

◆植物学◆

3个甘蔗品种响应低温胁迫的转录组分析*

朱鹏锦**,宋奇琦,谭秦亮,程琴,李佳慧,庞新华,周全光,吕平,欧克纬,卢业飞,农泽梅
(广西壮族自治区亚热带作物研究所,广西南宁 530001)

摘要:为挖掘甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)响应低温的特异基因,揭示甘蔗响应低温的分子调控机理,以3个抗寒能力不同的甘蔗品种作为试验材料,利用转录组测序技术分析不同抗寒能力的甘蔗品种在低温胁迫(4℃)下的基因表达差异。结果表明,利用权重基因共表达网络分析(Weighted Gene Co-expression Network Analysis,WGCNA)鉴定出13个基因共表达模块,通过相关性分析筛选出blue和yellow模块作为甘蔗抗寒机理研究的目标模块。基于blue和yellow模块筛选出可能与甘蔗抗寒能力密切相关的13个响应低温胁迫的基因,为后续选育抗寒性强的优良甘蔗新品种提供重要参考。

关键词:甘蔗;低温;转录组;权重基因共表达网络分析

中图分类号:S566.1 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2023)02-0267-10

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230118.001

广西蔗糖产量约占全国食糖产量的60%,蔗糖产业是广西的传统优势支柱产业^[1,2]。在经常出现冬季持续低温及春季“寒潮”带来的低温阴雨天气下,广西现有的甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)主栽品种新台糖22号(ROC22)出现叶片萎蔫、生长点损伤、生长迟缓、糖分降低等情况^[3,4]。因此,选育耐低温甘蔗品种是广西乃至我国目前甘蔗育种关注的重点之一。

甘蔗对低温的耐受性往往是多基因控制的复杂性状,响应低温胁迫的基因通常涉及低温信号感知、传导与调控、抗氧化酶系统等方面。在甘蔗响应低温

胁迫的研究中,Menossi等^[5]将甘蔗幼苗在4℃胁迫处理后,分离鉴定得到25个表达受到抑制的基因和34个表达上调的基因,这些基因与干旱胁迫诱导产生的差异基因相同。陈香玲等^[6]利用起始密码子多态性(Start Codon Targeted Polymorphism,SCoT)技术分析了甘蔗在低温胁迫下稳定出现的可能与甘蔗的抗寒基因表达相关的5个cDNA差异片段。黄杏等^[7]应用同源克隆和逆转录PCR(Reverse Transcription PCR,RT-PCR)技术克隆了5个与甘蔗抗寒性相关的基因的cDNA,并发现这些基因被脱落酸(Ab-scisic Acid,ABA)和低温协同调控,ABA预处理不

收稿日期:2022-06-20

修回日期:2022-09-30

*广西自然科学基金项目(2017GXNSFBA198054),广西科技重大专项(桂科AA17202042-5)和广西农业科学院科技发展基金项目(桂农科2022JM90,桂农科2021YT151)资助。

【第一作者简介】

朱鹏锦(1983-),男,高级农艺师,主要从事作物生理生态学研究,E-mail:zhupengjin04@163.com。

【**通信作者】

【引用本文】

朱鹏锦,宋奇琦,谭秦亮,等.3个甘蔗品种响应低温胁迫的转录组分析[J].广西科学,2023,30(2):267-276.

ZHU P J, SONG Q Q, TAN Q L, et al. Transcriptome Analysis of Three Sugarcane Varieties in Response to Low Temperature Stress [J]. Guangxi Sciences, 2023, 30(2): 267-276.

同程度地诱导其表达。Khan等^[8]通过抑制性消减杂交技术,从抗寒甘蔗品种中分离出465个低温响应基因,这些低温响应基因通过几个相关途径协同调节其交互作用,从而实现甘蔗的抗寒应答反应。成伟等^[9,10]利用RT-PCR技术成功克隆甘蔗*Sc CBF1*基因,并发现该基因在低温胁迫下表达迅速上调,推测该基因在逆境信号传导及植物抗逆过程中扮演重要角色。甘蔗是高度异源多倍体,遗传背景复杂,其对低温的应答机制研究还相对滞后。转录组测序技术能够全面、快速地获得某一物种特定组织或器官在某一状态下几乎所有的转录本序列信息,以从整体水平研究其基因功能及结构,进而揭示其特定的生物学过程。该技术已广泛应用于植物候选基因发掘、功能鉴定及遗传改良等领域,为甘蔗响应低温胁迫的转录组研究提供了新手段。

本研究在前期田间农艺性状观测和生理生化研究的基础上^[11,12],筛选出3个抗寒能力差异比较明显的甘蔗品种作为研究材料,采用转录组测序技术研究不同抗寒能力的甘蔗品种在低温胁迫下的基因表达差异,挖掘与甘蔗抗寒性相关的基因,为进一步研究甘蔗抗寒机理和选育抗寒性强的优良甘蔗新品种提供理论依据和基因资源。

1 材料与方法

1.1 材料

抗寒性强甘蔗品种:广西壮族自治区农业科学院甘蔗研究所选育的桂糖28号(GT28)、广西壮族自治区亚热带作物研究所选育的桂热2号(GR2)。

低温敏感品种:新台糖22号(ROC22)。

1.2 方法

1.2.1 试验设计与管理

选择无病虫害、蔗茎大小均匀的甘蔗种茎切成单芽段,先用清水冲洗种茎并用干布擦洗干净,接着用50%多菌灵可湿性粉剂1000倍液浸泡12h消毒,再用蒸馏水浸洗种茎1min后,用蒸馏水浸洗拧干的棉布将种茎包好并做好标记,然后用橡皮筋扎好放进温度为25℃的恒温箱催芽。当种茎萌芽并长出幼根时,将其移植到装有营养土的塑料盆并做好标记。每盆1段种茎,盆高17.5cm,盆宽16.0cm。育苗期间,每株施用完全营养液2次,每次10mL。当幼苗两叶一心时,选择长势、大小均一的幼苗进行低温处理。低温胁迫处理组(T)温度为4℃,光照强度为5000lx,低温处理3d;对照组(CK)温度为28℃,光

