

文章编号: 1674-7054(2018)03-0320-08

火龙果干旱胁迫下根和茎的基因差异表达

齐 钊 闫 臻 徐 敏 刘成立 程 玉 熊 睿 骆 娟 汤 华

(海南大学 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室/热带农林学院, 海口, 570228)

摘 要: 以‘大红’火龙果品种为遗传材料,通过 RNA-Seq 测序技术,对干旱组与对照组火龙果的根和茎进行转录组测序,筛选出与干旱胁迫相关的差异表达基因,并进行 qRT-PCR 验证。结果表明:从火龙果根系中筛选到 194 个干旱胁迫下的差异表达基因,包括 70 个上调表达基因和 124 个下调表达基因;从火龙果茎中筛选到 21 个干旱胁迫下的差异表达基因,包括 12 个上调表达基因和 9 个下调表达基因。筛选到的差异表达基因主要富集在酪氨酸代谢、次生代谢生物合成、糖酵解/糖异生、碳代谢等过程,表明火龙果主要是通过调节自身基础代谢来适应干旱胁迫,其中酪氨酸代谢很可能在火龙果抗旱过程中起重要作用。

关键词: 火龙果; 干旱胁迫; 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.2018.03.008

火龙果(*Hylocereps undatus*)营养丰富,风味独特,是具有保健功能的新兴热带水果。近年来,火龙果在我国的海南、广西、广东、云南等地区都有大规模种植^[1]。火龙果对干旱、温度、贫瘠土壤等非生物胁迫具有较强的耐受性^[2-3],对淹水胁迫和盐胁迫也有一定的适应能力^[4-5]。干旱问题已经成为世界性的问题,全球干旱半干旱地区占陆地总面积的 48%,是农业生产面临的最严重的问题^[6]。在植物暴露于干旱的情况下,引发了从分子表达、生物化学代谢到生态系统水平的反应,涉及大量与不同机制相关的基因和途径^[7]。冷暖等的研究表明,蛋白激酶、蛋白磷酸酶、碳代谢以及 ABA 等相关的基因可以作为研究草地早熟禾干旱响应机制的主要研究对象^[8],刘洪博等的研究表明,干旱胁迫下割手密(*Saccharum spontaneum* L.)根系中与植物膜结合和信号传导相关的差异表达基因最多^[9],这与麻文俊在干旱胁迫下楸树苗中筛选到的差异表达基因情况一致^[10]。目前,对于火龙果的干旱胁迫研究大部分集中在生理生化^[11]和表型结构^[12]等方面,对其分子水平的研究报道则相对较少^[13]。随着高通量测序技术的快速发展,转录组测序已经成为研究基因差异表达的重要手段^[14]。笔者对干旱胁迫下火龙果的根和茎进行了转录组测序,对所得到的数据进行了生物信息学分析,筛选出响应火龙果干旱胁迫的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),并通过荧光定量 PCR 技术对筛选基因进行表达验证,并对筛选到的差异表达基因进行 GO (gene ontology) 的功能注释及 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 富集分析,旨在筛选出火龙果抗旱相关基因,为揭示火龙果响应干旱胁迫的分子机制提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料培养与试验处理 选取 20~30 cm 长势良好,大小均匀的‘大红’品种火龙果植株,移栽到相同大小的花盆中恢复生长 2 周后,作为试验材料。干旱处理 30 d 火龙果植株作为干旱处理组,正常浇水火

收稿日期: 2018-06-01

修回日期: 2018-06-15

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

作者简介: 齐钊(1989-),女,海南大学热带农林学院 2015 级农业生物技术专业硕士研究生, E-mail: island517@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

火龙果植株作为对照组,分别取2组火龙果植株的茎和根作为测序材料。混合取样,每次取3盆,每个样品取样3次,并将样品即干旱胁迫火龙果根(DR)、正常浇水火龙果根(CR)、干旱胁迫火龙果茎(DS)、正常浇水火龙果茎(CS)放入液氮中迅速冷冻,置于 -80°C 超低温冰箱中保存备用。

