 68%。

表 2 不同干旱处理下 ‘宁玉’ 草莓植株的表现性状

Table 2 The ‘Ningyu’ strawberry apparent traits under different drought treatment

田间持水量/% Field capacity	叶片数 Leaf number						单果质量/g Fruit quality
	11 - 01	12 - 01	01 - 01	02 - 01	03 - 01	04 - 01	
80 (对照 Control)	3.0 ± 0.2 a	5.0 ± 0.3 a	8.0 ± 0.3 a	11.0 ± 1.0 a	14.0 ± 1.1 a	18.0 ± 1.5 a	16.4 ± 1.4 a
65	3.0 ± 0.1 a	5.0 ± 0.1 a	6.0 ± 0.6 b	9.0 ± 0.8 a	12.0 ± 1.0 a	16.0 ± 1.7 a	15.6 ± 2.2 a
50	3.0 ± 0.3 a	5.0 ± 0.5 a	6.0 ± 0.5 b	7.0 ± 0.5 b	9.0 ± 0.7 b	11.0 ± 0.9 b	13.0 ± 1.3 b
35	3.0 ± 0.2 a	4.0 ± 0.2 a	5.0 ± 0.3 bc	6.0 ± 0.5 b	7.0 ± 0.5 b	9.0 ± 0.8 b	11.2 ± 0.9 b

田间持水量/% Field capacity	冠径 (长 × 宽) /cm ² Crown diameter (length × width)		
	11 - 01	12 - 01	01 - 01
80 (对照 Control)	(9.2 ± 0.8) × (7.0 ± 0.5) a	(10.0 ± 1.0) × (9.8 ± 0.9) a	(16.0 ± 1.4) × (15.5 ± 0.9) a
65	(9.0 ± 0.8) × (7.8 ± 0.6) a	(10.5 ± 1.0) × (9.0 ± 0.9) a	(14.2 ± 1.2) × (11.0 ± 1.0) b
50	(8.6 ± 0.9) × (8.0 ± 0.7) b	(9.2 ± 0.8) × (9.0 ± 0.8) b	(13.0 ± 0.9) × (10.5 ± 1.2) b
35	(8.3 ± 0.8) × (7.5 ± 0.7) b	(9.3 ± 0.7) × (7.0 ± 0.5) b	(9.6 ± 0.8) × (8.5 ± 0.8) c

田间持水量/% Field capacity	冠径 (长 × 宽) /cm ² Crown diameter (length × width)		
	02 - 01	03 - 01	04 - 01
80 (对照 Control)	(20.1 ± 1.2) × (16.9 ± 1.4) a	(25.0 ± 2.0) × (23.0 ± 2.1) a	(34.0 ± 2.6) × (31.8 ± 3.2) a
65	(15.7 ± 1.3) × (14.0 ± 1.5) b	(21.0 ± 1.8) × (17.5 ± 1.6) a	(28.0 ± 2.3) × (25.8 ± 2.4) b
50	(13.8 ± 1.2) × (12.0 ± 1.1) b	(14.8 ± 1.2) × (13.0 ± 1.4) b	(17.0 ± 1.6) × (15.3 ± 1.3) c
35	(10.7 ± 0.8) × (9.0 ± 0.6) c	(13.8 ± 1.3) × (8.0 ± 0.9) b	(12.3 ± 1.4) × (11.0 ± 1.5) d