照强度为5000lx。每个品种的处理组和对照组均设置3个重复。

1.2.2 叶片总RNA提取、文库构建及转录组测序

用植物总RNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]分别提取18个样本的总RNA,并用NanoDrop-2000分光光度计[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]测定其 A_{260} 、 A_{280} 值,然后经15%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测质量合格后送深圳华大基因科技服务有限公司进行cDNA文库的构建。以野生种割手密(*Saccharum spontaneum* L.)的参考基因组(<http://www.life.illinois.edu/Sspon.v20190103>)进行比对,最多允许5个错配。统计reads在参考序列上的分布情况及覆盖度。经检验合格后,运用Mortazavi等^[13]提出的FPKM(Fragments Per Kilobase per Million)法计算基因表达量,用于比较不同样品间的基因差异表达。参照Audic等^[14]描述的方法,对差异基因进行显著性分析。筛选的阈值为FDR(False Discovery Rate) ≤ 0.001 ,且倍数差异(Ratio)在2倍以上的基因被定义为显著差异基因。

1.2.3 基因共表达网络分析

使用权重基因共表达网络分析(Weighted Gene Co-expression Network Analysis, WGCNA)软件包进行基因共表达网络分析。用R语言DESeq2和edgeR包构建差异表达基因矩阵,其中在至少两个样本中CPM(Counts Per Million)值小于0的基因将被过滤掉。通过计算WGCNA包中相关函数的权重值(Pick Soft Threshold),以确定最佳软阈值参数,使网络无限趋向于无尺度网络的分布。根据基因间表达量的相关性构建聚类树,采用动态切割法将产生的聚类树切割,把表达模式相似的基因合并在同一分支上,每个分支代表1个共表达模块,将模块与性状进行关联分析^[15-17]。

1.2.4 生物信息学分析及抗寒基因筛选

根据WGCNA软件包分析与抗寒相关的模块,对模块中在3个甘蔗品种中均存在差异表达的已知基因进行GO富集分析,同时计算特异性模块的特征基因与差异表达基因之间的相关性(Module Membership, MM)、基因与表型性状的显著性(Gene Significance, GS),筛选出与模块、性状高度相关($|GS| > 0.8$ 和 $|MM| > 0.8$)的基因用于GO富集分析,筛选关键抗寒基因。

抗寒基因的筛选主要针对特异表达基因,即在抗

寒品种 GT28、GR2 中差异表达,但在不抗寒品种 ROC22 中无差异表达的基因。参考彭振等^[18]的研究方法,根据低温胁迫下各品种基因表达量差异,设置较高的筛选标准($|\log_2 \text{Ratio}| \geq 4$),且是在参考基因组中获得注释的已知基因。

2 结果与分析

2.1 测序数据及质量情况

本试验共有 18 个样品,共获得 785.99 M raw reads,过滤后共获得 765.88 M clean reads,平均每

表 1 18 个样本的数据产出情况汇总表

Table 1 Summary table of data output for 18 samples

| 样本名 Sample name | Raw reads/(M) | Clean reads/(M) | Clean bases/(Gb) | Q20/ (%) | Q30/ (%) | 基因组比 对率/(%) Genome alignment rate/(%) | 基因比 对率/(%) Gene alignment rate/(%) |
|-----------------------|------------------|--------------------|---------------------|-------------|-------------|---|--|
| GR2_CK1 | 44.82 | 42.83 | 6.42 | 97.27 | 92.79 | 77.84 | 74.44 |
| GR2_CK2 | 43.22 | 42.56 | 6.38 | 97.35 | 93.15 | 76.47 | 73.21 |
| GR2_CK3 | 43.63 | 42.67 | 6.40 | 97.03 | 92.50 | 73.69 | 71.28 |
| GR2_T1 | 43.81 | 42.87 | 6.43 | 97.36 | 93.02 | 73.07 | 69.26 |
| GR2_T2 | 44.32 | 42.61 | 6.39 | 97.44 | 93.28 | 73.65 | 69.59 |
| GR2_T3 | 45.11 | 42.67 | 6.40 | 97.44 | 93.28 | 74.50 | 70.79 |
| GT28_CK1 | 43.82 | 42.9 | 6.44 | 96.97 | 92.14 | 76.70 | 73.27 |
| GT28_CK2 | 42.88 | 42.64 | 6.40 | 97.81 | 94.00 | 71.82 | 68.43 |
| GT28_CK3 | 43.81 | 42.79 | 6.42 | 97.44 | 93.25 | 76.00 | 71.56 |
| GT28_T1 | 43.98 | 42.86 | 6.43 | 97.37 | 93.08 | 71.61 | 67.19 |
| GT28_T2 | 43.80 | 42.43 | 6.36 | 97.78 | 93.91 | 77.23 | 72.34 |
| GT28_T3 | 41.05 | 39.65 | 5.95 | 97.77 | 94.03 | 76.49 | 70.41 |
| ROC22_CK1 | 43.69 | 42.74 | 6.41 | 97.30 | 92.92 | 78.39 | 74.54 |
| ROC22_CK2 | 42.88 | 42.64 | 6.40 | 97.18 | 92.66 | 75.07 | 71.44 |
| ROC22_CK3 | 43.01 | 42.52 | 6.38 | 97.17 | 92.78 | 75.60 | 71.98 |
| ROC22_T1 | 42.98 | 42.76 | 6.41 | 97.53 | 93.49 | 74.28 | 70.17 |
| ROC22_T2 | 44.90 | 42.89 | 6.43 | 97.33 | 93.00 | 73.57 | 70.00 |
| ROC22_T3 | 43.66 | 42.85 | 6.43 | 97.22 | 92.70 | 72.69 | 69.16 |