1.2 火龙果总RNA提取 使用改进后的CTAB法^[15]提取火龙果根和茎的总RNA。利用微量紫外分光光度计测定RNA浓度和纯度,琼脂糖凝胶电泳检验RNA质量。

1.3 火龙果的转录组测序与差异表达基因的筛选 分别对不同处理下火龙果植株的根和茎进行转录组测序,测序工作在华大基因完成。采用 $\text{FDR} \leq 0.001$, $|\log_2\text{Ratio}| \geq 1$ 且校正的 P 值 ≤ 0.05 来筛选与火龙果干旱胁迫相关的差异表达基因,并对筛选的差异表达基因进行GO功能注释及Pathway富集分析。

1.4 差异表达基因的qRT-PCR验证 对筛选到的与干旱胁迫相关的差异表达基因进行qRT-PCR验证。qRT-PCR引物采用Primer 5软件进行设计,反应体系为20 μL ,选择火龙果UBQ家族成员UBQ10为内参基因。为避免操作误差,实验设置3个生物学重复,每个反应做3个复孔,结果使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算。

2 结果与分析

2.1 转录组测序组装质量分析 通过分析,得到了Unigene的质量指标,样品CR、DR、CS、DS得到的Unigene总数分别为105 013、86 333、55 914、43 543条,说明数据量丰富;Unigene的平均长度分别是806、712、558、523 bp,拼接长度较长,说明拼接质量较好;N50的平均值分别为1 308、1 094、753、671 bp,数值较大,说明组装效果较好;GC质量分数的平均百分比分别为43.76%、44.23%、44.26%、44.48%,说明样品中GC含量分布较均匀。结果表明,本次数据组装质量较好。

2.2 不同处理下火龙果差异表达基因分析 对样品CR1、CR2、CR3、CS1、CS2、CS3、DR1、DR2、DR3、DS1、DS2、DS3进行表达量密度分析,高表达基因的FPKM一般都会 ≥ 10 ,FPKM在1~10之间的一般为较低水平的表达基因,FPKM ≤ 1 的为极低表达水平的基因。从图1可知,每个样品的3个重复之间的重复度较好,且基本上峰值保持一致。 $\log_{10}\text{FPKM} < 1$ 的基因密度较大,证明较低表达和极低表达水平基因占有较大的数量, $\log_{10}\text{FPKM} \geq 1$ 的基因密度较小,高表达基因占有较小的比例。

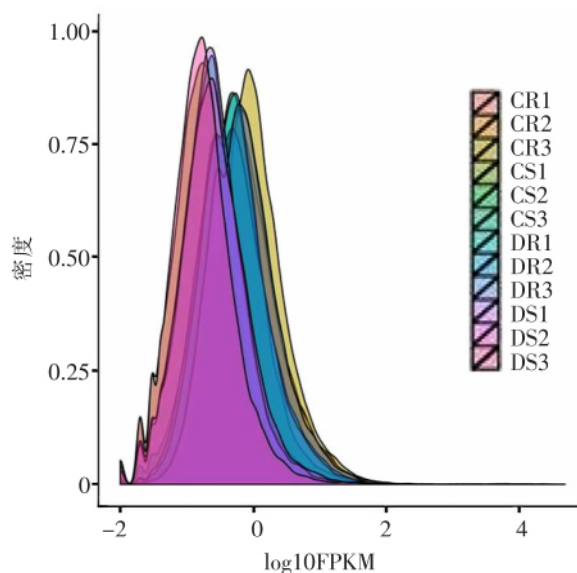


图1 火龙果基因表达量密度分布图
X轴为 $\log_{10}\text{FPKM}$,Y轴为基因的密度

Fig.1 Expression density distribution

X-axis represents $\log_{10}\text{FPKM}$; Y-axis represents gene density

2.2.1 干旱胁迫下火龙果根中的差异表达基因分析 比对测序结果中的火龙果干旱处理组根(DR)与对照组根(CR)的差异表达基因,筛选出干旱胁迫下火龙果根中的差异表达基因194个,如图2(左)所示,其中包括70个上调表达基因,124个下调表达基因,由此可见,在干旱胁迫火龙果根中有更多的下调表达基因应激表达。图2(右)所示,差异表达基因大部分分布在差异倍数1~4之间,极少数分布在差异倍数4以上。

