

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2014.02.03

盐胁迫下盐穗木差异表达基因的转录组信息分析

赵航, 贾富强, 张富春, 王艳*

(新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源与基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046)

摘要:盐穗木是一种理想的耐盐模式植物, 本文利用生物信息学方法分析盐穗木在盐胁迫下差异表达基因的转录组, 为盐穗木耐盐机理及耐盐关键基因的储备提供理论依据。基于盐穗木在盐胁迫(600 mM NaCl)下差异表达的转录组数据, 以代谢通路中基因表达数量最多的7条通路和与胁迫刺激响应相关的共8条通路为主要研究内容, 筛选出上调和下调表达差异显著的 unigene, 将其与 NCBI 数据库中所有物种相关基因进行 Blastx 比对, 筛选出通路中上调和下调差异表达最显著的 unigene, 同时对差异表达活跃的 unigene 进行分类汇总。共得到 23 组差异表达活跃的基因类群, 分别是乙烯响应因子、WRKY 转录因子、Myb 转录因子、bZIP 转录因子、葡聚糖酶、6-磷酸脱氢酶、醛脱氢酶、柠檬酸合成酶、蛋白激酶等, 推测这些类群的基因在盐穗木耐盐机制中发挥重要作用。

关键词:盐穗木; 盐胁迫; 转录组分析; 差异表达

中图分类号: Q753 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-5565(2014)-02-090-09

The transcriptome information analysis of differentially expressed genes of *Halostachys caspica* under salt stress

ZHAO Hang, JIA Fuqiang, ZHANG Fuchun, WANG Yan*

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering,

College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: *Halostachys caspica* is an ideal mode of salt-tolerant plants. The differential expressed transcriptome of *Halostachys caspica* under salt stress was analyzed in order to provide theories for its salt-resistance mechanism. The transcriptome information of differentially expressed genes of *Halostachys caspica* under salt stress (600 mM NaCl) was analyzed by bioinformatics methods. 7 metabolic pathways which had the largest number of unigenes and the response to stimulus pathway were considered as the main research contents. The highest and the lowest unigenes which had the significant difference in expression were presented. Compared with the related genes of all species on Blastx of NCBI, the unigenes of 8 metabolic pathways were classified as the actively expressed genes. There are 23 groups of genes such as ERF, WRKY, MYB, bZIP, glucanase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, citrate synthase, protein kinase and so on, which possibly have the important functions for salt tolerance of *Halostachys caspica*.

Keywords: *Halostachys caspica*; Salt stress; Transcriptome analysis; Differential expression

土壤盐渍化是影响全球作物产量和食品安全的首要限制因素。目前,世界约 20% 的灌溉土地都受到盐渍化影响^[1-2]。新疆是中国荒漠化大区,也是中国最大的盐土区,因此,研究新疆地区盐生植物的耐盐机制具有重要的理论和应用价值。

转录组研究是一个发掘功能基因的重要途径,是基因功能及结构研究的基础和出发点,相对于基因组学而言具有研究范围小、针对性强的优点。近年来,基于新一代测序技术的高通量转录组测序(RNA-seq)是利用大规模测序技术直接对 cDNA 序

收稿日期:2013-10-26;修回日期:2013-11-29.

资助项目:973 计划前期研究专项(2012CB722204);新疆大学本科生科研实践训练项目(XJU-SRT-13054)资助。

作者简介:赵航,男,本科生,研究方向:生物技术;E-mail:1246586992@qq.com.

* 通信作者:王艳,博士,副教授,研究方向:植物抗逆的生理学与分子机制;E-mail:wangyan7899@gmail.com.

列进行测序,产生数以千万计的 reads 数量,从而使一段特殊基因组区域的转录水平可以通过直接比对该基因组区域的 reads 数来衡量。因此,被认为是一种在转录水平上更为精确的测定分析方法^[3]。

盐穗木(*Halostachys caspica*)属藜科(*Chenopodiaceae*)盐穗木属(*Halostachys C.A.Mev*),在我国主要分布于新疆、甘肃一带的荒漠、半荒漠盐碱地,是一种理想的耐盐模式生物,在长期进化过程中形成了与盐胁迫相适应的独有特征和调控机制,是获取植物耐盐基因的重要资源,具有重要的研究价值^[4]。目前,鉴于利用高通量转录组测序技术已发现了胡杨^[5]、海滨锦葵^[6]、盐芥^[7]、大豆^[8]等植物与耐盐相关的信号转导、转录、次级代谢、转运、疾病防御等大量相关基因,这也为探索盐穗木耐盐机制提供了研究思路。

1 材料与方法

1.1 材料

盐穗木(*Halostachys caspica*)种子采自新疆 103 团通古特沙漠。在温室中于珍珠岩和蛭石(3:1)的混合基质中进行种子萌发,平均培养温度 25 °C,光照时间 16 h/d,相对湿度 40%。以生长 5 个月左右的盐穗木幼苗为材料,600 mM NaCl 胁迫处理 0、12 和 24 h,每个处理随机取样 3 株,重复 3 次。将 0 h 作为对照组,12 h 和 24 h 等量进行混合作为处理组,放入液氮中冷冻,置-80 °C 保存。