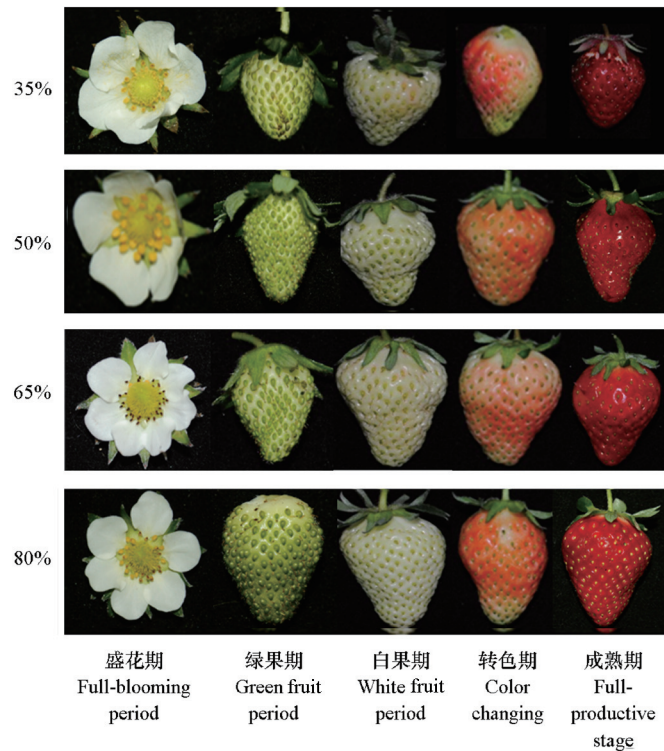


图 1 不同干旱胁迫条件下草莓花果发育时间的比较

Fig. 1 The comparison of different drought stress time under the conditions of the development of strawberry fruit

2.1.2 不同的干旱胁迫条件下对开花结果的影响

本研究中发现, 不同程度的干旱胁迫对‘宁玉’草莓植株生长发育的快慢产生不同的影响 (表 3)。在轻、中度干旱胁迫处理条件下 (田间持水量 65%、50%), 草莓花果发育明显早于对照, 且生长期短。其中土壤含水量占最大持水量 50% 情况下, 花、果发育时间提前最明显, 其初花、初果期分别比对照组早 8 d 和 14 d, 在土壤含水量占最大持水量 65% 时初花、初果期也早于对照, 分别早 2 d 和 6 d。田间持水量 65% 与 50% 两种干旱条件下, 花果发育时期也明显变短, 分别为 55 d 和 54 d, 而对照从开花到果实成熟期长达 59 d。当土壤含水量占最大持水量 35% 时则明显抑制了植株的花果发育, 花果发育时期晚于对照, 如初花与初果期分别比对照晚 6 d 和 9 d, 从开花到果实成熟的时间需要 62 d。

表 3 不同干旱处理草莓植株开花结果期 (年 - 月 - 日)

Table 3 Strawberry plants of different drought treatments during the flowering and fruiting stage (year - month - day)

田间持水量/% Field capacity	花苞期 Bud period	初花期 Beginning-flower stage	盛花期 Full-blooming period	绿果期 Green fruit period	白果期 White fruit period	转色期 Color changing	初果期 Beginning-fruit stage	盛果期 Full-productive stage
80 (对照 Control)	2015 - 12 - 12	2015 - 12 - 18	2016 - 01 - 08	2016 - 01 - 18	2016 - 02 - 02	2016 - 02 - 09	2016 - 02 - 15	2016 - 03 - 27
65	2015 - 12 - 09	2015 - 12 - 16	2016 - 01 - 04	2016 - 01 - 11	2016 - 01 - 28	2016 - 02 - 05	2016 - 02 - 09	2016 - 03 - 21
50	2015 - 12 - 04	2015 - 12 - 09	2015 - 12 - 24	2016 - 01 - 03	2016 - 01 - 13	2016 - 01 - 18	2016 - 02 - 01	2016 - 03 - 06
35	2015 - 12 - 19	2015 - 12 - 24	2016 - 01 - 24	2016 - 02 - 04	2016 - 02 - 09	2016 - 02 - 15	2016 - 02 - 24	2016 - 04 - 12

2.2 草莓生长发育相关基因在不同干旱胁迫条件下的表达

荧光定量 PCR 技术分析结果表明, *FaLFY* 与 *FaAPI* 在花中表达 (图 2), 在果中表达水平很低甚至不表达; *FaANS*、*FaYUC1*、*FaPL* 以及 *FaNCED1* 在花、果实中都表达; *FaDFR*、*FaLAR*、*FabHLH78* 以及 *FaPG* 主要在果实中表达 (图 3)。这与前人的研究结果 (Weigel et al., 1992; Jimenez-Bermudez et al., 2002; Mouhu et al., 2009; 贾海锋 等, 2011) 一致, 也表明这些基因的表达在干旱胁迫条件下同样保持着其器官特异性。