2.2 差异基因表达分析

低温胁迫下,GR2 有 20 870 个上调表达基因,18 875 个下调表达基因;GT28 有 18 467 个上调表达基因,27 796 个下调表达基因;ROC22 有 20 670 个上调表达基因,20 699 个下调表达基因。进一步对 3 个品种的特有差异表达基因及共有差异表达基因进行分析,结果表明,有 16 844 个差异表达基因为 3 个品种共有;GT28、GR2 和 ROC22 中特有的差异表达基因分别为 17 207 个、6 263 个和 7 811 个(图 1)。

个样本获得 42.55 M clean reads。Q20 平均值 $\geq 97\%$,Q30 平均值 $\geq 93\%$,其中样品比对基因组的平均比率为 74.93%,比对基因的平均比率为 71.06%(表 1);共检测到表达的基因为 115 537 个,其中已知的基因为 73 844 个,预测的新基因为 41 693 个;共检测出 163 137 个新转录本,其中 76 263 个属于已知蛋白编码基因的新的可变剪接亚型,42 863 个属于新的蛋白编码基因的转录本,剩下的 44 011 个属于长链非编码 RNA。

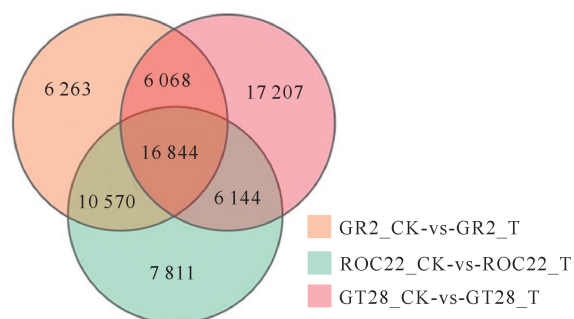


图 1 差异表达基因韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of differentially expressed genes

2.3 WGCNA 分析结果

2.3.1 软阈值的选择

由图2可知,当软阈值为18时, R^2 值大于0.8。故选18作为WGCNA后续分析的软阈值。

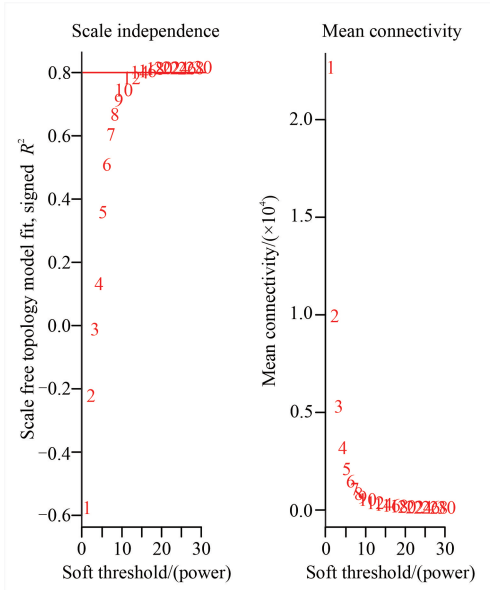


图2 软阈值确定

Fig. 2 Determination of soft threshold

2.3.2 模块鉴定

本试验共鉴定出13个模块,由不同的颜色代表。其中black模块包含588个基因,blue模块15 818个,brown模块12 642个,green模块3 038个,green-yellow模块72个,grey模块4 437个,magenta模块429个,pink模块577个,purple模块405个,red模块2 836个,salmon模块41个,tan模块66个,turquoise模块27 578个,yellow模块7 636个(图3)。

2.3.3 模块与性状的关联分析

将获得的模块与性状进行关联分析,结果如图4所示。本试验中所选的差异表达基因与品种(breed: 3个品种)的相关性不强,而与处理方式(condition)相关。其中位于brown、purple和blue模块中的差异基因与处理方式呈正相关;而位于magenta和yellow模块中的差异表达基因则与处理方式呈负相关。

2.3.4 显著性模块中差异表达基因选择

由图4可知,blue和yellow模块中的差异表达基因与低温处理存在中等强度的相关性,因此将这两个模块作为抗寒相关特异性模块重点关注。本试验在blue和yellow模块中鉴定出250个和466个差异

表达基因。其中关键基因的选择标准:GS值和MM值均大于0.8,且P值小于0.05(图5)。

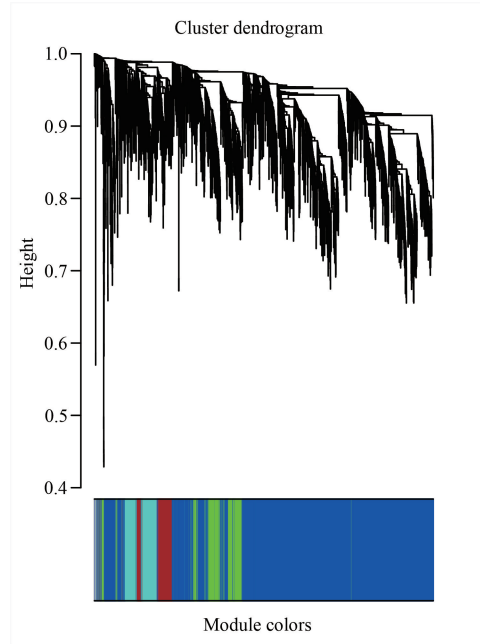
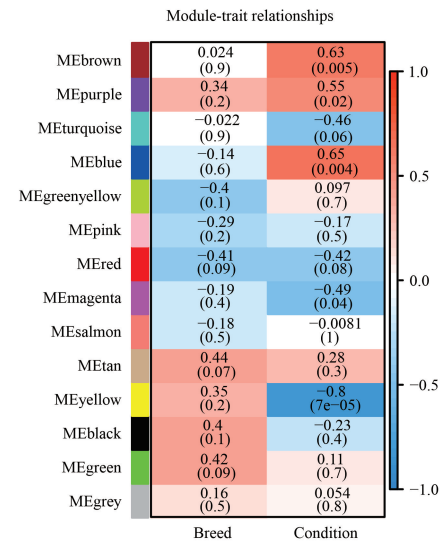