后续对处理组和对照组样品的处理,包括对总 RNA 的提取、纯化,cDNA 文库构建,转录组测序及相关分析等,委托北京华大基因公司完成,并返还转录组测序数据。

1.2 方法

根据获得的盐穗木转录组信息 GO 分类,以三大生物过程生物学过程(Biological process)、细胞组分(Cellular component)、分子功能(Molecular function)中 unigene 数量最多的 7 条代谢通路细胞过程(Cellular process)、代谢过程(Metabolic process)、细胞(Cell)、细胞部分(Cell part)、细胞器(Organelle)、结合(Binding)、催化活性(Catalytic activity)和与胁迫相关的刺激响应(Response to stimulus)共 8 条通路作为本研究的重点。差异倍数在 2 倍以上的基因定义为差异表达基因,利用 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 网站上所提供的 Blastx 将上述 8 条代谢通路中的 unigene 与所有生物物种(包括动物、植物和微生物等)进行比对,并对 8 条代谢通路表达最高的上调基因和下调基因进

行总结,再将各通路表达差异活跃的功能类群基因进行分类汇总。

2 结果分析

2.1 盐穗木在盐胁迫下转录组差异表达 unigene 的功能分类

盐穗木在盐胁迫下差异表达的 unigene 共有 31 490 个,其中已知功能 unigene 12 118 个,基于 Gene Ontology^[9]将已知的 unigene 按照生物学过程(Biological process)、细胞组分(Cell component)和分子功能(Molecular function)三大类进行分类整理。功能分类结果如图 1 所示,生物学过程中代谢过程(37.05%)、细胞过程(34.19%)、定位相关(6.65%),细胞组成中细胞(32.20%)、细胞部分(32.19%)、细胞器(24.46%),分子功能中结合(44.13%)、催化活性(40.34%)等 7 条代谢通路中差异表达基因所占的比例较高,推测它们以及与胁迫相关的刺激响应(4.91%)代谢通路可能在盐穗木耐盐机制中发挥重要作用,因而将它们作为后期研究通路的重点。

2.2 8 条代谢通路中 unigene 表达倍数的分布和表达差异最显著的 unigene

对上述 8 条代谢通路中差异表达显著 unigene 的分布进行分析,发现上调和下调 unigene 的数量差异较为明显(见图 2),且 unigene 的上调或下调倍数大多集中在 5~7 倍(见图 3)。通过进一步对 8 条代谢通路差异表达 unigene 的 Blastx 比对分析,表 1 列出了各通路中表达最高的上调基因和下调基因,其中各通路中下调基因大多编码假设或未知蛋白产物,而各通路表达最高的上调基因主要为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、乙酰辅酶 A 脱氢酶、HD-Zip 转录因子、氨基酸通透酶等。丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶作为一类重要的信号分子,在接受外界信号时被激活并对下游分子进行磷酸化,将外界信号传递给细胞核以调节特异基因表达^[10-11],该 unigene 在盐穗木盐胁迫响应的细胞(Cell)与细胞部分(Cell part)中上调表达最显著。细胞在盐胁迫下通过吸收支链氨基酸并将它们转化为脂肪酸以调节质膜的流动性,避免或减少因环境胁迫而造成的危害。乙酰辅酶 A 脱氢酶不仅参与真核生物 β -氧化过程,还可作为多种氨基酸(Ile、Leu、Val)的代谢酶类,同时催化辅酶 A 共轭脂肪酸的脱饱和和反应^[6],推测乙酰辅酶 A 脱氢酶在盐穗木抵御盐胁迫过程中发挥重要作用。HD-Zip 家族转录因子参与高盐等多种非生物胁迫下的激素信号传导,通过与激素途径组分和

下游组分的互作调控植物细胞扩增、分裂和分化,从而提高植物耐逆性^[12]。氨基酸能够提高植物对盐胁迫的响应和适应能力,当植物处于高盐环境时某些氨基酸(如脯氨酸)会被诱导合成,其结果增加了体内相关氨基酸含量,增强或稳定了解毒酶的活性以及刺激响应胁迫蛋白的积累等,进而提高植物的

耐盐能力^[13],盐穗木中氨基酸通透酶(Unigene33431_Hc-TA)在盐胁迫下的表达倍数为对照的8.84倍,其可能通过调控体内相关氨基酸含量以响应盐胁迫。综上,推测这些高表达 unigene 可能是参与盐穗木耐盐密切相关的功能基因和调控基因。