与对照相比, 所选基因在 65%和 50%田间持水量条件下的表达时间都较早, 表达水平增高, 但表达持续的时间变短, 其中又以在 50%条件下表达变化最大; 在重度干旱胁迫条件下 (35%), 基因表达时期推迟、表达持续时间延长, 但表达水平较对照低。

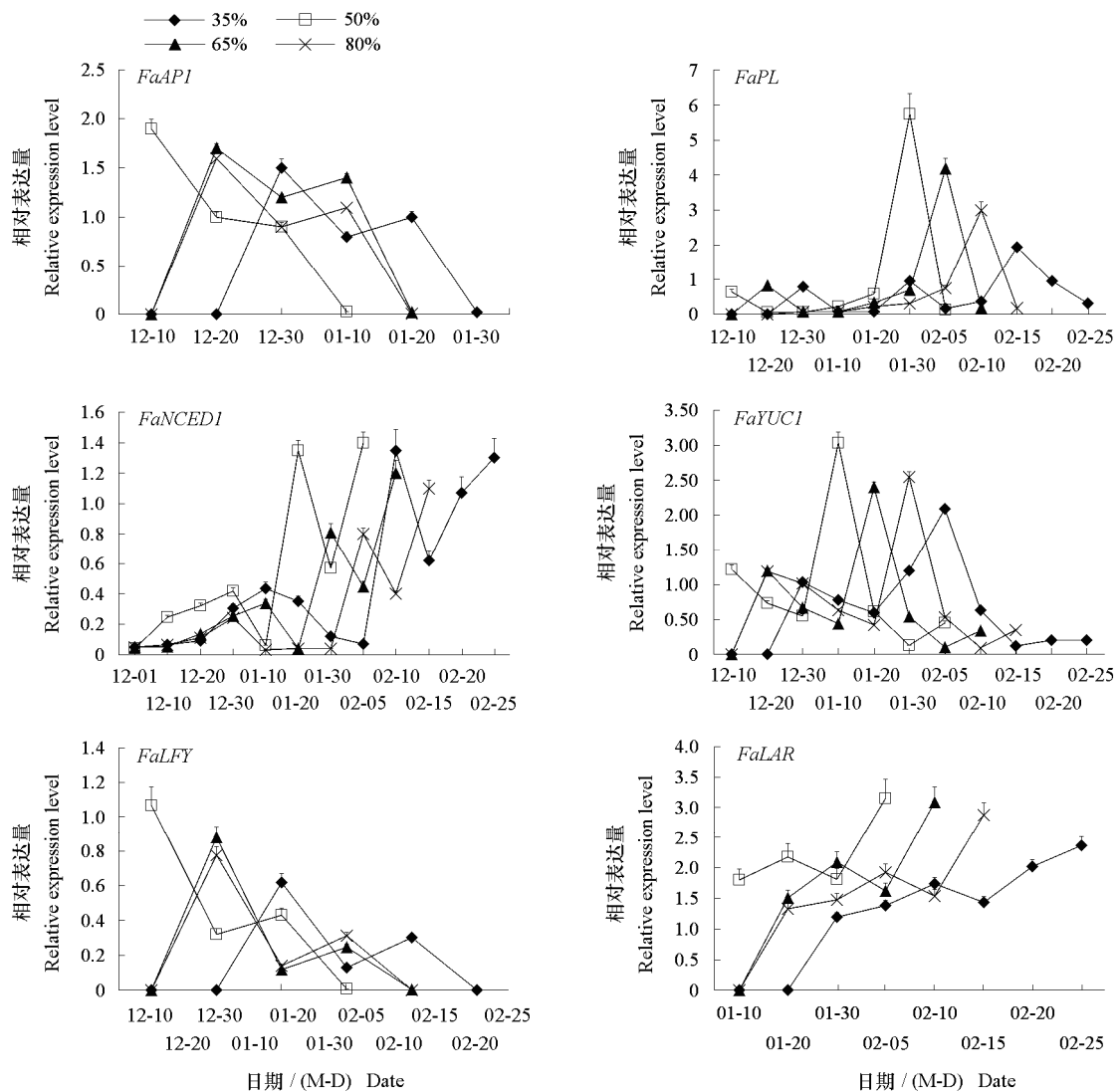


图 2 不同干旱胁迫条件下 *FaAPI*、*FaPL*、*FaNCED1*、*FaYUC1*、*FaLFY* 和 *FaLAR* 在 ‘宁玉’ 花果中的表达情况
 Fig. 2 The expression of *FaAPI*, *FaPL*, *FaNCED1*, *FaYUC1*, *FaLFY* and *FaLAR* in the ‘Ningyu’ strawberry under different drought stress of flowers and fruits

从几种干旱处理对草莓生长发育的影响看, 植株都完成了从营养生长到生殖生长的生命周期, 另外, 尽管基因表达水平高低、持续时期、表达早晚存在不同, 但都完成了其在草莓生长发育中的调控作用。

值得注意的是, 在 65%、50%处理条件下, 花果发育早且植株、果实等变小, 而这种条件下, 几个基因存在表达时期提早但表达量高于对照的现象; 在 35%处理条件下, 花果发育时期推迟, 植株、果实等器官变小, 而这种条件下几个基因的表达开始时间也晚, 表达水平最低且表达持续时期最长。