2.2.2 干旱胁迫下火龙果茎中的差异表达基因分析 从图3(左)可知,在干旱胁迫的火龙果茎中筛选出的差异表达基因总数为21个,其中包括表达上调的基因12个,表达下调的基因9个。茎中的差异表达基因大部分分布在差异倍数2~4之间,极少数基因的差异倍数大于4(图3右)。

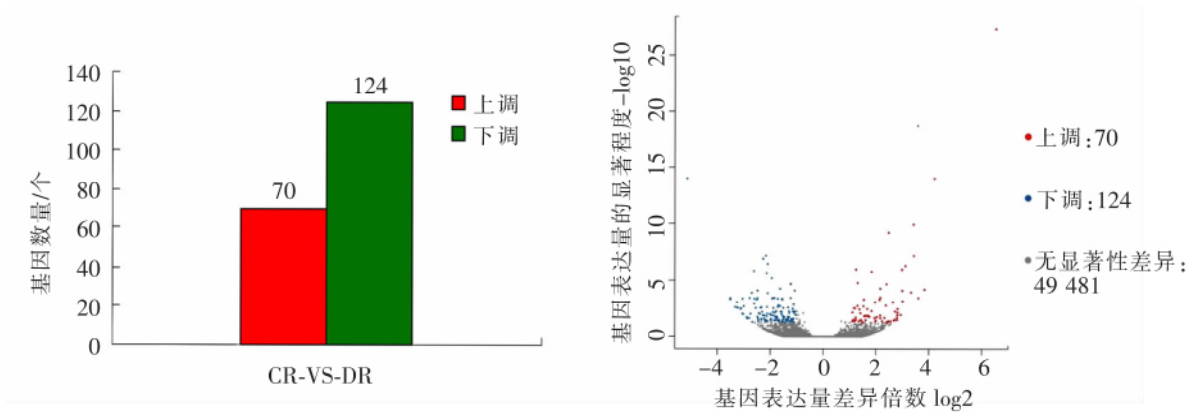


图2 干旱胁迫下火龙果根中差异表达基因数量统计(左)与茎中差异表达基因的散点分布(右)

右图 X 轴代表 $\log_2$ 转换后的差异倍数, Y 轴代表 $-\log_{10}$ 转换后的显著性值

Fig.2 Number of DEGs (left) and Volcano-plot of DEGs in pitaya root (right)

X-axis denotes $\log_2$ fold change; Y-axis denotes P-value transformed from $-\log_{10}$

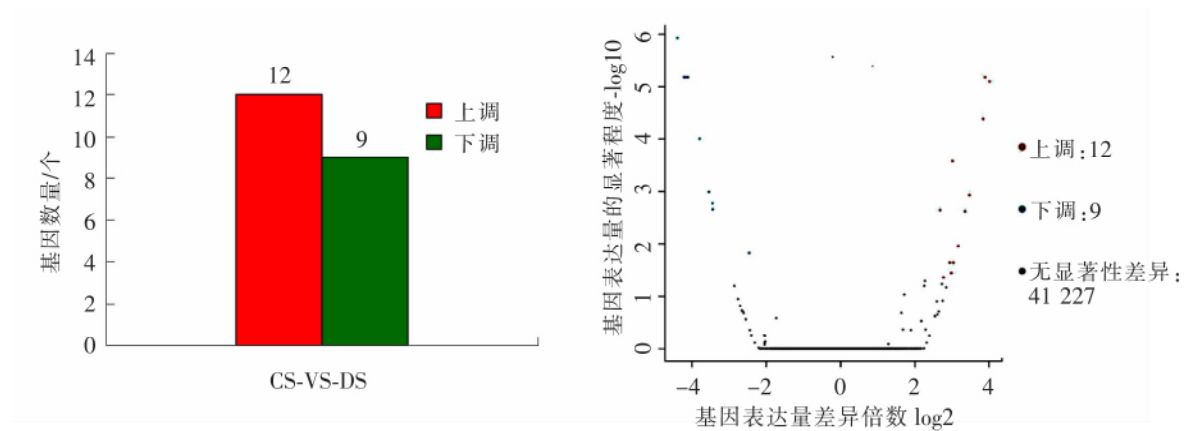


图3 干旱胁迫下火龙果茎中差异表达基因数量统计(左)与茎中差异表达基因的散点分布(右)

