

文章编号: 1674-7054(2018)03-0312-08

火龙果根系在淹水胁迫下的基因差异表达

闫臻, 齐钊, 熊睿, 刘成立, 徐敏, 韦双双, 阮云泽, 汤华

(海南大学 热带农林学院/海南热带生物资源可持续利用国家重点实验室, 海口 570228)

摘要: 运用 RNA-Seq 测序技术对淹水胁迫下的火龙果根系进行转录组测序, 对淹水处理组与对照组的基因表达量进行差异比较分析, 并采用 qRT-PCR 对差异表达基因的表达特性进行分析验证, 结果表明: 淹水胁迫下火龙果根系中有 1 481 个差异表达的基因, 其中, 上调表达 925 个, 下调表达 556 个, 其功能多富集于糖代谢、碳代谢、氮代谢、乙醇代谢、氨基酸生物合成、苯丙氨酸代谢、植物激素信号转导等方面。可见, 淹水胁迫对火龙果根系的基础代谢影响较大, 但火龙果根系能够通过糖酵解、乙醇发酵及丙氨酸发酵途径来提供火龙果植株生存所需能量以减轻淹水胁迫对其造成的不良影响, 并能够诱导乙烯合成来调控火龙果的逆境应答, 从而使火龙果植株表现出一定的淹水耐受性。

关键词: 火龙果; 淹水胁迫; 转录组测序; 差异表达基因

中图分类号: Q 786

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.03.007

火龙果(*Hylocereus undatus*) 是仙人掌科(Cactaceae)量天尺属(*Hylocereus*)的一种多年生植物^[1], 其果实富含花青素、白蛋白等功能性营养物质^[2-3], 是近年快速发展的新兴水果。火龙果起源于热带、亚热带地区, 喜温暖气候, 海南的气候特点特别适宜火龙果的种植^[4]。然而每年 5~11 月, 海南进入雨季, 降水量多, 台风频繁, 容易导致洪涝灾害的发生, 对火龙果造成淹水胁迫影响其正常生长发育与生产。淹水胁迫对植物是一种逆境胁迫, 研究植物对淹水胁迫的应答机制, 具有重要的理论意义。Thirunavukkarasu 等利用基因芯片技术, 发现淹水胁迫下玉米自交系中乙烯和生长素合成、不定根形成以及通气组织形成相关的基因均表现为上调^[5]。Zou 等发现淹水胁迫下油菜根部与氧化还原、次级代谢转录调控、翻译调控相关的基因表达上调, 蛋白质降解的相关基因表达下调^[6]。Lee 等发现, 淹水处理的油菜叶内与光合相关的基因下调表达, 与非生物抗性相关的基因上调表达^[7]。Qi 等发现, 黄瓜在淹水胁迫下碳代谢、光合作用、活性氧的产生和清除、激素合成和信号转导等相关的基因大多为下调表达^[8]。随着测序技术的发展, 基于高通量测序的转录组学研究成为趋势。关于火龙果淹水胁迫的基因差异表达研究, 目前, 国内外未见相关报道。笔者以火龙果品种“台湾大红”为遗传材料, 运用新一代高通量 RNA-Seq 测序技术进行转录组测序, 分别构建火龙果根系在淹水胁迫处理和对照处理下的基因数字表达谱, 通过生物信息学的分析比较和 qRT-PCR 对差异表达基因表达特性的分析验证, 筛选出与淹水胁迫相关的差异表达基因, 旨在为深入探究火龙果淹水胁迫的分子应答机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 火龙果淹水胁迫实验方法 供试材料为“大红”火龙果品种, 供试土壤取自海南大学热带农林学院海甸基地, 淹水处理在海南大学热带农林学院海甸基地大棚中进行。选取根系良好、无病虫害、生长一致的火龙果扦插苗进行盆栽, 待其恢复生长 1 个月后进行淹水胁迫处理: 将盆栽火龙果苗放入水槽中, 使水

收稿日期: 2018-06-01

修回日期: 2017-06-11

基金项目: 海南省重点研发项目(ZDYF2018080); 国家自然科学基金(31360364)

作者简介: 闫臻(1993-), 女, 海南大学热带农林学院 2015 级硕士研究生。E-mail: yanzhen_yz@126.com

通信作者: 汤华(1974-), 男, 教授。研究方向: 作物遗传育种与分子生物学。E-mail: thtiger@163.com

面高出盆栽土壤表面 2 cm,淹水 3 h 为胁迫处理组(FR),以同期未淹水为对照组(CK),每个处理设 3 次重复,每个重复 10 株苗。采集各植株的根系部分,用蒸馏水清洗干净,并剪碎分装于 50 mL 试管中,液氮速冻,置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.2 火龙果根系总 RNA 提取 采用改良 CTAB 法^[9],用 $w = 1.2\%$ 琼脂糖凝胶电泳检测所提取 RNA 的完整性,用微量核酸蛋白分析仪测定 RNA 浓度和纯度。

1.3 火龙果根系的转录组测序及分析 分别取淹水胁迫处理组和对照组的火龙果根系样品,送样至华大基因武汉公司进行转录组测序。获得数据后运用生物信息学方法,对测序数据进行过滤、De novo 组装、序列比对、基因功能注释、基因差异表达分析等。