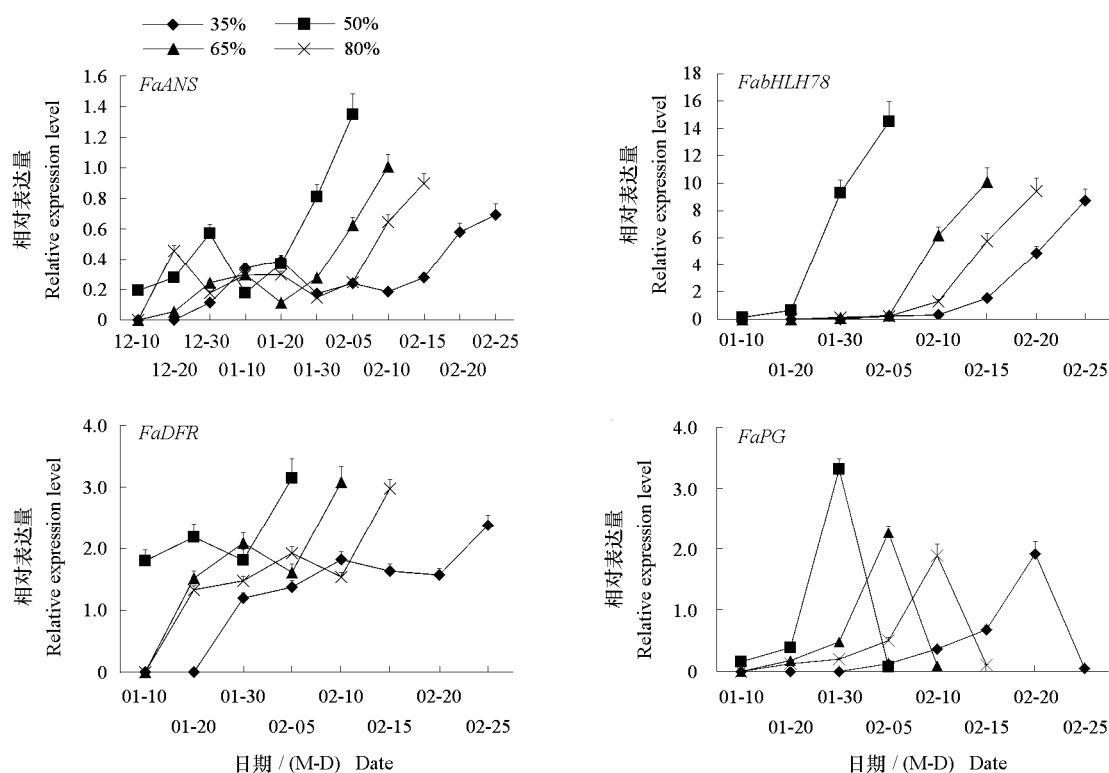


图3 不同干旱胁迫条件下 *FaANS*、*FabHLH78*、*FaDFR* 和 *FaPG* 在‘宁玉’花果中的表达情况
Fig. 3 The expression of *FaANS*, *FabHLH78*, *FaDFR* and *FaPG* in the ‘Ningyu’ strawberry under different drought stress of flowers and fruits

3 讨论

草莓生长发育的每个阶段都由大量直接与间接相关基因参与调控 (Lin et al., 2013; Sánchez-Sevilla et al., 2014; 李栋栋和罗自生, 2014; 金万梅 等, 2015; Koning-Boucoiran et al., 2015; Sánchez Sevilla, 2015; Zhang et al., 2015), 本研究中选择了 10 个与激素代谢、花发育、色素合成、果实成熟等相关的重要基因来分析草莓在干旱胁迫条件下其表达情况与植株生长发育的联系。从每个基因在不同的处理条件下表达模式的一致性可以看出它们都严格完成其在草莓生长发育中的作用。另外这些基因在不同干旱条件下变化方式的一致性也说明这些基因都可以作为了解草莓生长发育的标记基因 (Marker genes)。当然, 由于不同的基因具有不同的表达时空性, 不同的标记基因用于分析草莓生长状态的时期也不同, 如果需要对草莓整个生长周期进行诊断, 则需要对多个标记基因的表达进行