图3 基因聚类树和模块切割

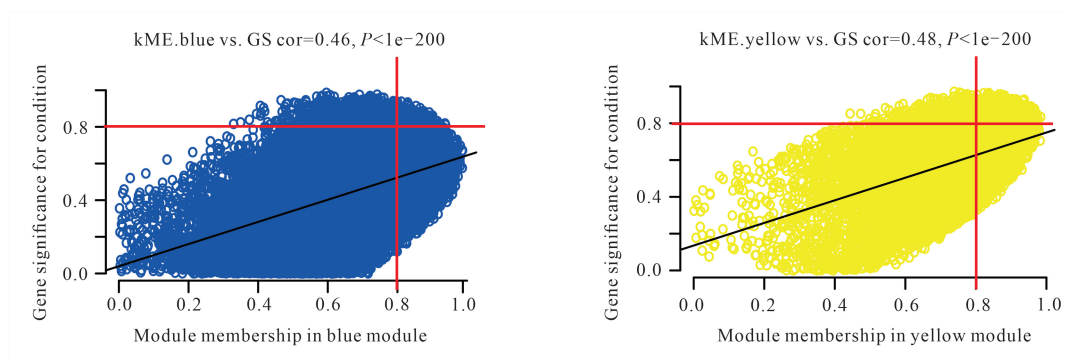
Fig. 3 Gene clustering tree and module cutting



The horizontal axis represents different traits and the vertical axis represents each co-expressed module. Red color of each box represents the positive correlation between module and trait. Blue color of each box represents the negative relationships between module and trait. The first value in each box is the correlation coefficient, and the second value is the P value. $P < 0.05$ was regarded as significant level.

图4 模块与性状关联热图

Fig. 4 Heat map of module-trait relationship



The red line represents the threshold range of GS and mm values.

图 5 显著性模块中差异表达基因选择

Fig. 5 Selection of differentially expressed genes in significance module

2.4 生物信息学分析及抗寒基因筛选

2.4.1 特异性模块 GO 富集分析及关键基因筛选

在 blue 和 yellow 模块中, 3 个甘蔗品种中均差异表达的已知基因分别有 118 个和 220 个。对差异表达的已知基因进行 GO 富集分析, 发现 blue 模块全部差异基因在 GO 数据库中均得到注释, 并显著富集到转座子核蛋白(Retrotransposon nucleocapsid)、

细胞核(Nucleus)、DNA 整合(DNA integration)等条目(图 6)。yellow 模块的差异基因主要富集到叶绿体(Chloroplast)、质体(Plastid)、类囊体(Thylakoid)、光系统 II 稳定(Photosystem II stabilization)等条目(图 7), 这些都与光合系统有关。进一步根据 MM 值和 GS 值筛选相关性较强的关键抗寒基因, 结果如表 2 所示, 共筛选到 6 个基因。