1.4 差异表达基因的 qRT-PCR 验证 结合相关资料和 KEGG 数据库分析结果,挑选出差异表达基因进行 qRT-PCR,以验证转录组测序数据的准确性及差异表达的稳定性。本实验选取 UBQ10(Unigene16892) 为内参基因,采用 Primer 5.0 软件设计 qRT-PCR 引物,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析。

2 结果与分析

2.1 转录组测序结果分析 对火龙果根系的对照组样本 CK1,CK2,CK3 及淹水胁迫处理组样本 FR1,FR2,FR3 进行转录组测序,分别获得 26 466, 25 983,25 780,26 331,29 186,23 138 个 Unigenes,说明火龙果根系表达的基因数量约为 26 000 个。N50 分别为 1 160, 1 141, 1 128, 1 113, 1 228 和 1 096,说明测序的读长和拼接情况良好。各样品的基因表达量分布如图 1 所示,在 CK1,CK2, CK3,FR1,FR2,FR3 中,极低水平表达量(FPKM ≤ 1) 的基因数量占大多数,中高水平表达(FPKM ≥ 10) 的基因数的比例较少,分别为 969,800,785, 810,1 041 和 742 个。

2.2 差异表达基因的筛选 将淹水胁迫处理组 FR 与对照组 CK 的基因表达量进行比较,当差异倍数设为 2 时,差异表达基因的数量如图 2-A 所示,共筛选出 1 481 个差异表达基因,其中,925 个基因上调表达,556 个基因下调表达。

由差异基因表达量的热图(图 2-B) 中上方的树形图可知,淹水胁迫处理组基因的总表达模式与对照组存在较大的差异,但属于对照组的 3 个样本(CK1,CK2 和 CK3) 的表达模式相似,属于淹水胁迫处理组的 3 个样本(FR1,FR2 和 FR3) 的表达模式相似,证明对照组和处理组各自样本的重复性好,数据可信度高。图 2-C 为差异对所有表达基因的散点图,图中偏离对角线的点较少,说明样品间表达量的相关性较高,重复样品的重复性较好。图 2-D 为差异基因表达的火山图,图中左上角的点表示差异表达水平显著下调的基因,右上角的点表示差异表达水平显著上调的基因,总体而言,差异表达水平显著上调的基因的数量和显著性均大于差异表达水平显著下调的基因。

2.3 差异表达基因 GO 功能分析 将差异表达基因注释到 GO(Gene Ontology) 数据库,统计、分析并绘制 GO 功能分布统计图。由图 3 可知,这些差异表达基因分别富集到了生物学过程(biological_process)、细胞组分(cellular_component) 以及分子功能(molecular_function) 3 个基本分类下的 19、14 和 11 个小类中。其中,富集到生物学过程的差异表达基因数为 643 个,主要富集于代谢过程(540 个)、细胞过程(424 个) 和单有机体过程(347 个);富集到细胞组分的差异表达基因数为 407 个,主要富集于膜(257 个);富集到分子功能的差异表达基因数为 741 个,主要富集于催化活性(563 个) 和结合(462 个)。

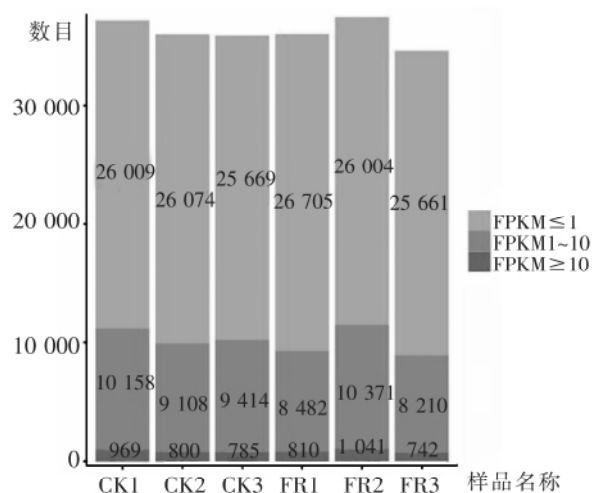


图1 ‘大红’火龙果各样品基因表达量的分布
FPKM 代表每个千个碱基的转录每百万映射读取的基因片段数,表示表达量的高低

Fig.1 Gene expression distribution
FPKM represents fragments per kilobase per million mapped reads, indicating expression levels