分析。为认识在逆境条件下基因的表达与性状的表现是否存在一定的联系, 本研究中对草莓的性状发育与草莓基因的表达信息进行了分析。所研究的基因表达的时间早晚、表达的水平高低、表达时期的持续长短与植株生长发育的早晚、生长势的情况存在一定的联系。通过这些基因的表达可以较准确地判断出植株生长后期的发育状况, 而对这些基因研究结果的一致性也说明了利用基因判断植株生长发育状况的可靠性。

通过表达分析发现, 本试验选取的基因在不同条件下都参与了植株的生长发育, 完成了其功能, 而且每个基因在不同条件下的表达趋势相似, 但在不同条件下的表达水平、持续早晚、表达长短存在差异: 轻度和中度干旱胁迫条件下(土壤含水量占最大持水量 65%和 50%时), 果实发育较早且植株和果实较小, 而所选基因也存在表达时期提前, 表达水平提高, 高表达时期短于对照的现象, 可以理解为轻、中度干旱可促进基因的表达, 加快了生长发育进程, 但是由于基因表达时期短, 生长发育时间短, 也存在植株矮小、花果小、叶片少的现象; 重度干旱胁迫(土壤含水量占最大持水量 35%)则会延缓花果发育期, 其植株矮小, 单果小且少, 基因表达也存在基因表达时期长但表达最晚、表达量普遍低于对照的现象。从轻、中、重度的干旱胁迫的植株基因表达看, 其植株花果变小的机理有所不同, 前者因为基因表达时间短, 后者是由于基因表达量较低。