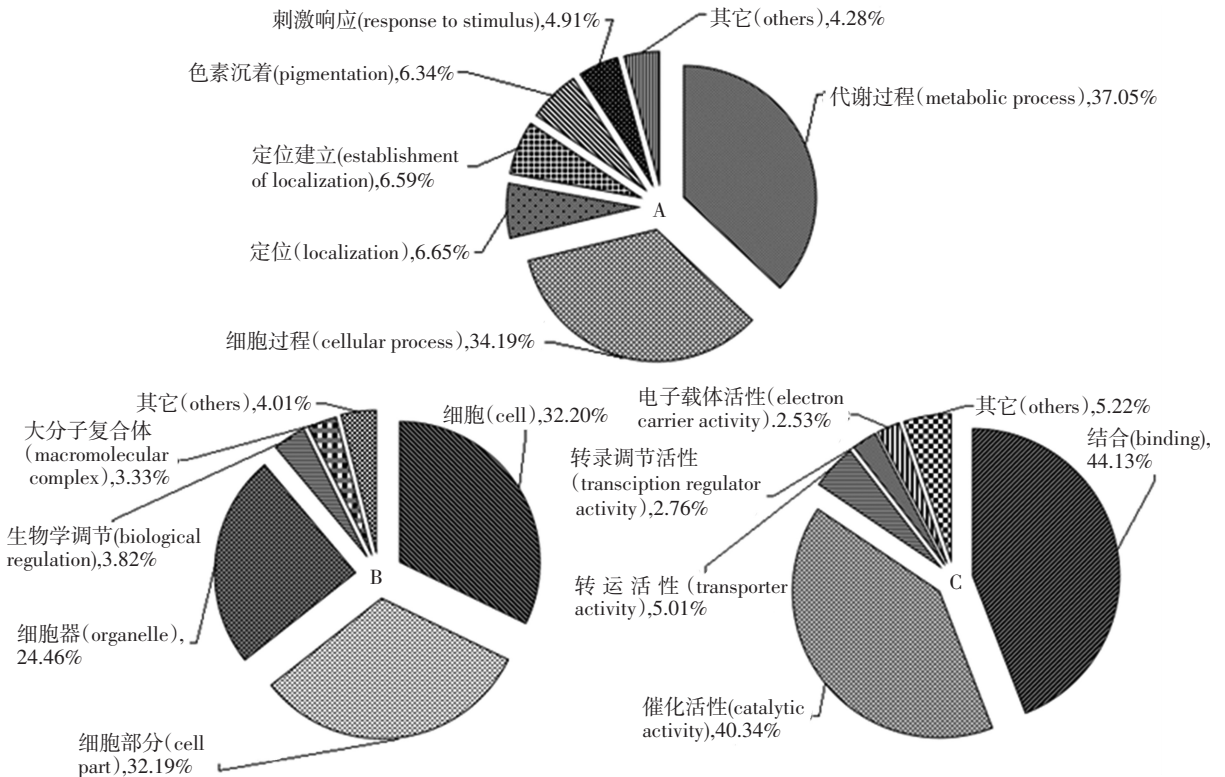


图1 盐穗木转录组 unigene 的 GO 功能分类

Fig.1 Gene ontology of *Halostachys caspica* unigene in digital transcriptome

注: A、B、C 分别代表:生物学过程、细胞组分和分子功能3大代谢通路,其中不同代谢通路的数量百分比已列出。

Notes: A, B and C respectively represent biological process, cellular component and molecular function. The number of percentage for each metabolic pathway is shown.

2.3 8条代谢通路中差异表达活跃的基因类群

通过对8条代谢通路的所有 unigene 进行 Blastx 比对分析,分类汇总共得到23组差异表达活跃的基因类群,包括乙烯响应因子、WRKY 转录因子、Myb 转录因子、bZIP 转录因子、葡聚糖酶、6-磷酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、醛脱氢酶、线粒体柠檬酸合成酶、蛋白激酶等(表2)。这些基因类群中多个基因属于相同类群或单个基因参与多条通路。如其中有3条 unigene (Unigene4581_Hc-TA、Unigene2119_Hc-TA 和 Unigene120068_Hc-TA) 均属 MYB 转录因子类群,而其中 Unigene120068_Hc-TA 又参与了细胞、细胞部分、结合3条代谢通路;WRKY 转录因子类群中包含

4条不同的 unigene,分别为 Unigene45052_Hc-TA、Unigene63539_Hc-TA、Unigene33561_Hc-TA、Unigene12063_Hc-TA,其中前3条 unigene 参与了多条代谢通路。以上数据表明上述基因类群广泛参与盐穗木盐响应的各个通路,各类群之间可能相互关联、相互作用,如 ERF、WRKY、MYB、ZIP 等类群转录因子对盐、干旱、损伤和生物等多种胁迫^[16-19] 均能积极响应。乙酰辅酶A脱氢酶、柠檬酸合成酶、苹果酸脱氢酶等类群参与糖脂代谢,可与其他功能蛋白直接或间接影响植物生理状态。表2中的23种基因类群响应盐胁迫较为敏感,推测它们可能在盐穗木耐盐机制中发挥重要作用。