右图 X 轴代表 $\log_2$ 转换后的差异倍数, Y 轴代表 $-\log_{10}$ 转换后的显著性值

Fig.3 Number of DEGs (left) and Volcano-plot of DEGs in pitaya stem (right)

X-axis denotes $\log_2$ fold change; Y-axis denotes P-value transformed from $-\log_{10}$

2.3 差异表达基因的功能分析

2.3.1 差异表达基因的 GO 功能分析 在火龙果根和茎中筛选出来的响应干旱胁迫的差异表达基因总数为 215 个,并对这些差异基因进行 GO 功能分类。从图 4(左)可知,富集到生物学过程、细胞组分、分子功能的差异表达基因分别为 176, 100 和 130 个。其中,富集到生物学过程的功能种类最多,为 13 个功能分类;富集到细胞组分和分子功能的功能分类相对较少,都为 7 个功能分类,在 27 个功能分类中富集在催化活性功能中的基因总数最多,为 63 个,其次是富集到结合、新陈代谢过程、膜功能中的基因数较多,分别为 51, 49 和 33 个。

图 4(右)为火龙果茎中差异基因的 GO 功能分类,从中可知,富集到生物学过程、细胞组分、分子功能的差异表达基因分别为 19, 30 和 13 个。富集到生物学过程和分子功能的功能种类都为 3 个;富集到细胞组分的功能分类最多,为 7 个,在 13 个功能分类中富集到催化活性功能中的基因总数最多,为 8 个,而在膜中只富集到了 1 个基因。

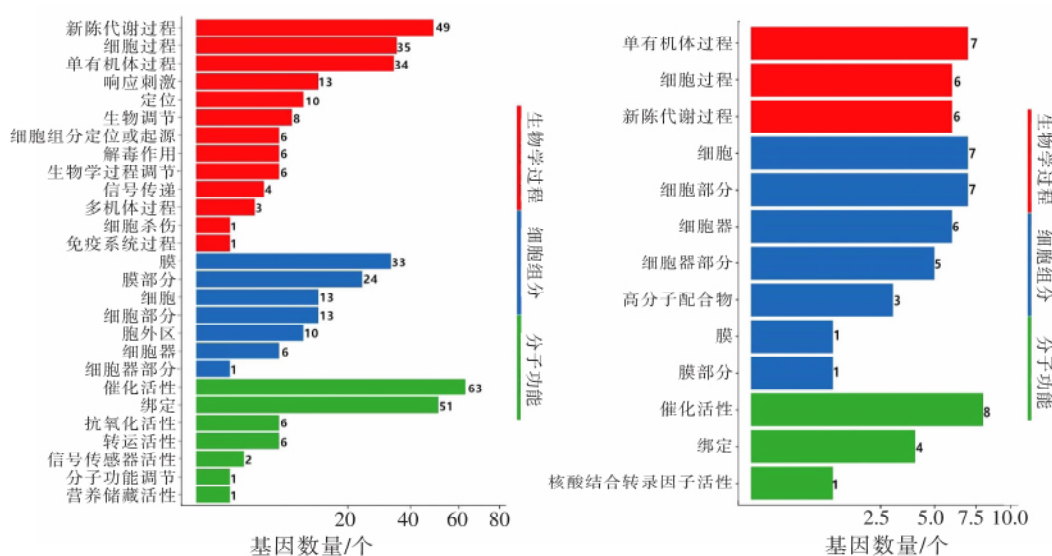


图4 火龙果根(左)和茎(右)差异表达基因 GO 功能分类图

Fig.4 GO classification of DEGs in root (left) and stem (right)