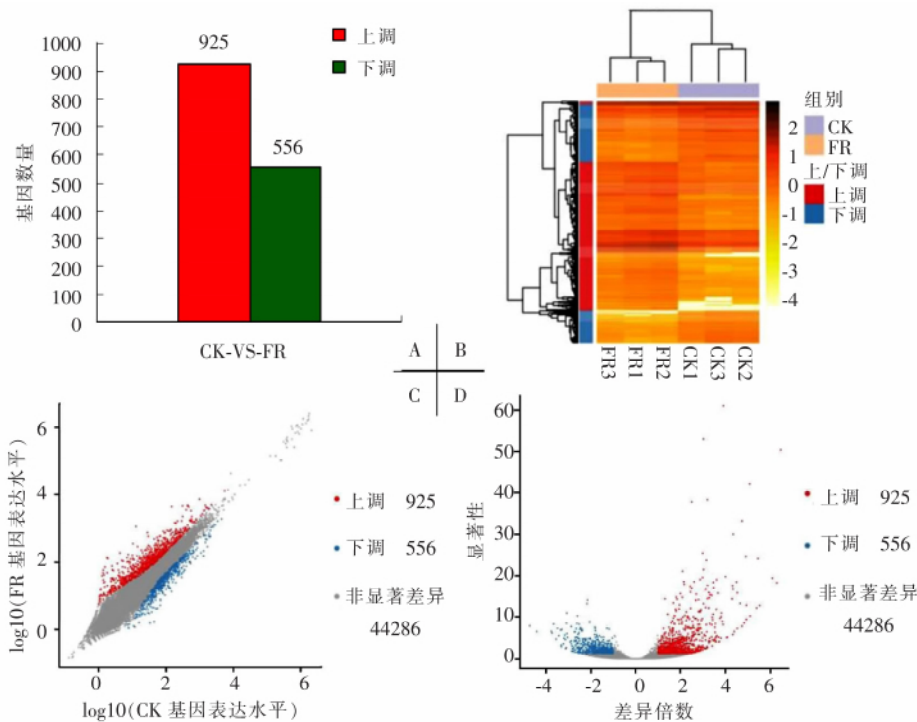


图2 差异表达基因的筛选与分析

A 为差异表达基因的数量统计图;B 为差异基因表达量的热图,图中 X 轴表示不同样品,Y 轴表示差异基因;C 为所有表达基因的散点图;D 为差异基因表达的火山图

Fig.2 Screening and analysis of differentially expressed genes

A. The number of differentially expressed genes; B. A heat map of differential gene expression; In the figure, the X-axis represents different samples, and the Y-axis represents differential genes. C. A scatterplot of all expressed genes in the sample; D. A volcano plot for differential gene expression

对富集到生物学过程、分子功能的差异表达基因的 GO 富集分析结果进行图形化展示,结果如图 4 所示: 富集到生物学过程的差异表达基因富集程度排名前 5 的 GO 小类分别为单有机体代谢过程、小分子代谢过程、有机酸代谢过程、含氧酸代谢过程和羧酸代谢过程,它们分别富集到了 287,123,89,89 和 86 个差异表达基因。富集到分子功能的差异表达基因富集程度排名前 5 的 GO 小类分别为催化活性、氧化还原酶活性、羧基裂合酶活性、丙酮酸脱羧酶活性和焦磷酸硫胺素结合,它们分别富集到了 563,141,27,10 和 14 个差异表达基因。从颜色上来看,在生物学过程这个分类中最显著的 GO 小类是 GO: 0044710 (单有机体代谢过程 single-organism metabolic process)。在分子功能这个分类中最显著的 GO 小类是 GO: 0030976 (焦磷酸硫胺素结合 thiamine pyrophosphate binding) 和 GO:

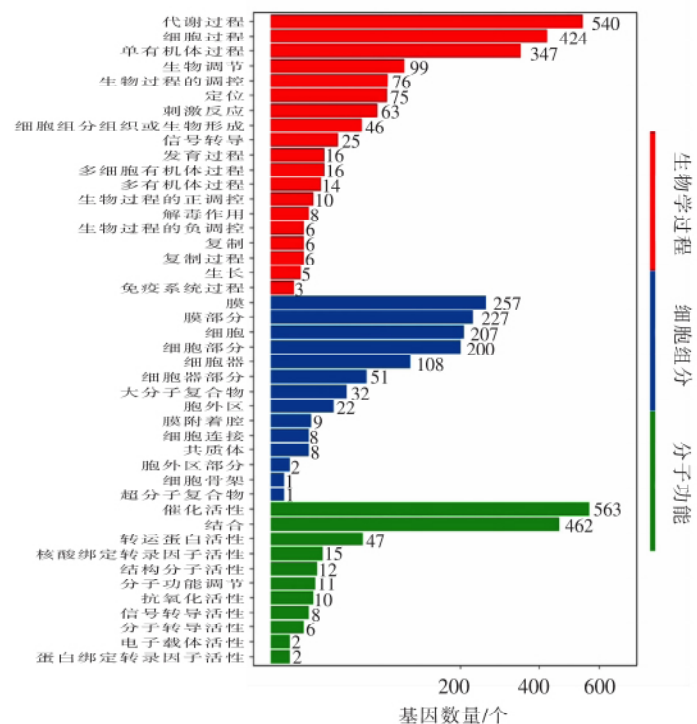


图3 差异表达基因 GO 功能分类图

X 轴代表 DEG 数目,Y 轴代表 GO 功能分类

Fig.3 GO classification of DEGs

X axis represents DEG number; Y axis represents GO function classification

0004737(丙酮酸脱羧酶活性 pyruvate decarboxylase activity)。因此,这3个GO小类及它们所在分支上的其他GO小类具有进一步研究的价值。

GO功能分析结果表明,淹水胁迫下火龙果根系中与糖代谢相关的差异基因的数量较多、富集程度较显著,说明淹水胁迫会对火龙果根系中糖代谢相关基因的表达产生快速、巨大的影响,以满足火龙果在淹水逆境下生存所需的能量消耗。