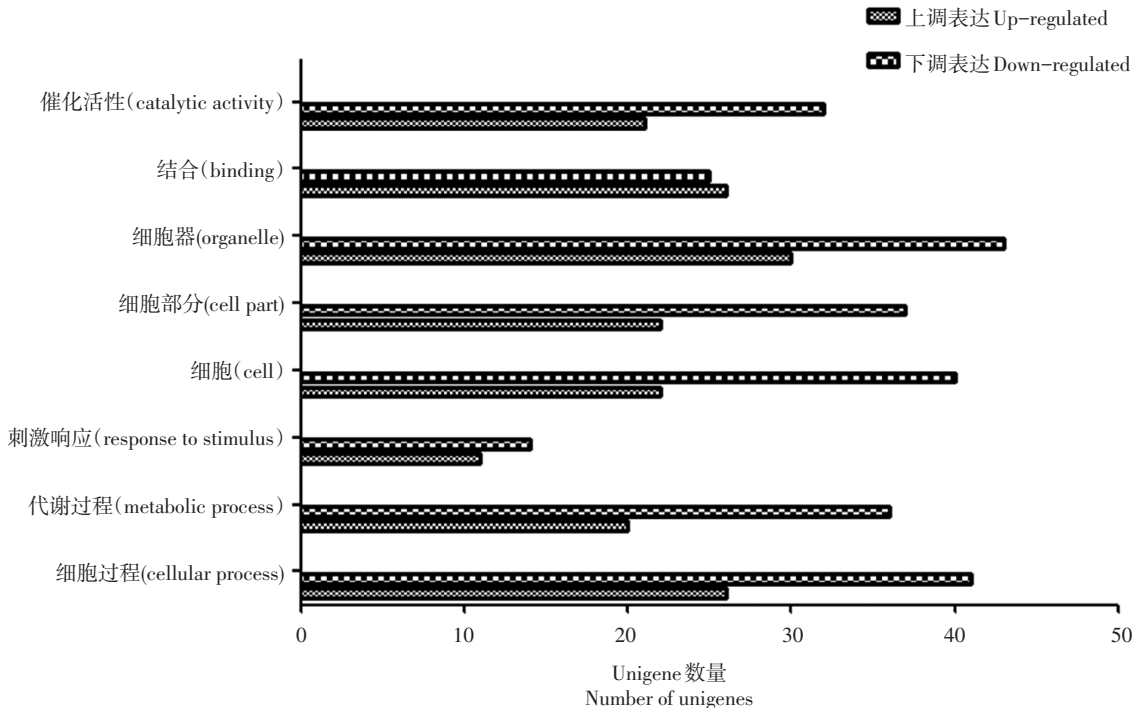


图 2 8 条代谢通路中上调和下调差异表达显著的 unigene 数量

Fig.2 Number of up-regulated and down-regulated differentially expressed unigenes in the 8 metabolic pathways

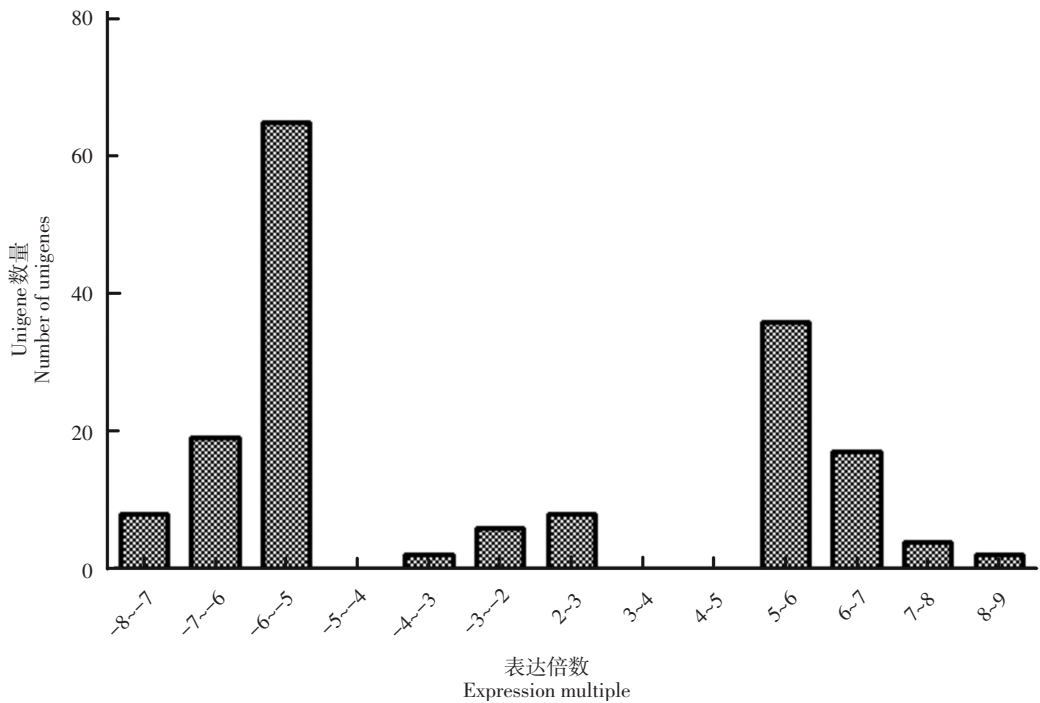


图 3 8 条代谢通路差异表达显著 unigene 的分布

Fig.3 Distribution of differentially expressed unigenes in the 8 metabolic pathways

注:负值为下调表达倍数,正值为上调表达倍数。

Notes: Negative value is down-regulated expression multiple and positive value is up-regulated expression multiple.