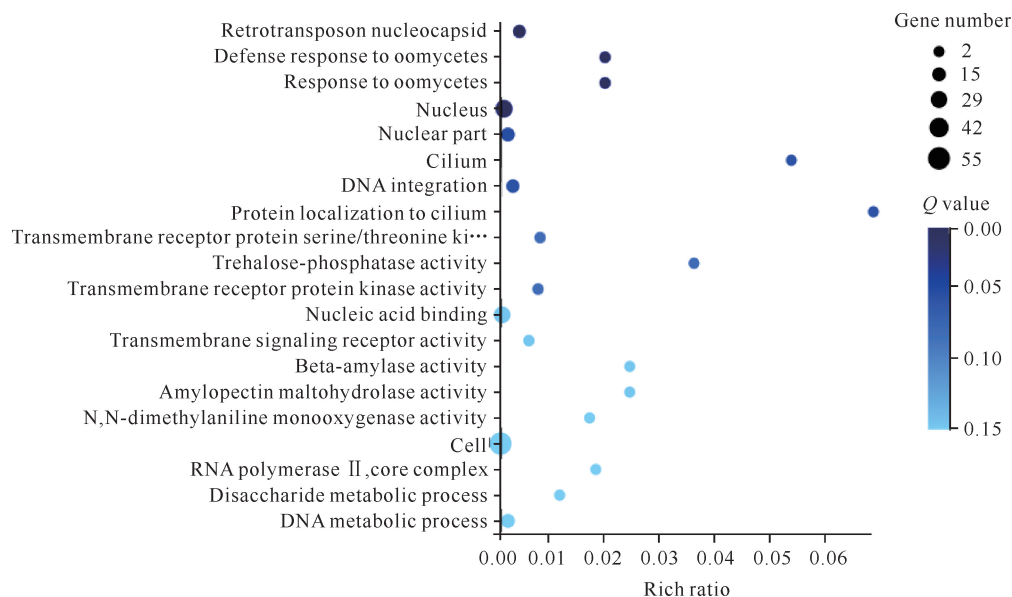


图 6 blue 模块 GO 富集分析

Fig. 6 GO enrichment analysis of blue module

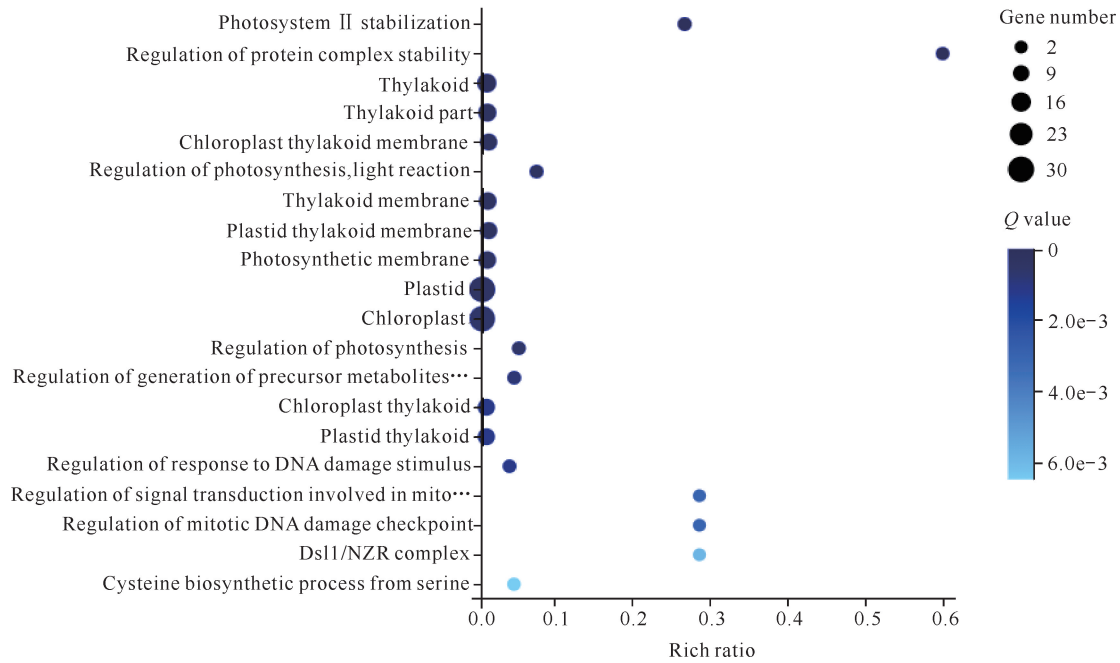


图7 yellow 模块 GO 富集分析

Fig. 7 GO enrichment analysis of yellow module

表2 blue 及 yellow 模块内相关性较强的基因

Table 2 Genes with stronger correlation in blue and yellow modules

| 模块颜色 Module colors | 基因编号 Gene ID | 注释 Annotation | 相似性 系数 abs_MM | 显著性 系数 abs_GS | GR2 差异倍数 log ₂ (GR2_T/ GR2_CK) | GT28 差异倍数 log ₂ (GT28_T/ GT28_CK) | ROC22 差异倍数 log ₂ (ROC22_T/ ROC22_CK) |
|--------------------------|-------------------------|---|---------------------|---------------------|--|---|--|
| Blue | Sspon. 07G0019810-4D | XP_002441941.2 transcriptional corepressor SEUSS | 0.891 470 322 | 0.878 648 239 | 2.97 | 1.21 | 3.41 |
| | Sspon. 05G0016040-4D | OMO56314.1 Alcohol dehydrogenase superfamily, zinc-type | 0.879 268 5 | 0.849 487 8 | 2.75 | 2.02 | 2.27 |
| | Sspon. 05G0016010-2C | XP_002449403.1 uncharacterized protein LOC8071727 | 0.876 683 297 | 0.857 061 803 | 4.69 | 4.58 | 7.73 |
| Yellow | Sspon. 03G0036590-2C | XP_002455041.1 1.2e-40 phosducin-like protein 3 | 0.920 949 051 | 0.915 423 181 | -1.71 | -1.30 | -1.95 |
| | Sspon. 04G0003300-4P | RLM54171.1 hypothetical protein C2845_PM10G07800 | 0.917 346 892 | 0.927 020 53 | -2.20 | -1.12 | -2.95 |
| | Sspon. 04G0010260-2C | XP_002453987.1 uncharacterized protein LOC8068881 | 0.915 899 949 | 0.895 077 201 | -3.88 | -2.42 | -2.97 |

2.4.2 特异表达基因 GO 富集分析及关键基因筛选

在两个耐寒品种中,共筛选到 204 个特异表达的已知基因,其中有 174 个基因上调和下调表达的趋势一致,一致率达到 85.3%。为了探索特异表达基因主要参与的生物途径和分子功能,对上述 174 个基因进行 GO 富集分析,发现其显著富集到乙醛酸循环

(Glyoxylate cycle)、乙醛酸代谢过程 (Glyoxylate metabolic process)、苹果酸合成酶活性 (Malate synthase activity)、蛋白磷酸化 (Protein phosphorylation) 等生物过程 (图 8)。筛选出表达差异倍数较大、可能与抗寒功能有关的基因如表 3 所示。