笔者对火龙果根和茎中差异基因的 GO 功能分类进行了比较,结果表明,两者都在催化活性功能中富集到最多的基因,说明火龙果根和茎中的差异表达基因对干旱胁迫响应在一定程度上具有一致性。火龙果根中富集到膜功能的基因数相对较多,茎中富集在膜功能的基因却最少,说明火龙果根和茎中的差异表达基因对干旱胁迫的响应也存在一定的差异性。火龙果根中的差异基因 GO 功能分类总数远多于茎中的功能分类数,且功能分类富集到的基因数也远多于茎中富集的基因数,由此说明,在干旱胁迫下,火龙果根是响应干旱胁迫的主要部分,根中的差异表达基因起到了主要的调节和应答作用。

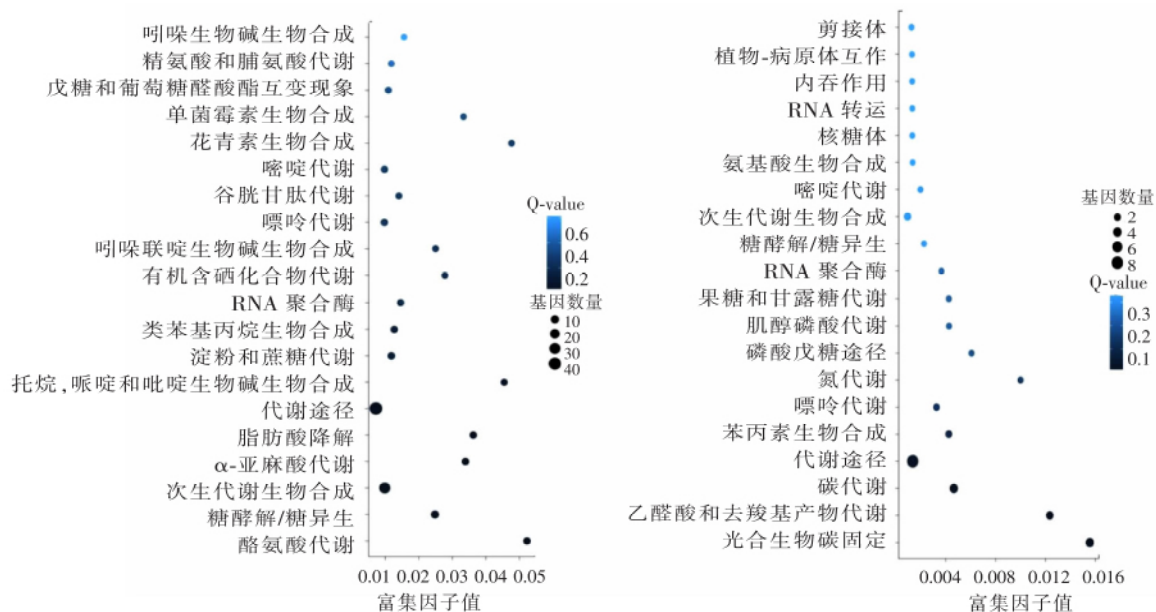


图5 火龙果根(左)和茎(右)的差异表达基因基于 KEGG 的 Pathway 富集结果气泡图

X 轴代表富集因子值,Y 轴代表通路名称;蓝色越深富集结果越显著;点越大代表数目越大

Fig.5 Bubble chart of pathway functional enrichment of DEGs based on KEGG analysis in root (left) and stem (right)

X-axis represents enrichment factor; Y-axis represents names of pathways. The darker blue indicates higher significance of the enrichment; bigger dots denote higher numbers