表1 8条代谢通路中表达差异最显著的上调基因和下调基因

Table 1 The highest differentially expressed genes in the 8 metabolic pathways

上调基因和下调基因	代谢通路	功能描述	表达倍数	E 值	相似度	检索号	大小(bp)
上调表达基因							
Unigene125607_Hc-TA	A	PREDICTED: aspartate aminotransferase, chloroplastic-like [<i>Solanum lycopersicum</i>]	8.71	2E-68	75%	XP_004245266.1	521
Unigene125607_Hc-TA	B	PREDICTED: aspartate aminotransferase, chloroplastic-like [<i>Solanum lycopersicum</i>]	8.71	2E-68	75%	XP_004245266.1	521
Unigene33431_Hc-TA	C	amino acid permease, putative [<i>Ricinus communis</i>]	8.84	2E-57	55%	XP_002517413.1	523
Unigene115681_Hc-TA	D	3-hydroxyacyl-CoA dehydratase [<i>Dianthus caryophyllus</i>]	6.91	5E-28	64%	BAN15749.1	343
Unigene116859_Hc-TA	D	PREDICTED: probable serine/threonine-protein kinase drkB-like isoform 2 [<i>Fragaria vesca subsp. vesca</i>]	6.91	3E-59	78%	XP_004293645.1	355
Unigene115681_Hc-TA	E	3-hydroxyacyl-CoA dehydratase [<i>Dianthus caryophyllus</i>]	6.91	5E-28	64%	BAN15749.1	343
Unigene116859_Hc-TA	E	PREDICTED: probable serine/threonine-protein kinase drkB-like isoform 2 [<i>Fragaria vesca subsp. vesca</i>]	6.91	3E-59	78%	XP_004293645.1	355
Unigene119429_Hc-TA	F	class III HD-Zip protein HDZ32A [<i>Austrobaileya scandens</i>]	8.57	4E-83	92%	ABG73256.1	384
Unigene26323_Hc-TA	G	transposase [<i>Amaranthus palmeri</i>]	7.49	7E-14	65%	AGH20188.1	263
Unigene88685_Hc-TA	H	putative protein phosphatase 2C 26 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	7.32	5E-31	70%	NP_001077980.1	224
下调表达基因							
Unigene28877_Hc-TA	A	hypothetical protein PRUPE_ppa001057mg [<i>Prunus persica</i>]	-8.38	4E-63	83%	EMJ15746.1	365
Unigene68199_Hc-TA	B	RNA polymerase IV, partial [<i>Heliosperma tommasini</i>]	-6.38	4E-29	90%	ACQ99757.1	186
Unigene54351_Hc-TA	B	predicted protein [<i>Populus trichocarpa</i>]	-6.38	3E-27	94%	XP_002297746.1	165
Unigene45052_Hc-TA	B	WRKY49 [<i>Glycine max</i>]	-6.38	3E-25	98%	ABS18445.1	154
Unigene25862_Hc-TA	B	predicted protein [<i>Populus trichocarpa</i>]	-6.38	4E-32	83%	XP_002308538.1	590
Unigene1829_Hc-TA	B	hypothetical protein PRUPE_ppa016153mg [<i>Prunus persica</i>]	-6.38	2E-58	87%	EMJ27396.1	932
Unigene119862_Hc-TA	B	unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>]	-6.38	5E-60	83%	CBI27880.3	390
Unigene119194_Hc-TA	B	hypothetical protein PRUPE_ppa012064mg [<i>Prunus persica</i>]	-6.38	4E-28	86%	EMJ28723.1	381
Unigene61359_Hc-TA	C	peroxidase prx12 precursor [<i>Spinacia oleracea</i>]	-7.18	2E-26	78%	AAF63024.1	175
Unigene61088_Hc-TA	D	cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase [<i>Beta vulgaris</i>]	-7.96	2E-31	95%	AAA32915.1	175
Unigene61088_Hc-TA	E	cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase [<i>Beta vulgaris</i>]	-7.96	1E-31	95%	AAA32915.1	175
Unigene116246_Hc-TA	F	PREDICTED: threonine-tRNA ligase, mitochondrial-like [<i>Fragaria vesca subsp. vesca</i>]	-7.84	7E-63	84%	XP_004296467.1	348
Unigene2373_Hc-TA	G	hypothetical protein VITISV_006255 [<i>Vitis vinifera</i>]	-8.08	1E-22	62%	CAN78224.1	338
Unigene119818_Hc-TA	H	Pyruvate dehydrogenase kinase isoform 2 [<i>Theobroma cacao</i>]	-7.96	3E-49	87%	EOY06908.1	390

注: A、B、C、D、E、F、G、H 分别代表: 细胞过程、代谢过程、刺激响应、细胞、细胞部分、细胞器、结合、催化活性 8 条代谢通路。

Notes: A, B, C, D, E, F, G and H respectively represent cellular process, metabolic process, response to stimulus, cell, cell part, organelle, binding and catalytic activity among 8 metabolic pathways.

表2 8条代谢通路中表达活跃的23组基因类群

Table 2 The 23 groups of actively differentially expressed genes in 8 metabolic pathways