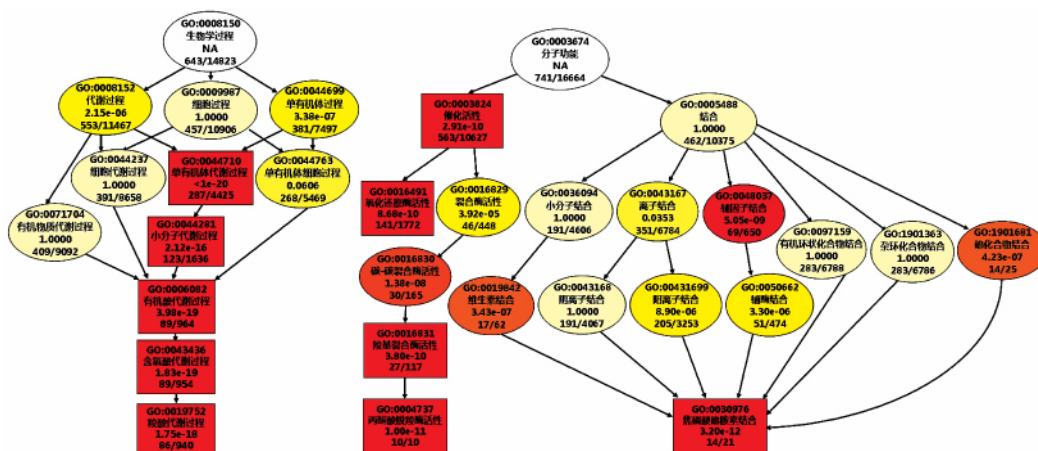


图4 差异基因GO功能富集结果

图中分支代表包含关系,从上至下所定义的功能范围越来越小,方框代表的是富集程度排名前5的GO小类,并通过包含关系,将相关联的GO小类一起展示,每个节点上展示了该小类的名称及富集分析校正后的P值,颜色越深(红)表示P值越小、富集程度越高

Fig.4 GO functional enrichment of DEGs

The branches in the figure represent the inclusion relationships, and the scope of functions defined from top to bottom is getting smaller and smaller. The box represents the top 5 enriched GO terms and is displayed together with the associated GO term through inclusion relationships. Each node shows the name of the term and the corrected P-value of the enrichment analysis. The darker color (red) indicates smaller P-value and higher enrichment level

2.4 差异表达基因 Pathway 功能分析 对差异表达基因进行 KEGG 生物通路分类及富集分析,富集在新陈代谢(Metabolism) 的差异表达基因数最多,遗传信息处理(Genetic Information Processing) 次之。从图5可知,上下调表达的差异基因均显著富集于代谢途径、次生代谢产物的生物合成等途径;其中,上调表达的基因还显著富集于糖酵解/糖异生途径、淀粉和蔗糖代谢等途径,下调表达的基因显著还富集于苯丙素生物合成、苯丙氨酸代谢等途径。

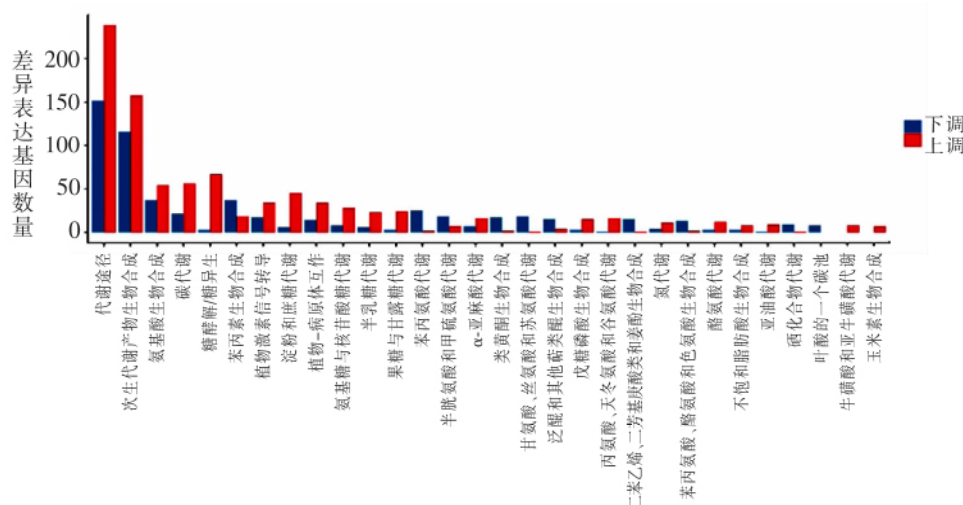


图5 富集通路上的上调和下调差异表达的基因数

X轴表示 Pathway 条目,Y轴表示对应 Pathway 条目上下调基因数目

Fig.5 Pathway functional enrichment result for up/down-regulated genes

The X axis represents the Pathway entry; the Y axis represents the differentially expressed gene numbers

由差异基因 Pathway 富集气泡图(图 6)可知,差异表达基因在包括苯丙氨酸代谢、二苯乙烯、二芳基庚酸类和姜酚生物合成、泛醌和其他萜类醌生物合成等在内的 16 个代谢通路中的富集效果较显著,与代谢途径、次生代谢物生物合成相关的基因数较多,在苯丙氨酸代谢的富集结果最明显,说明这些物质代谢过程极有可能与植物淹水胁迫反应相关。