2.3.2 差异表达基因的 KEGG 功能分析 通过比对 KEGG 数据库,干旱胁迫下的火龙果根和茎中显著性富集到的前 20 个通路见图 5。火龙果根和茎的富集情况既存在相同点,也有差异性。从图 5(左)可知,火龙果根中的差异基因主要富集在代谢途径、次生代谢生物合成、糖酵解/糖异生、酪氨酸代谢中。从图 5(右)可知,火龙果茎中差异基因主要富集在了代谢途径、碳代谢、乙醛酸和去羧基产物代谢以及光合生物的碳固定中。干旱胁迫下的火龙果根和茎中差异表达基因富集到代谢途径的基因数都最多,说明干旱胁迫主要影响了火龙果植株的基础代谢过程。糖代谢和酪氨酸代谢、碳代谢等都积极参与了植物抗逆性的调控,响应了植物对干旱胁迫的应答机制^[14, 16-19]。另外,火龙果根中的差异表达基因富集到次生代谢生物合成的数量仅次于代谢途径,说明在干旱胁迫下火龙果根中存在较多的次生代谢的生物合成,来维持火龙果正常的代谢过程。

2.4 干旱胁迫相关基因的 qRT-PCR 验证

2.4.1 火龙果茎中差异基因的表达水平 qRT-PCR 验证 在干旱胁迫下,从火龙果茎中筛选出 5 个差异表达基因,使用 qRT-PCR 方法对其表达水平进行验证。实验结果如图 6 所示,包括了 4 个表达上调的基因和 1 个表达下调的基因,测序结果的基因表达量变化和 qRT-PCR 验证结果一致,证明测序结果可靠。其中,肌醇多磷酸合酶(图 6-A)、remorin 蛋白(图 6-D)、金属硫蛋白(图 6-E)等均与抗逆性蛋白合成或可能与抗性发育信号途径相关^[20-21]。

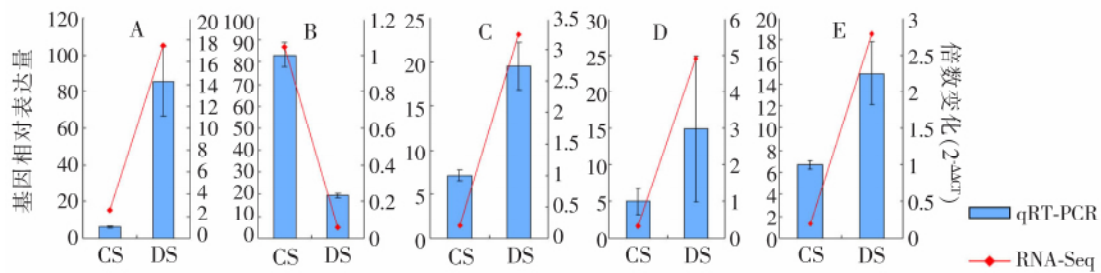


图 6 火龙果茎的差异表达基因 qRT-PCR 验证

Fig.6 Verification of gene expression level of pitaya stems by qRT-PCR

A, CL302.Contig4(肌醇磷酸盐合酶, myo-inositol 1-phosphate synthase); B, Unigene2981(假设蛋白, hypothetical protein); C, CL42.Contig10; D, CL1511.Contig5(remorin 蛋白, remorin-like isoform X1); E, CL4632.Contig1(金属硫蛋白, Metallothionein-like protein type 3)

2.4.2 火龙果根中差异表达基因的 qRT-PCR 验证 在干旱胁迫的火龙果根中,对筛选出的 19 个差异表达基因进行 qRT-PCR 验证,从图 7 可知,这 19 个基因的 qRT-PCR 验证的表达趋势与测序结果的变化趋势相同,证明了测序结果的准确性和可靠性,同时根据验证的结果,可以对筛选出的基因进行更深入的研究。在筛选的 19 个基因中,有 12 个基因在干旱胁迫下的基因表达量显著下降,有 7 个基因的表达量显著上升。其中,丙酮酸脱羧酶(图 7-D)、N 糖基酶(图 7-K)、糖转运蛋白(图 7-L、图 7-O)都参与了糖酵解途径;氧化丙二烯合酶(图 7-G)、过氧化物酶(图 7-E)、CBL 互作蛋白激酶(图 7-H)则可能和活性氧(ROS)代谢相关^[22]; Myb(图 7-N)和 AP2/ERF(图 7-R)为与非生物胁迫应答相关的转录因子;乙醇脱氢酶(图 7-B)也参与了植物对干旱胁迫的应答^[23]。