基因类群	代谢通路	表达倍数	E 值	相似度	检索号	大小(bp)	功能描述
乙烯响应因子							
Unigene88662_Hc-TA	B、F	-5.95	6E-23	88%	AEM63545.1	224	Ethylene response factor ERF4 [<i>Solanum tuberosum</i>]
WRKY 转录因子							
Unigene45052_Hc-TA	B、F	-6.38	3E-25	98%	ABS18445.1	154	WRKY49 [<i>Glycine max</i>]
Unigene63539_Hc-TA	A、D、E、G	2.10	4E-31	95%	ABS18445.1	178	WRKY49 [<i>Glycine max</i>]
Unigene12063_Hc-TA	G	-5.39	6E-53	66%	XP_002279385.1	632	PREDICTED: probable WRKY transcription factor 48 [<i>Vitis vinifera</i>]
Unigene33561_Hc-TA	A、E、G	5.32	5E-62	76%	XP_002276925.1	448	PREDICTED: WRKY transcription factor 22 [<i>Vitis vinifera</i>]
Myb 转录因子							
Unigene4581_Hc-TA	G	6.64	4E-49	85%	ABI84253.1	419	Transcription factor Myb1 [<i>Arachis hypogaea</i>]
Unigene2119_Hc-TA	E	-5.95	8E-85	94%	XP_002532327.1	399	Myb3r3, putative [<i>Ricinus communis</i>]
Unigene120068_Hc-TA	D、E、G	5.91	2E-72	92%	ABQ10816.1	393	Putative R2R3-Myb transcription factor [<i>Citrus sinensis</i>]
bZIP 转录因子							
Unigene22742_Hc-TA	A、F	5.32	2E-41	77%	CAA11499.1	346	Basic leucine zipper protein [<i>Spinacia oleracea</i>]
Unigene35126_Hc-TA	A、E	-5.39	9E-41	81%	AAT08717.1	577	bZIP family transcription factor [<i>Hyacinthus orientalis</i>]
葡聚糖酶							
Unigene119165_Hc-TA	B、F	-5.39	2E-64	80%	AEO97197.1	381	Endo-1,4-beta-glucanase [<i>Populus trichocarpa</i>]
细胞质果糖-1,6-二磷酸酶							
Unigene61088_Hc-TA	E、G	-7.96	1E-31	95%	AAA32915.1	175	Cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase [<i>Beta vulgaris</i>]
DNA 指导的 RNA 聚合酶 II 亚基							
Unigene57651_Hc-TA	A、D、E、G	-5.39	7E-26	84%	XP_002518700.1	170	DNA-directed RNA polymerase II subunit, putative [<i>Ricinus communis</i>]
DNA 聚合酶							
Unigene127481_Hc-TA	A	-5.39	1E-91	75%	XP_002522989.1	618	DNA polymerase I, putative [<i>Ricinus communis</i>]
Unigene13614_Hc-TA	G	-6.38	6E-99	73%	XP_004292864.1	1013	PREDICTED: DNA polymerase theta-like [<i>Fragaria vesca subsp. vesca</i>]
Unigene4492_Hc-TA	B	-5.39	7E-64	70%	XP_002263595.1	884	PREDICTED: DNA polymerase V-like [<i>Vitis vinifera</i>]
6-磷酸脱氢酶							
Unigene113948_Hc-TA	A、B、C、D、E	-5.39	2E-69	94%	XP_002509902.1	329	6-phosphogluconate dehydrogenase, putative [<i>Ricinus communis</i>]
苹果酸脱氢酶前体							
Unigene47066_Hc-TA	A、B	-5.95	1E-22	87%	AAB99755.1	156	Malate dehydrogenase precursor [<i>Medicago sativa</i>]
苹果酸脱氢酶							
Unigene83267_Hc-TA	D、E	-6.38	1E-35	94%	ABB36659.1	212	Cytosolic malate dehydrogenase [<i>Malus domestica</i>]
醛脱氢酶							
Unigene63148_Hc-TA	A、B	-5.39	8E-30	88%	XP_002536473.1	178	Aldehyde dehydrogenase, putative [<i>Ricinus communis</i>]
线粒体 ATP 合酶							
Unigene2501_Hc-TA	B、E	-5.39	3E-68	89%	XP_002519372.1	593	ATP synthase alpha subunit mitochondrial, putative [<i>Ricinus communis</i>]
线粒体柠檬酸合成酶							
Unigene68174_Hc-TA	A、B	5.32	2E-35	95%	ABB83611.1	186	Mitochondrial citrate synthase [<i>Brassica oleracea</i>]

续(表 2)

基因类群	代谢通路	表达倍数	E 值	相似度	检索号	大小(bp)	功能描述
辅酶 A 脱氢酶							
Unigene115681_Hc-TA	C、D、E、H	6.91	5E-28	64%	BAN15749.1	343	3-hydroxyacyl-CoA dehydratase [<i>Dianthus caryophyllus</i>]
蛋白激酶							
Unigene119978_Hc-TA	D、E	-6.38	1E-83	95%	CAB82852.1	392	Protein kinase MK6 [<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>]
Unigene30683_Hc-TA	F	-5.39	1E-81	65%	XP_002267672.2	853	PREDICTED: probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g56130-like [<i>Vitis vinifera</i>]
Unigene116859_Hc-TA	E	6.91	3E-59	78%	XP_004293645.1	355	PREDICTED: probable serine/threonine -protein kinase drkB-like isoform 2 [<i>Fragaria vesca subsp. vesca</i>]
过氧化物酶							
Unigene61359_Hc-TA	C	-7.18	2E-26	78%	AAF63024.1	175	Peroxidase prx12 precursor [<i>Spinacia oleracea</i>]
Unigene94868_Hc-TA	C	-5.39	3E-42	87%	AAAY26520.1	241	Secretory peroxidase [<i>Catharanthus roseus</i>]
Unigene35271_Hc-TA	C	-2.38	1E-32	76%	XP_003602463.1	405	Peroxidase [<i>Medicago truncatula</i>]
Unigene116346_Hc-TA	C	-2.05	1E-32	76%	XP_003602463.1	349	Peroxidase [<i>Medicago truncatula</i>]
抗病蛋白							
Unigene26407_Hc-TA	B、F	5.32	2E-55	84%	ACP30609.1	435	Disease resistance protein [<i>Brassica rapa subsp. pekinensis</i>]
POL-多聚蛋白							
Unigene23865_Hc-TA	G	-5.39	8E-132	70%	AAT38758.1	821	Putative gag-pol polyprotein, identical [<i>Solanum demissum</i>]
Unigene27241_Hc-TA	A	5.32	1E-37	64%	AAAY99339.1	413	Pol-polyprotein [<i>Silene latifolia</i>]
Unigene10326_Hc-TA	A	-5.95	0.00002	53%	AAR13317.1	248	Gag-pol polyprotein [<i>Phaseolus vulgaris</i>]
DNA 结合蛋白							
Unigene80980_Hc-TA	A、G	6.64	2E-17	63%	XP_002514309.1	208	DNA binding protein, putative [<i>Ricinus communis</i>]
Unigene22461_Hc-TA	E	-5.95	5E-14	52%	XP_002515900.1	388	DNA binding protein, putative [<i>Ricinus communis</i>]
花蕾特定蛋白质 AP3							
Unigene49458_Hc-TA	B	-5.39	6E-18	72%	ADM33820.1	159	Flower buds specific protein AP3 [<i>Silene vulgaris</i>]
Unigene88451_Hc-TA	D、E	6.32	3E-27	70%	ADM33820.1	223	Flower buds specific protein AP3 [<i>Silene vulgaris</i>]
光敏色素 A							
Unigene13042_Hc-TA	B	5.91	2E-35	92%	ACY01932.1	217	Phytochrome A [<i>Beta vulgaris</i>]
Unigene121837_Hc-TA	ABC	2.05	1E-79	87%	ACY01932.1	422	Phytochrome A [<i>Beta vulgaris</i>]
法尼基二磷酸合酶							
Unigene119501_Hc-TA	D、E	-7.70	0.000 000 01	71%	AFW98438.1	385	Farnesyl diphosphate synthase [<i>Taraxacum mongolicum</i>]