References

- Cai Jian-wei, Zhao Mi-zhen, Wu Wei-min, Cai Jian-wei, Zhao Mi-zhen, Wu Wei-min, Qian Ya-ming, Wang Jing, Wang Qing-lian. 2014. Effects of water stress on the growth and photosynthetic characteristics of Ningyu strawberry. Summary of the 2014 academic annual conference of the Chinese Academy of Horticulture, (14): 246 - 269. (in Chinese)
- 蔡伟建, 赵密珍, 吴伟民, 蔡伟建, 赵密珍, 吴伟民, 钱亚明, 王 静, 王庆莲. 2014. 水分胁迫对宁玉草莓生长和光合特性的影响. 中国园艺学会 2014 年学术年会论文摘要集, (14): 246 - 269.
- Chen Li-song, Liu Xing-hui. 1999. Effects of water stress on endogenous hormone contents in leaves of *Litchi chinensis*. Journal of Tropical Crops, (9): 31 - 35. (in Chinese)
- 陈立松, 刘星辉. 1999. 水分胁迫对荔枝叶片内源激素含量的影响. 热带作物学报, (9): 31 - 35.
- Davies W J, Metcalf J, Lodge T A. 1986. Plant growth substances and the regulation of growth under drought. Aus J Plant Physiol, 13: 105 - 125.
- Fait A, Hanhineva K, Beleggia R, Dai N, Rogachev I, Nikiforova V J, Fernie A R, Aharoni A. 2008. Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development. Plant Physiology, 148 (2): 730 - 750.
- Fan Guo-hua. 2008. Responses of different strawberry cultivars to water stress process [Ph. D. Dissertation]. Gansu Agricultural University. (in Chinese)
- 樊国华. 2008. 不同草莓品种对水分胁迫过程的响应特性[博士学位]. 兰州: 甘肃农业大学.
- Huang Jian-chang, Xiao Yan. 1998. Effects of water stress on photosynthesis of strawberry. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 11 (4): 16 - 19. (in Chinese)
- 黄建昌, 肖 艳. 1998. 水分胁迫对草莓光合作用的影响. 仲恺农业技术学院学报, 11 (4): 16 - 19.
- Jia Hai-feng, Chai Ye-mao, Li Chun-li, Dong Qing-hua, Qin Ling, Shen Yuan-yue. 2011. The strawberry fruit shedding acid receptor gene *FaABAR/CHLH* expression analysis of changes and its influencing factors. Acta Horticulturae Sinica, 38 (9): 1650 - 1656. (in Chinese)
- 贾海峰, 柴叶茂, 李春丽, 董清华, 秦 岭, 沈元月. 2011. 草莓果实中脱落酸受体基因 *FaABAR/CHLH* 表达变化及其影响因素分析. 园艺学报, 38 (9): 1650 - 1656.
- Jim-nez-Berm-dez S, Redondo-Nevado J, Munoz-Blanco J. 2002. Manipulation of strawberry fruit softening by antisense expression of a pectate lyase gene. Plant Physiology, 128 (2): 751 - 763.
- Jin Xiao-lei, Shen Yuan-yue, Hu Xin-ling, Teng Wen-jing, Dong Qing-hua, Qiu De-you. 2007. Progress in research on genetic engineering of strawberry. Journal of Fruit Trees, 24 (4): 506 - 512. (in Chinese)