综合富集分析结果可知,注释到 KEGG 数据库上的差异表达基因共有 1 145 个,富集到糖酵解/糖异生途径的有 70 个基因。其中,上调表达的共 67 个,其翻译产物主要为己糖激酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶、6-磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶、丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶等酶类;下调表达的差异表达基因共有 3 个,且其翻译产物均为多聚磷酸肌醇磷酸酶。富集到氨基酸生物合成的有 91 个,主要参与了色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、甘氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、鸟氨酸、脯氨酸和赖氨酸等氨基酸的生物合成。富集到苯丙氨酸代谢有 27 个,其中,上调表达的基因有 2 个,下调表达的有 25 个,其中,负责编码咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶、4-香豆酰辅酶 A 连接酶等酶类的基因数较多。富集到植物激素信号转导的有 51 个,主要与生长素、玉米素、赤霉素、脱落酸、乙烯、芸苔素内酯、茉莉酸、水杨酸等激素的信号转导有关。此外,富集到碳代谢的差异表达基因为 77 个,富集到淀粉和蔗糖代谢、果糖和甘露糖代谢、半乳糖代谢的分别有 51, 27 和 29 个,富集到氮代谢的有 15 个,富集到丙酮酸代谢的有 21 个。

总而言之,在淹水胁迫下火龙果根系中参与糖代谢、碳代谢、氮代谢、氨基酸生物合成、苯丙氨酸代谢、植物激素信号转导等途径的差异基因数量较多,说明淹水胁迫导致根系缺氧,进而对火龙果根系的基础代谢产生较大影响,导致大量基因的差异表达。

2.5 差异表达基因的 qRT-PCR 验证 结合相关资料和 KEGG 数据库分析结果,挑选出 26 个表达量较高、可能与淹水胁迫相关的差异表达基因进行 qRT-PCR 验证。图 7 为下调表达 DEG 的 qRT-PCR 验证结果,图 8 为上调表达 DEG 的 qRT-PCR 验证结果,每个基因的 qRT-PCR 验证结果均与转录组测序结果的趋势一致,说明转录组测序结果较为准确,同时也证明这些基因在不同处理中的差异表达较为稳定。结合转录组测序结果及 qRT-PCR 验证结果,葡萄糖-6-磷酸异构酶(Glucose-6-phosphate isomerase)、核糖体结合 ATP 酶 YchF(Ribosome-binding ATPase YchF)、乙烯响应的转录因子 1B(Ethylene-responsive transcription factor 1B)、乙烯受体 2(Ethylene receptor 2)、乙烯不敏感转录调节基因 3(Ethylene insensitive 3)、细胞色素 P450 87A3(Cytochrome P450 87A3)、鲨烯合成酶(Squalene synthetase)、LRR 类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 FLS 2(LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase FLS2)、WRKY 转录因子 3(WRKY transcription factor 3)等基因的表达量差异较为明显,且差异表达情况较为稳定,推断这些基因可能与淹水胁迫密切相关,它们所编码的蛋白可能参与火龙果对淹水胁迫的调控和应答。

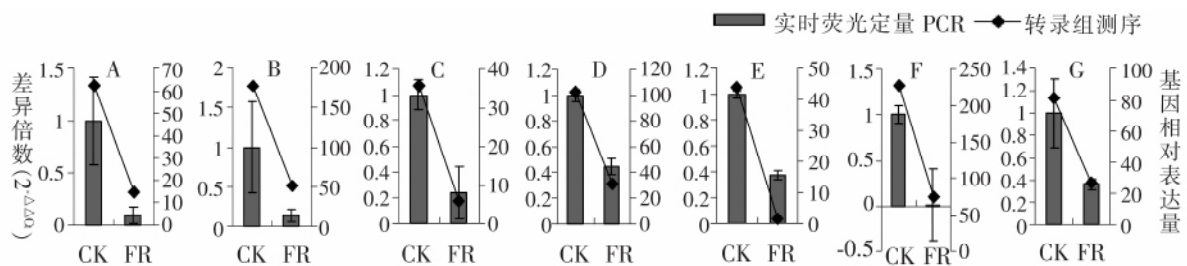


图 7 淹水胁迫后下调表达基因的 RNA-seq 和 qRT-PCR 对比

Fig.7 Comparison of down-regulated genes related to flooding stress in RNA-seq and qRT-PCR

A. Unigene4154_All (ARR12 类似物, ARR12-like); B. CL2449.Contig1_All (myb 相关蛋白 Myb4, myb-related protein Myb4); C. Unigene15627_All (细胞色素 P450 87A3, cytochrome P450 87A3); D. CL2218.Contig1_All (乙烯响应的转录因子 1B, ethylene-responsive transcription factor 1B); E. Unigene15057_All (生长素响应因子 1, auxin response factor 1); F. Unigene8042_All (NADP 依赖性苹果酸脱氢酶, NADP-dependent malic enzyme); G. Unigene11670_All (富含脯氨酸的类受体蛋白激酶 PERK7, proline-rich receptor-like protein kinase PERK7)