注: A、B、C、D、E、F、G、H 分别代表: 细胞过程、代谢过程、刺激响应、细胞、细胞部分、细胞器、结合、催化活性 8 条代谢通路。

Notes: A, B, C, D, E, F, G and H respectively represent cellular process, metabolic process, response to stimulus, cell, cell part, organelle, binding and catalytic activity among 8 metabolic pathways.

3 讨论

本研究以盐穗木盐胁迫下差异表达的转录组数据为基础, 选取 unigene 数量较多的 7 条代谢通路和与胁迫相关刺激响应的共 8 条通路作为研究重点, 通过比对分析整理得到了差异表达最显著的上调和

下调 unigene 以及 23 组差异表达活跃的基因类群。

植物各种诱导型基因的表达主要受转录水平的调控, 其中起主要作用的蛋白质就是各种转录因子^[14-15]。表 2 中涉及的 4 类转录因子如乙烯响应因子、WRKY 转录因子、MYB 转录因子、bZIP 转录因子在盐胁迫下均有显著响应。其中乙烯响应因子为乙烯响应元件结合蛋白, 与 AP2 结合成 AP2/ERF

结构域,是一个超基因家族,该家族中的成员参与多种生物学过程,其中包括损伤、病菌防御、高盐、干旱等环境胁迫响应等^[16]。WRKY 转录因子拥有一个高度保守的 WRKYGQK 核心序列,即 WRKY 域,其参与多种代谢途径如损伤、衰老、发育、抗病等多种抗逆反应^[17]。MYB 转录因子是一类 DNA 结合蛋白,它们在结构上都有一段保守 DNA 结合区域,即 MYB 结构域,其主要功能是调节次生代谢、控制细胞形态发生以及调控分生组织形成和细胞周期等,其在植物代谢和发育等方面的重要调控作用可能与耐盐机制相联系,具体的调控机制及与盐胁迫响应的关系有待进一步研究^[18]。bZIP 是一类在调节植物发育过程和应答胁迫信号等方面起重要作用的转录因子^[19]。表 1 和表 2 中 bZIP 类的 Uni-gene119429_Hc-TA 显著上调表达,推测 bZIP 转录因子也参与了盐穗木对盐胁迫的应答反应,可能在盐穗木耐盐机制中发挥重要作用。

表 2 中还包含一类非转录因子酶蛋白。它们在植物适应盐胁迫过程中也具有重要作用,如醛脱氢酶、甜菜碱醛脱氢酶、6-磷酸脱氢酶、葡聚糖酶和蛋白激酶。醛脱氢酶和甜菜碱醛脱氢酶基因作为甜菜碱合成过程中关键限速酶基因,在调控植物适应非生物胁迫中发挥重要的作用^[20]。6-磷酸脱氢酶不仅在盐胁迫而且在正常的生长环境下,对维持细胞内的 GSH(谷胱甘肽)水平都起着非常重要的作用^[21]。葡聚糖酶在盐胁迫下表达量会下降以适应盐胁迫^[22],表 2 中功能注释为葡聚糖酶的 Uni-gene119165_Hc-TA 在盐胁迫下也表现出类似的响应方式。其它酶类如辅酶 A 脱氢酶(Unigene115681_Hc-TA)、柠檬酸合酶(Unigene68174_Hc-TA)等基因的显著性表达可能为盐穗木适应盐生环境及参与代谢具有重要作用。

植物耐盐性是一个包含多种基因相互协调作用、共同发挥功能的复杂性状^[23]。本研究通过对盐穗木 8 条代谢通路的转录组信息进行宏观概括和初步挖掘分析,为后期筛选盐穗木关键耐盐关键功能基因和调控基因提供有价值的信息。但转录组数据中还存在大量功能未知序列,它们可能是盐生植物中特异表达的基因,今后对其进一步深度挖掘将有助于我们发现盐生植物耐盐关键因子,并加深对盐生植物耐盐机制的理解。

参考文献(References)