- 金晓磊, 沈元月, 胡新玲, 滕文静, 董清华, 邱德有. 2007. 草莓基因工程研究进展. 果树学报, 24 (4): 506 - 512.
- Koning-Boucoiran C F S, Esselink G D, Vukosavljev M, van't Westende Wendy P C, Gitonga V W, Krens F A, Voorrips R E, Weg W E, Dietmar S, Debener T, Maliepaard C, Arens P, Smulders M J M. 2015. Using RNA-Seq to assemble a rose transcriptome with more than 13 000 full-length expressed genes and to develop the WagRhSNP 68k Axiom SNP array for rose (*Rosa L.*). *Frontiers in Plant Science*, 6 (4 - 5): 249.
- Li Dong-dong, Luo Zi-sheng. 2014. Transcriptome analysis on effects of ABA in anthocyanin biosynthesis in strawberry//The Chinese Institute of food science and technology//The 11th Annual Meeting of Chinese Institute of Food Science and Technology Abstracts. Chinese Institute of Food Science and Technology: 2.
- 李栋栋, 罗自生. 2014. 转录组分析 ABA 在草莓花青素生物合成中的作用//中国食品科学技术学会第十一届年会论文摘要集. 中国食品科学技术学会: 2.
- Li He-sheng. 2000. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Li Na. 2014. The physiological and ecological responses of *Larch* seedlings to drought stress and nitrogen addition [M. D. Dissertation]. Harbin: Northeast Forestry University. (in Chinese)
- 李 娜. 2014. 落叶松幼苗对干旱胁迫及氮添加的生理生态响应 [硕士论文]. 哈尔滨: 东北林业大学.
- Lin L F, Liao S Y, Yen J H, Chiou, S J, Lee, C Y, Chou, M L. 2013. Mining heat stress induced genes encoding heat shock proteins (hsp) and heat stress transcription factors (HSPs) in strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Applied Mechanics & Materials*, (446 - 447): 936 - 941.
- Liu Ming-chi, Kojima Takano, Tanaka Muneko, Chen Hang. 2001. Effects of deficit irrigation on the growth and fruit quality of strawberry. *Chinese Journal of Horticulture*, 28 (4): 307 - 311. (in Chinese)
- 刘明池, 小岛孝之, 田中宗浩, 陈 杭. 2001. 亏缺灌溉对草莓生长和果实品质的影响. 园艺学报, 28 (4): 307 - 311.
- Mandel M A, Gustafson-Brown C, Savidge B, Yanofsky M F. 1992. Molecular characterization of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA1*. *Nature*, 360: 273 - 277.
- Mouhu K, Hytonen T, Folta K, Hytönen T, Folta K, Rantanen M, Paulin L, Auvinen P, Elomaa P. 2009. Identification of flowering genes in strawberry, a perennial SD plant. *BMC Plant Biology*, 9: 122.
- Pena L, Martin-Trillo M, Juarez J, Pina J A, Navarro L, Martinez-Zapater J M. 2001. Constitutive expression of *Arabidopsis* *LEAFY* or *APETALA1* genes in citrus reduces their generation time. *Nature Biotechnology*, 19: 263 - 267.
- Qiao Bao-ying, Huang Hai-fan, Zhang Xin-shuan, Ma Cai-xia, Li Dao-de. 2004. A simple method for measuring the leaf area of strawberry. *Journal of Fruit Trees*, 21 (6): 621 - 623. (in Chinese)
- 乔宝营, 黄海帆, 张信栓, 马彩霞, 李道德. 2004. 草莓叶面积简易测定方法. 果树学报, 21 (6): 621 - 623.
- Sánchez Sevilla J F. 2015. Development and analysis of a reference transcriptome of cultivated strawberry. *Plant & Animal Genome*, 15 (11): 10 - 14.
- Sánchez-Sevilla J F, Cruz-Rus E, Valpuesta V, Botella M A, Amaya I. 2014. Deciphering gamma-decalactone biosynthesis in strawberry fruit using a combination of genetic mapping, RNA-Seq and eQTL analyses. *BMC Genomics*, 15 (1): 1 - 15.
- Subbrazo G V, Chauhan Y S, Johanan C. 2000. Patterns of osmotic adjustment in pigeonpea - its importance as a mechanism of drought resistance. *European Journal of Agronomy*, 12 (3 - 4): 239 - 249.
- Sun Zi-jian. 2010. Analysis and expression of clone anthocyanin biosynthesis genes in red leaf mustard [M. D. Dissertation]. Chongqing: Southwestern University. (in Chinese)
- 孙梓健. 2010. 红叶芥花青素合成途径结构基因的克隆及表达分析 [硕士论文]. 重庆: 西南大学
- Taylor D R. 2000. The physiology of flowering in strawberry. *Acta Hort*, 567: 245 - 252.
- Thompson A J, Jackson A C, Symonds R C, Mulholland B J, Dadswell A R, Blake P S, Burbidge A, Taylor I B. 2000. Ectopic expression of a tomato 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes over-production of abscisic acid. *The Plant Journal*, 23: 363 - 374.
- Wagner D, Sablowski R W, Meyerowitz E M. 1999. Transcriptional activation of *APETALA1* by *LEAFY*. *Science*, 285: 582 - 584.
- Wang Chuan-yin, Fan Qing-jun, Zhang Sheng-nan, Dong Feng-li, Zhu Shu-hua. 2008. Effects of drought stress on physiological and biochemical indexes of strawberry seedling stage. *Deciduous Fruits*, (4): 18 - 21. (in Chinese)