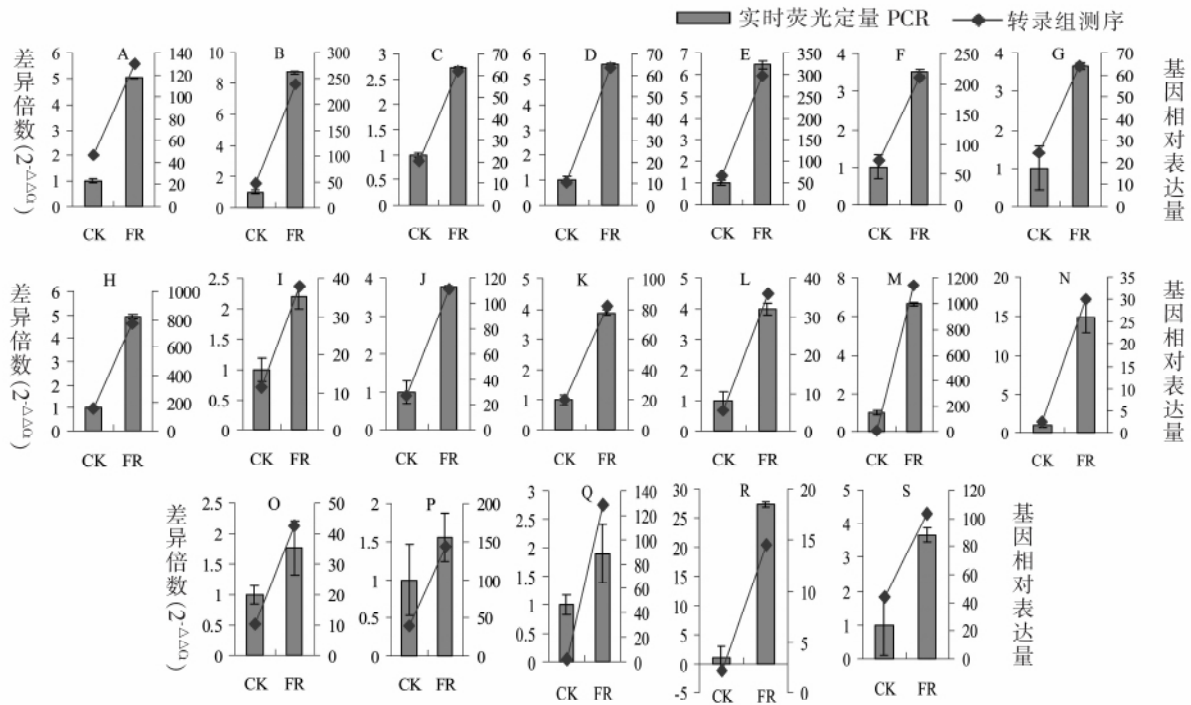


图8 淹水胁迫后上调表达基因的 RNA-seq 和 qRT-PCR 对比

Fig.8 Comparison of up-regulated genes related to flooding stress between RNA-seq and qRT-PCR

A: CL5873.Contig2_All (转录因子 MYB1R1, transcription factor MYB1R1); B: Unigene12013_All (转录因子 VIP1, transcription factor VIP1); C: Unigene438_All (端粒重复结合因子 4, telomere repeat-binding factor 4); D: CL5884.Contig1_All (细胞分裂素羟化酶, cytokinin hydroxylase); E: CL2518.Contig2_All (葡萄糖-6-磷酸异构酶, glucose-6-phosphate isomerase); F: CL1781.Contig2_All (乙烯受体 2, ethylene receptor 2); G: CL6008.Contig2_All (乙烯不敏感转录调节基因 3, ethylene insensitive 3); H: CL1634.Contig4_All (水通道蛋白 MipE, water channel protein MipE); I: CL198.Contig2_All (含 BTB/POZ 结构域的蛋白质, BTB/POZ domain-containing protein); J: CL162.Contig1_All (WRKY 转录因子 3, WRKY transcription factor 3); K: CL3773.Contig3_All (WRKY 转录因子 22, WRKY transcription factor 22); L: CL233.Contig6_All (转录因子 MYC4 类似物, transcription factor MYC4-like); M: CL2726.Contig1_All (早期结瘤素 93, early nodulin-93); N: Unigene6838_All (热休克因子蛋白 HSF30, heat shock factor protein HSF30); O: CL3818.Contig3_All (锌指蛋白 COL 15, zinc finger protein COL 15); P: CL6379.Contig2_All (LRR 类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 FLS2, LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase FLS2); Q: Unigene16307_All (鲨烯合成酶, squalene synthetase); R: Unigene16826_All (核糖体结合 ATP 酶 YchF, ribosome-binding ATPase YchF); S: CL193.Contig9_All (ADO 2 类似物, adagio protein 2-like)

3 讨论

3.1 乙烯在淹水胁迫中的调控作用 乙烯是响应植物淹水胁迫的早期信号,能够通过调控多种转录因子从而调控植物发育、逆境应答等多个生命活动过程,在淹水胁迫适应性中起着十分重要的作用^[1]。1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶(ACO)是乙烯合成的关键酶^[1],受到淹水胁迫后,植物根中产生的乙烯前体1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)在ACO的作用下被氧化为乙烯从而介导植物的耐涝性^[2]。在淹水胁迫下,火龙果根系中有12个与乙烯合成相关的基因的表达出现显著差异,其中,上调表达的有9个,为编码ACO及其同系物的基因;下调表达的有3个,均为编码ACO5的基因,表明淹水胁迫下火龙果根系中存在乙烯的大量合成。