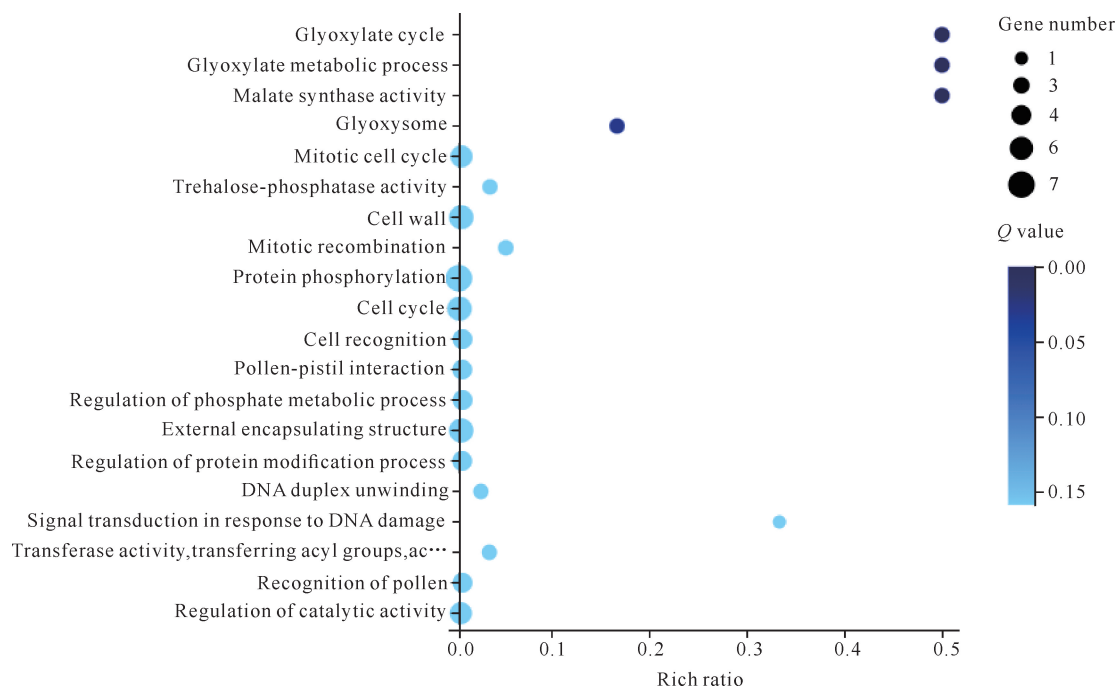


图 8 特异表达基因 GO 富集分析

Fig. 8 GO enrichment analysis of specific expression genes

表 3 特异表达基因筛选

Table 3 Screening of specific expression genes

| 基因编号 Gene ID | 注释 Annotation | \log_2 (GR2_T/ GR2_CK) | \log_2 (GT28_T/ GT28_CK) | 筛选标准 Screening criteria |
|----------------------|--|-----------------------------|-------------------------------|--|
| Sspon. 05G0013050-2C | XP_002446278.1 stearoyl-[acyl-carrier-protein] 9-de-saturase 5, chloroplastic | 8.55 | 7.95 | The multiple difference in gene expression between the two varieties is greater than 6 |
| Sspon. 08G0030000-1D | XP_021305015.1 probable pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase DEAH4 isoform X2 | 7.09 | 6.79 | |
| Sspon. 01G0014100-3C | AQL05605.1 zinc finger protein | -6.33 | -6.64 | |
| Sspon. 07G0021990-3D | AGT16134.1 hypothetical protein SHCRBa_127_N06_F_60 | -7.90 | -6.29 | |
| Sspon. 04G0006870-3D | XP_021315764.1 probable trehalose-phosphate phosphatase 1 | 5.47 | 6.398 7 | Participate in cold resistant metabolic pathway |
| Sspon. 03G0021430-3C | EES00261.2 hypothetical protein SORBI_3003G058400 | 4.78 | 6.17 | |
| Sspon. 02G0014860-2B | XP_002462365.1 transcription factor bHLH30 | -4.82 | -4.23 | |

3 讨论

低温是影响植物生长、生存及分布的重要环境因子,是造成作物减产的主要原因^[19],特别是热带和亚热带的许多重要作物和水果,如甘蔗^[20]、香蕉(*Musa nana* Lour.)^[21]、菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus* Lam.)等^[22],低温(0-12℃)条件会使植株的生长受到抑制、损害,甚至会导致其死亡。在作物响应低温胁迫过程中,其体内会发生快速而广泛的分子水平调节,主要涉及低温信号转导、转录、转录后修饰和翻译

等多层次调节^[23]。本研究在转录水平分析抗寒性不同的甘蔗品种在低温胁迫下差异表达的基因,并通过 WGCNA 鉴定出 13 个模块,结合相关性分析筛选到 blue 和 yellow 两个模块作为甘蔗抗寒机理研究的目标模块。分析在两个抗寒品种中特异表达的基因,发现有 174 个基因上调和下调表达的趋势一致,一致率较高,达到 85.3%,这些基因可能与甘蔗抗寒性相关。

对各模块内的基因进行 GO 富集分析,发现这些基因富集到多个不同的 GO 条目,表明植物对胁迫的

应答及防御机制十分复杂,往往涉及多种协同信号传导和代谢途径,如细胞壁(Cell wall)、类囊体、光系统Ⅱ稳定、乙醛酸代谢过程等,这与前人的研究成果^[24,25]一致,后续研究应重点关注。

Blue 模块上调表达的基因 Sspon. 07G0019810-4D 为转录辅阻遏物 SEUSS (Transcriptional corepressor SEUSS), SEUSS 的功能主要是参与调控花的形成及发育^[26-28],有关其在低温胁迫中的研究较少,如 SEUSS 参与生长素信号途径^[29]。低温胁迫下植物体内的激素水平通常会发生改变,进而调节生理代谢活动,以增强植物抗寒性^[30,31]。刘世红等^[32]研究油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.) 抗寒性与内源激素的关系,发现抗寒性高的品种其叶片生长素含量显著高于抗寒性低的品种,且随着温度的降低,生长素含量快速升高,表明 SEUSS 与植物抗寒性有一定的相关性。Sspon. 05G0016040-4D 为乙醇脱氢酶(Alcohol dehydrogenase),当温度降到 0-12 °C 时,乙醇脱氢酶会使细胞膜脂过氧化,甚至致使某些对低温敏感的植物细胞死亡,即发生低温胁迫,而乙醇可抑制植物细胞膜脂的分解,增加膜脂流动性,提高低温耐受能力^[33]。乙醇脱氢酶是乙醇生成途径中的关键酶,关于乙醇脱氢酶与低温胁迫的关系前人也做了许多研究^[34-36]。yellow 模块下调表达的基因 Sspon. 03G0036590-2C 为类光传感因子蛋白(Phosducin-like protein 3),类光传感因子蛋白在植物方面的研究较少。Castellano 等^[37]研究发现类光传感因子蛋白参与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 中微管的形成。类光传感因子蛋白的下调表达可能是因为低温使甘蔗细胞受到一定损伤,且在不抗寒品种中下调更为明显,说明这一性状受低温胁迫影响较大。基因的表达调控具有明显的时空特异性,上调表达或者下调表达均反映出基因参与调控过程。