- 王传印, 樊庆军, 张胜男, 董凤丽, 朱树华. 2008. 干旱胁迫对草莓苗期生理生化指标的影响. *落叶果树*, (4): 18 - 21.
- Wang Shao-tang, Jing Jia-hai, Ding Zhong-rong. 1987. *Experimental instruction of plant physiology*. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press: 2 - 10. (in Chinese)
- 王韶唐, 荆家海, 丁钟荣. 1987. *植物生理学实验指导*. 西安: 陕西科学技术出版社: 2 - 10.
- Wang Ting. 2014. High quality and high yield cultivation techniques of new strawberry variety “Ning Yu”, *Shanghai Agricultural Science and Technology*, (6): 84 - 85. (in Chinese)
- 王 婷. 2014. 草莓新品种“宁玉”优质高产栽培技术. *上海农业科技*, (6): 84 - 85.
- Wang Zhong-he. 2007. Strawberry market analysis and countermeasures. *Northern Horticulture*, (7): 110 - 111. (in Chinese)
- 王忠和. 2007. 草莓市场分析及其对策. *北方园艺*, (7): 110 - 111.
- Weigel D, Alvarez J, Smyth D R, Yanofsky M F, Meyerowitz E M. 1992. LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell*, 69: 843 - 859.
- Xie Wei-fa, Liu Hong, Zhang Ling, Ye Zheng-wen, Duan Ke, Gao Qing-hua, Lei Hong-tao. 2013. Comparison of auxin biosynthesis related genes YUC2 and YUC1 in two kinds of strawberry. *Fruit Tree Journal*, 30 (3): 390 - 396. (in Chinese)
- 谢为发, 刘 洪, 张 玲, 叶正文, 段 可, 高清华, 雷红涛. 2013. 生长素合成相关基因 YUC1 和 YUC2 在两种倍性草莓中的比较. *果树学报*, 30 (3): 390 - 396.
- Xie Zhen-qiang. 2011. The effect of temperature and seedling on growth of strawberry [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 解振强. 2011. 温度及育苗方式对草莓生长发育的影响[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Xu Jin-e, Chen Jing. 2004. The effect of drought stress on photosynthetic characteristics of strawberry. *Journal of Baoding College*, 21 (2): 35 - 37. (in Chinese)
- 徐金娥, 陈 静. 2004. 干旱胁迫对草莓光合特性的影响. *保定学院学报*, 21 (2): 35 - 37.
- Zhang Y, Li W, Dou Y, Zhang J, Jiang G, Miao L, Han G, Liu G, Liu Y, Li H. 2015. Transcript quantification by RNA-Seq reveals differentially expressed genes in the red and yellow fruits of *Fragaria vesca*. *PLoS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0144356.
- Zhang Zhi-liang, Qu Wei-jing. 2003. *Experimental technology of plant physiology*. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 张志良, 瞿伟菁. 2003. *植物生理学实验指导*. 3 版. 北京: 高等教育出版社.
- Zhao Y D, Christensen S K, Fankhauser C, Cashman J R, Cohen J D, Weigel D, Chory J A. 2001. Role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*, 291 (5502): 306 - 309.
- Zhou Hou-cheng. 2014. Study on the related genes of ripening and softening of strawberry fruit [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 周厚成. 2014. 草莓果实成熟软化相关基因的研究[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Zou Dong-mei. 2012. Cloning and expression analysis of the genes related to flowering in strawberry [Ph. D. Dissertation]. Shenyang: Shenyang Agricultural University. (in Chinese)
- 邹冬梅. 2012. 草莓成花相关基因的克隆及表达分析[博士论文]. 沈阳: 沈阳农业大学.
- Zou Qi. 2001. *Experiments in plant physiology*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 邹 琦. 2001. *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业出版社.