在乙烯代谢路径(图9)中,乙烯能够诱导ETR激活CTR1,抑制SIMKK/MKK9的活性,使其磷酸化激活MPK3/6,间接作用于EIN2,从而激活EIN3/EIL活性,一方面能够直接激活DNA的反应或激活ERF1/2间接激活DNA的反应参与果实成熟衰老调控;另一方面直接激活ERF1/2或激活DNA间接激活ERF1/2,从而作用于DNA激活PDF1.2和ChiB活性,参与防御反应。在火龙果淹水胁迫根系中,EIN3(ethylene-insensitive protein3,基因编号CL6008.Contig2_All)、ETR(ethylene receptor,基因编号CL1781.Contig2_All)上调表达,ERF1(ethylene-responsive transcription factor1,基因编号CL2218.Contig1_All)下调表达,它们均

为乙烯代谢路径中的关键物质,不仅参与了植物的 MAPK 信号转导又参与了植物激素的信号转导,能够直接或间接激活植物体的防御反应、激素调节以及泛素介导的蛋白水解作用。Lorenzo 等人的研究表明,ERF1 的表达可以被乙烯或茉莉酸迅速激活,并且可以通过两种激素的协同作用来激活,但这两种信号通路都需要同时激活 ERF1,阻断 ERF1 诱导会阻止任何 1 种激素的诱导作用,无论是单独的还是结合的^[3]。在本研究中,乙烯是响应火龙果淹水胁迫的早期信号,能够调控火龙果的逆境应答等生命活动过程,其具体机制有待进一步探究。

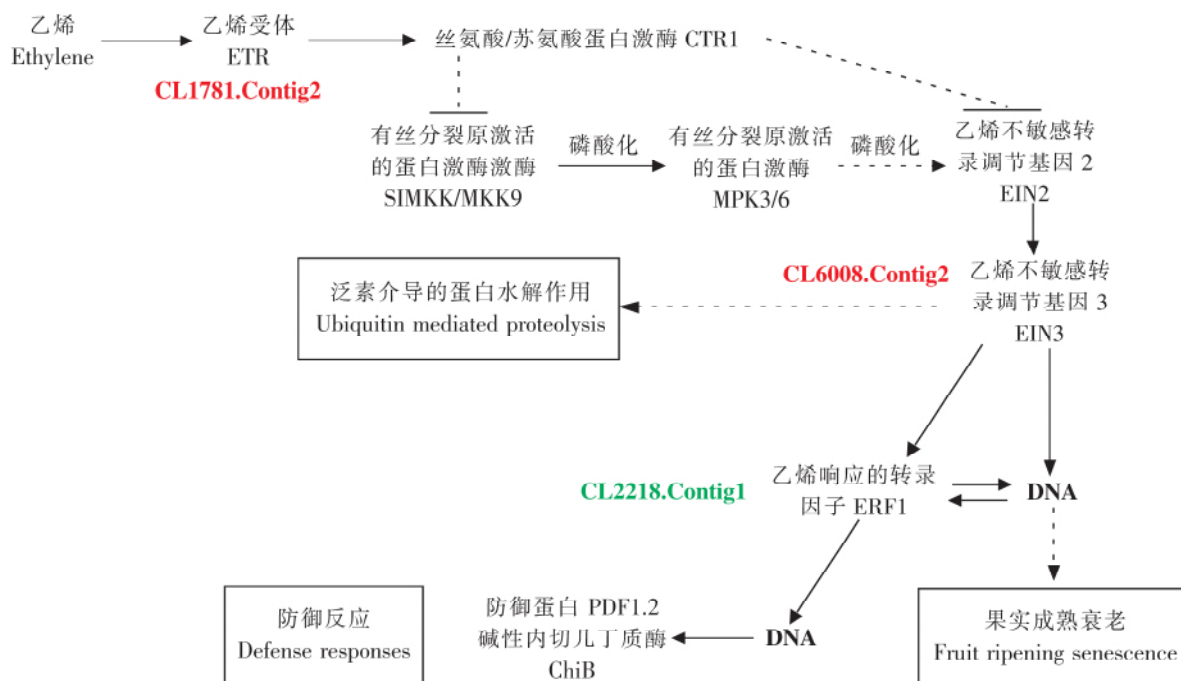


图9 火龙果乙烯代谢通路图

图中红色代表火龙果在淹水胁迫后上调表达的基因,绿色代表下调表达的基因

Fig.9 Pathways of ethylene metabolism in pitaya fruit

The red in the figure represents the up-regulated genes in the roots of pitaya, and the green represents down-regulated genes

3.2 淹水胁迫对火龙果根系能量代谢的影响 淹水胁迫对植物的能量代谢有很大的影响。淹水胁迫通常会造成低氧环境^[4],氧气含量过低会抑制植物的有氧呼吸过程,导致一系列依赖 ATP 的生理过程受到限制^[5]。为使植物维持正常的生长,在厌氧条件下植物的能量代谢主要依赖糖酵解、乙醇发酵、乳酸发酵以及丙氨酸发酵途径^[6],其中乙醇发酵途径为主要的能量供给途径,丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶作为乙醇发酵的关键酶,其发酵水平越高植物耐涝性越强^[7]。在淹水胁迫下,火龙果根系中编码己糖激酶、6-磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶、乙醇脱氢酶、丙酮酸脱羧酶和丙氨酸转氨酶的差异表达基因的数量分别为 6, 11, 16, 8, 14 和 2 个,且这些基因均上调表达,其中,编码丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶的差异表达基因的倍数多大于 5 倍。表明在淹水胁迫下火龙果根系能量代谢途径主要为糖酵解、乙醇发酵及丙氨酸发酵途径,火龙果根系乙醇发酵水平较高,植物耐涝性较强。