特异表达基因中 Sspon. 05G0013050-2C、Sspon. 08G0030000-1D、Sspon. 01G0014100-3C 和 Sspon. 07G0021990-3D 在两个抗寒品种中差异表达倍数较大。Sspon. 05G0013050-2C 为硬脂酰-ACP 脱氢酶(Stearoyl-acyl carrier protein Δ^9 desaturase, SAD),是控制植物细胞饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸比例的关键酶,该酶使细胞膜的流动性增强,进而提高植物的抗逆能力^[38]。Sspon. 08G0030000-1D 为 ATP 依赖性 RNA 解旋酶(Probable pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase DEAH4 isoform X2),其作为剪接体的组成部分参与前 mRNA

剪接。RNA 解旋酶在植物的生长发育过程和逆境响应途径中起着重要的调控作用^[39]。Sspon. 01G0014100-3C 为锌指蛋白(Zinc finger protein),是植物中一类重要的转录因子,在基因的表达调控、细胞分化等生命过程中发挥重要作用^[40]。Sspon. 03G0021430-3C 和 Sspon. 04G0006870-3D 的生物信息学分析显示其具有寒冷应答(GO:0009409)和温度刺激应答(GO:0009266)功能,可能参与甘蔗的抗寒调控途径。在植物中研究较为透彻的低温响应信号通路为 CBF/DREB1 信号途径^[41,42]。本研究筛选出的特异表达基因中,Sspon. 02G0014860-2B 参与到 CBF 代谢通路(K22484)中,可重点关注研究。

植物对胁迫的应答过程涉及多个代谢途径和调控通路,是一个复杂的过程。本研究通过转录组测序技术分析不同抗寒性甘蔗在低温胁迫下差异表达的基因,为后续选育抗寒性强的优良甘蔗新品种提供理论依据和基因资源。

参考文献

- [1] 张跃彬,邓军,胡朝晖.“十三五”我国蔗糖产业现状及“十四五”发展趋势[J].中国糖料,2022,44(1):71-76.
- [2] 董舒蕾,张永成.广西蔗糖业发展现状分析[J].现代农机,2021,6:27-29.
- [3] 邓展云,刘海斌,张革民,等.2007~2008年榨季广西甘蔗霜冻发生危害规律的调查[J].中国糖料,2009,1:47-50.
- [4] 李杨瑞,方锋学,吴建明,等.2010/2011榨季广西甘蔗生产冻害调查及防御对策[J].南方农业学报,2011,42(1):37-42.
- [5] MENOSSI M, SILVA-FILHO M C, VINCENTZ M, et al. Sugarcane functional genomics: gene discovery for agronomic trait development [J]. International Journal of Plant Genomics, 2008: 458732.
- [6] 陈香玲,李杨瑞,杨丽涛,等.低温胁迫下甘蔗抗寒相关基因的 cDNA-SCOT 差异显示[J].生物技术通报,2010,217(8):120-124.
- [7] 黄杏,杨丽涛,张保青,等.甘蔗脱落酸胁迫成熟诱导蛋白基因(SoASR)的克隆和表达分析[J].生物技术通报,2013,247(2):93-99.
- [8] KHAN N A, BEDRE R, PARCO A, et al. Identification of cold-responsive genes in energycane for their use in genetic diversity analysis and future functional marker development [J]. Plant Science, 2013, 211: 122-131.
- [9] 成伟,程光远,彭磊,等.甘蔗胁迫诱导表达基因 ScCBF1 的功能分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),