[1] ZHU Jiankang. Plant salt tolerance[J]. Trends in plant science, 2001, 6(2): 66-71.
[2] ZHU Jiankang, HANS J B. Plant cellular and molecular

responses to high salinity[J]. Annu Rev Plant Physiol, 2000, 51(10): 463-499.
[3] 周华,张新,刘腾云,等.高通量转录组测序的数据分析与基因发掘[J].江西科学,2012,30(5):607-611.
ZHOU Hua, ZHANG Xin, LIU Tengyun, et al. Data processing and gene discovery of high-throughput transcriptome sequencing[J]. Jiangxi Science, 2012, 30(5): 607-611.
[4] 陶大勇.盐穗木研究进展[J].安徽农业科学,2007,35(20):6083-6084.
TAO Dayong. Research progress of halostachys caspica[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(20):6083-6084.
[5] QIU Qiang, MA Tao, HU Quanjun, et al. Genome-scale transcriptome analysis of the desert poplar, populus euphratica[J]. Tree Physiology, 2011, 31(4): 452-461.
[6] 郭予琦,田曾元,闫道良,等.盐生植物海滨锦葵幼苗盐胁迫下基因差异表达分析[J].遗传,2008,30(7):941-950.
GUO Yuqi, TIAN Zengyuan, YAN Daoliang, et al. Analysis of gene expression involved in the response to salt stress in the dicot halophyte *Kosteletzkya virginica* L. seedlings[J]. Hereditas (Beijing), 2008, 30(7):941-950.
[7] WU Huajun, ZHANG Zhonghui, WANG Junyi, et al. Insights into salt tolerance from the genome of *Thellungiella salsuginea*[J]. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America (PNAS), 2012, 109(30): 12219-12224.
[8] GE Y, LI Y, ZHU Y, et al. Global transcriptome profiling of wild soybean (*Glycine soja*) roots under NaHCO₃ treatment[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 153-167.
[9] ZHANG B, JIN W, ZENG Y, et al. EST-based analysis of gene expression in the porcine brain[J]. Genomics, proteomics & bioinformatics, 2004, 2(4): 237-244.
[10] 杨郁文,倪万潮,张保龙,等.陆地棉一个丝氨酸/苏氨酸激酶蛋白基因的克隆与表达分析[J].棉花学报,2006,18(3):140-144.
YANG Yuwen, NI Wanchao, ZHANG Baolong, et al. Molecular cloning and expression analysis of a serine/threonine protein kinase gene in upland cotton[J]. Cotton Science, 2006, 18(3):140-144.
[11] 裴丽丽,郭玉华,徐兆师,等.植物逆境胁迫相关蛋白激酶的研究进展[J].西北植物学报,2012,32(5):1052-1061.
PEI Lili, GUO Yuhua, XU Zhaoshi, et al. Research progress on stress-related protein kinases in plants[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2012, 32

- (5):1052-1061.
- [12] AGALOU A, PURWANTOMO S, OVERNAS E, et al. A genome-wide survey of HD-Zip genes in rice and analysis of drought-responsive family members [J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 66(1-2): 87-103.
- [13] 宋奇超, 曹凤秋, 巩元勇, 等. 高等植物氨基酸吸收与转运及生物学功能的研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(6): 1511-1521.
- SONG Qichao, CAO Fengqiu, GONG Yuanyong, et al. Current research progresses of amino acids uptake, transport and their biological roles in higher plants[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, 18(6): 1511-1521.
- [14] 张娟. WRKY 转录因子功能研究进展[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(10): 2137-2145.
- ZHANG Juan. Review on the function of WRKY transcription factor family [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29(10):2137-2145.
- [15] LIBAULT M, WAN J, CZECHOWSKI T, et al. Identification of 118 Arabidopsis transcription factor and 30 ubiquitin-ligase genes responding to chitin, a plant-defense elicitor[J]. *Molecular Plant-microbe Interactions*; MP-MI, 2007, 20(8): 900-911.
- [16] 张计育, 王庆菊, 郭忠仁. 植物 AP2/ERF 类转录因子研究进展[J]. *遗传*, 2012, 34(7): 835-847.
- ZHANG Jiyu, WANG Qingju, GUO Zhongren. Progresses on plant AP2/ERF transcription factors [J]. *Hereditas* (Beijing), 2012, 34(7):835-847.
- [17] RUSHTON P, SOMSSICH I, RINGLER P, et al. WRKY transcription factors[J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 15(5): 247-258.
- [18] YANG A, DAI X, ZHANG W. A R2R3-type MYB gene, OsMYB2, is involved in salt, cold, and dehydration tolerance in rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(7): 2541-2556.
- [19] 杨颖, 高世庆, 唐益苗, 等. 植物 bZIP 转录因子的研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(4): 730-737.
- YANG Ying, GAO Shiqing, TANG Yimiao, et al. Advance of bZIP Transcription Factors in Plants [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2009, 29(4):730-737.
- [20] FITZGERALD T, WATERS D, HENRY R. Betaine aldehyde dehydrogenase in plants [J]. *Plant Biology* (Stuttgart, Germany), 2009, 11(2): 119-130.
- [21] 林元震, 张志毅, 郭海, 等. 杨树葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)基因启动子的克隆与分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2009, 28(3): 445-449.
- LIN Yuanzhen, ZHANG Zhiyi, GUO Hai, et al. Isolation and Analysis of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PDH) Promoter from Poplar [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2009, 28(3): 445-449.
- [22] 赵娟, 兰海燕. 拟南芥 β -1,3-葡聚糖酶基因(BG1)在不同组织及非生物胁迫下的表达研究[J]. *新疆农业科学*, 2011, 48(4): 712-718.
- ZHAO Juan, LAN Haiyan. Expression analysis of β -1,3-glucanase gene (BG1) in different tissues under various abiotic stresses in arabidopsis thaliana L [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(4):712-718.
- [23] VINOCUR B, ALTMAN A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16(2): 123-132.