总而言之,淹水胁迫对火龙果根系的基础代谢影响较大,但火龙果根系能够通过糖酵解、乙醇发酵及丙氨酸发酵途径来提供火龙果植株生存所需能量以减轻淹水胁迫对其造成的不良影响,并能够诱导乙烯合成来调控火龙果的逆境应答从而使火龙果植株表现出一定的淹水耐受性。

参考文献:

- [1] 申世辉, 马玉华, 蔡永强. 火龙果研究进展 [J]. 中国热带农业, 2015, 11(1): 48-52.
- [2] 田新民, 李洪立, 何云, 等. 火龙果研究现状 [J]. 北方园艺, 2015, 39(18): 188-193.
- [3] 王壮, 王立娟, 蔡永强, 等. 火龙果营养成分及功能性物质研究进展 [J]. 中国南方果树, 2014, 43(5): 25-29.
- [4] 濮文辉, 李洪立, 胡文斌, 等. 海南西部火龙果反季节生产考察 [J]. 中国热带农业, 2017, 13(6): 28-30.

- [5] Thirunavukkarasu N, Hossain F, Mohan S, et al. Genome-wide expression of transcriptomes and their co-expression pattern in subtropical maize (*Zea mays* L.) under waterlogging stress [J]. Plos One, 2013, 8(8): e70433.
- [6] Zou X, Tan X, Hu C, et al. The transcriptome of *Brassica napus* L. roots under waterlogging at the seedling stage [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(2): 2637 – 2651.
- [7] Lee Y H, Kim K S, Jang Y S, et al. Global gene expression responses to waterlogging in leaves of rape seedlings [J]. Plant Cell Reports, 2014, 33(2): 289 – 299.
- [8] Qi X H, Xu X W, Lin X J, et al. Identification of differentially expressed genes in cucumber (*Cucumis sativus* L.) root under waterlogging stress by digital gene expression profile [J]. Genomics, 2012, 99(3): 160 – 168.
- [9] Zhao L, Ding Q, Zeng J, et al. An improved CTAB-ammonium acetate method for total RNA isolation from cotton [J]. Phytochemical Analysis, 2012, 23(6): 647 – 650.
- [10] 陈发棣, 陈素梅, 宋爱萍, 等. 乙烯调控植物耐涝机制的研究进展 [J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(2): 203 – 208.
- [11] 余建, 刘长英, 赵爱春, 等. 桑树 1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶基因(*MnACO*)启动子功能分析 [J]. 作物学报, 2017, 43(6): 839 – 848.
- [12] Sasidharan R, Voeselek L A. Ethylene-mediated acclimations to flooding stress [J]. Plant Physiology, 2015, 169(1): 3 – 12.
- [13] Lorenzo O, Piqueras R, Sánchezserrano J J, et al. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. [J]. Plant Cell, 2003, 15(1): 165 – 178.
- [14] Voeselek L A, Baileyserres J. Flooding tolerance: O₂ sensing and survival strategies. [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2013, 16(5): 647 – 653.
- [15] Bailey-Serres J, Voeselek L A. Flooding stress: acclimations and genetic diversity [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(59): 313 – 339.
- [16] 尹冬梅, 张志国, 陈发棣. 植物淹水胁迫响应研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2012, 40(10): 1 – 6.
- [17] Sairam R K, Kumutha D, Ezhilmathi K, et al. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants [J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(3): 401 – 412.

Differential Gene Expression of Pitaya Root Induced Under Flooding Stress

YAN Zhen, QI Zhao, XIONG Rui, LIU Chengli, XU Min, WEI Shuangshuang, RUAN Yunze, TANG Hua

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry / Hainan Key Laboratory of Sustainable Utilization of Tropical Biological Resources, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: The RNA-Seq sequencing technique was used to sequence the root system of pitaya under flooding stress, and the difference of gene expression between the flooded group and the control group was compared. The expression characteristics of the differentially expressed genes were analyzed and verified by qRT-PCR to explore the molecular mechanism of flooding stress and explore genes related to flooding tolerance. The results showed that there were 1 481 differentially expressed genes in the root system of pitaya under flooding stress, including 925 up-regulated genes and 556 down-regulated genes. Their functions were mainly enriched in sugar metabolism, carbon metabolism, nitrogen metabolism, ethanol metabolism, amino acid biosynthesis, phenylalanine metabolism, plant hormone signal transduction and so on. It can be seen that flooding stress has a great effect on the basic metabolism of pitaya root, but the root system of pitaya can provide the energy required for the survival of pitaya through glycolysis, ethanol fermentation and alanine fermentation to reduce the adverse effects of flooding stress on pitaya. And flooding stress induced ethylene synthesis to regulate the stress response of pitaya so that the pitaya showed a certain tolerance to flooding stress.

Keywords: Pitaya; flooding stress; transcriptome sequencing; differentially expressed gene

(责任编辑: 潘学锋)