- 2017,46(2):172-179.
- [10] 成伟,郑艳茹,葛丹凤,等.甘蔗转录激活因子 ScCBF1 基因的克隆与表达分析[J].作物学报,2015,41(5):717-724.
- [11] 庞新华,朱鹏锦,周全光,等.广西蔗区引进甘蔗品种(系)的比较试验[J].作物杂志,2016,32(2):73-78.
- [12] 朱鹏锦,庞新华,梁春,等.低温胁迫对甘蔗幼苗活性氧代谢和抗氧化酶的影响[J].作物杂志,2018,34(4):131-137.
- [13] MORTAZAVI A,WILLIAMS B A,MCCUE K,et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq [J]. Nature Methods,2008,5(7):621-628.
- [14] AUDIC S,CLAVERIE J M. The significance of digital gene expression profiles [J]. Genome Research,1997,7(10):986-995.
- [15] LANGFELDER P,HORVATH S. WGCNA:an R package for weighted correlation network analysis [J]. BMC Bioinformatics,2008,9(1):1-13.
- [16] HU Z J,SNITKIN E S,DELISI C. VisANT:an integrative framework for networks in systems biology [J]. Briefings in Bioinformatics,2008,9(4):317-325.
- [17] SHANNON P,MARKIEL A,OZIER O,et al. Cytoscape:a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Research,2003,13(11):2498-2504.
- [18] 彭振,何守朴,龚文芳,等.陆地棉幼苗 NaCl 胁迫下转录因子的转录组学分析[J].作物学报,2017,43(3):354-370.
- [19] 庞新华,朱鹏锦,周全光,等.甘蔗对低温胁迫响应的研究进展[J].贵州农业科学,2015,43(6):31-35.
- [20] 何燕,谭宗琨,丁美花,等.2008年罕见低温冻害对广西甘蔗及蔗糖业的影响[J].灾害学,2009,24(1):68-72.
- [21] 林贵美,李小泉,韦绍龙,等.2011年早春我国香蕉寒害调查及寒害后恢复对策[J].南方农业学报,2012,43(1):46-49.
- [22] 宋奇琦,朱鹏锦,何江,等.低温对不同菠萝蜜种质资源光合生理特性的影响[J].农业研究与应用,2021,34(6):7-13.
- [23] 吴丹,毛东海,赵小英.植物低温响应的分子机制研究进展[J].生命科学研究,2022,26(1):67-75.
- [24] 赵春旭,马祥,董文科,等.低温胁迫下不同青海野生草地早熟禾的转录组比较分析[J].草地学报,2020,28(2):305-318.
- [25] ZHUANG Q Q,CHEN S P,JUA Z X,et al. Joint transcriptomic and metabolomic analysis reveals the mechanism of low temperature tolerance in *Hosta ventricosa* [J]. PLoS One,2021,16(11):e259455.
- [26] 唐仕云,杨丽涛,李杨瑞.低温胁迫下不同甘蔗品种的转录组比较分析[J].生物技术通报,2018,34(12):116-124.
- [27] SRIDHAR V V,SURENDRARAO A,GONZALEZ D,et al. Transcriptional repression of target genes by LEUNIG and SEUSS,two interacting regulatory proteins for *Arabidopsis* flower development [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,2004,101(31):11494-11499.
- [28] FRANKS R G,LIU Z C,FISCHER R L. SEUSS and LEUNIG regulate cell proliferation,vascular development and organ polarity in *Arabidopsis* petals [J]. Planta,2006,224(4):801-811.
- [29] BAO F,AZHAKANANDAM S,FRANKS R G. SEUSS and SEUSS-LIKE transcriptional adaptors regulate floral and embryonic development in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology,2010,152(2):821-836.
- [30] PFLUGER J,ZAMBRYSKI P. The role of SEUSS in auxin response and floral organ patterning [J]. Development,2004,131(19):4697-4707.
- [31] 李雪苗,南莉,张钢,等.生长素和激动素对大叶黄杨抗寒性的影响[J].林业与生态科学,2020,35(3):333-337.
- [32] 刘世红,倪书邦,魏丽萍,等.油棕抗寒性与内源激素的关系[J].中国农学通报,2015,31(21):144-148.
- [33] 刘威,陈昊,靳亚忠,等.高等植物醇脱氢酶及其基因家族研究进展[J].植物生理学报,2014,50(10):1479-1493.
- [34] CHRISTIE P J,HAHN M,WALBOT V. Low-temperature accumulation of alcohol dehydrogenase-1 mRNA and protein activity in maize and rice seedlings [J]. Plant Physiology,1991,95(3):699-706.
- [35] KATO-NOGUCHI H,YASUDA Y. Effect of low temperature on ethanolic fermentation in rice seedlings [J]. Journal of Plant Physiology,2007,164(8):1013-1018.
- [36] 严建萍,梁燕,谭湘陵.淹涝和低温胁迫对小麦幼根 ADH 与 BADH 表达的影响[J].江苏农业科学,2011,39(6):153-154.
- [37] CASTELLANO M M,SABLOWSKI R. Phosducin-like protein 3 is required for microtubule-dependent steps of cell division but not for meristem growth in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell,2008,20(4):969-981.
- [38] 赵训超,徐晶宇,盖胜男,等.高粱硬脂酰-ACP 脱氢酶基因(*SbSAD*)家族鉴定及不同发育阶段表达分析[J].

- 作物杂志, 2020, 35(2): 20-27.
- [39] 许瑞瑞, 李高青, 刘彩云, 等. 低温胁迫对番茄 RNA 解旋酶 *SIDEAD34* 基因表达的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2017, 35(3): 76-82.
- [40] 徐佳, 赵玉红, 侯献飞, 等. 白菜型冬油菜锌指蛋白基因 *BrZFP1* 的克隆和功能分析[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(2): 236-248.
- [41] 陈紫媚, 孙小媛, 王韞慧, 等. 拟南芥中 CBF 介导的低温信号转导途径研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2020, 41(7): 139-144.
- [42] JAGLO-OTTOSEN K R, GILMOUR S J, ZARKA D G, et al. *Arabidopsis CBF1* overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance [J]. *Science*, 1998, 280(5360): 104-106.

Transcriptome Analysis of Three Sugarcane Varieties in Response to Low Temperature Stress

ZHU Pengjin^{* * *}, SONG Qiqi, TAN Qinliang, CHENG Qin, LI Jiahui, PANG Xinhua, ZHOU Quanguang, LÜ Ping, OU Kewei, LU Yefei, NONG Zemei
(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi, 530001, China)

Abstract: In order to explore the specific genes of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) in response to low temperature and reveal the molecular regulation mechanism of sugarcane in response to low temperature, three sugarcane varieties with different cold resistance were used as experimental materials, and the gene expression differences of sugarcane varieties with different cold resistance under low temperature stress (4 °C) were analyzed by transcriptome sequencing technology. The research results showed that 13 gene co-expression modules were identified by Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA), and blue and yellow modules were selected as the target modules for the study of sugarcane cold resistance mechanism by correlation analysis. Based on blue and yellow modules, 13 genes responding to low temperature stress that may be closely related to the cold resistance of sugarcane were screened, which provided an important reference for the subsequent selecting and breeding of new sugarcane varieties with strong cold resistance.

Key words: sugarcane; low temperature; transcriptome; Weighted Gene Co-expression Network Analysis

责任编辑: 陆 雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>