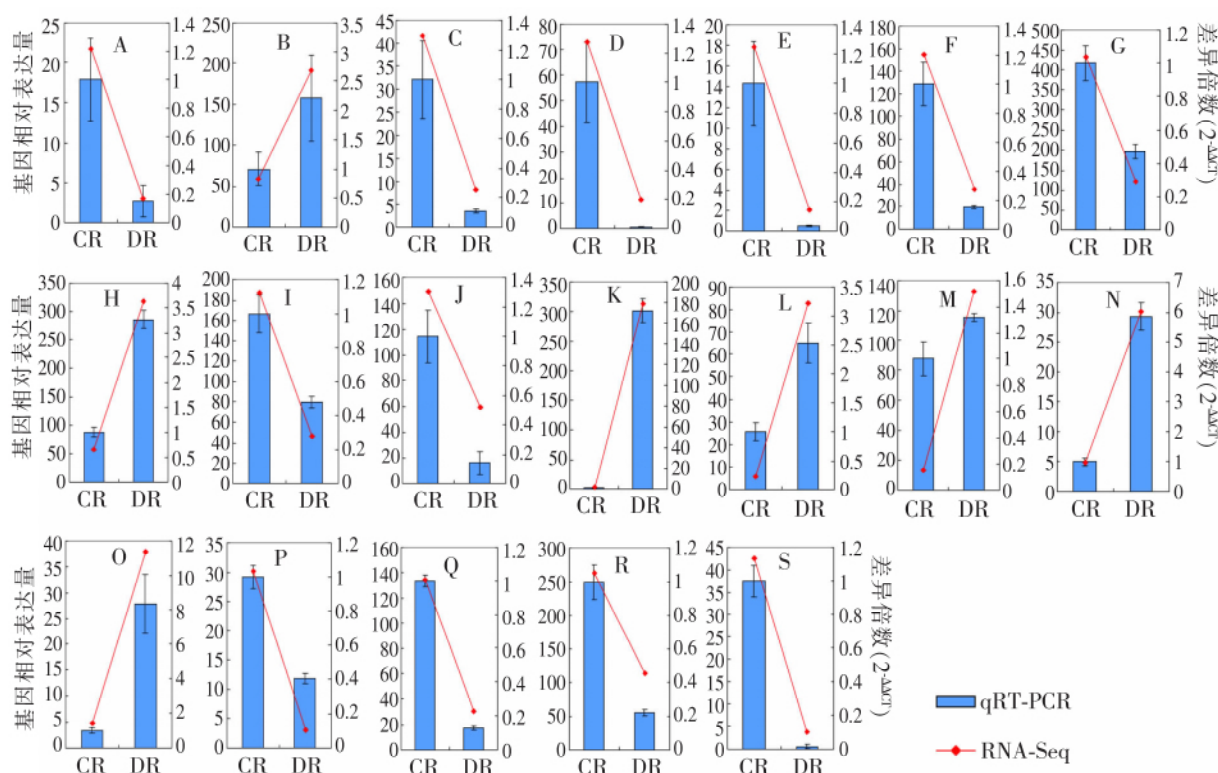


图7 火龙果根的差异表达基因 qRT-PCR 验证

Fig.7 Verification of gene expression level of pitaya roots by qRT-PCR

A. CL218.Contig10(假设蛋白,hypothetical protein);B. CL6151.Contig1(乙醇脱氢酶,alcohol dehydrogenase);C. CL1258.Contig5(乙醇脱氢酶,alcohol dehydrogenase);D. CL1562.Contig7(丙酮酸脱羧酶,pyruvate decarboxylase);E. Unigene14312(过氧化物酶,catininc peroxidase);F. Unigene10224(假设蛋白,hypothetical protein);G. CL1797.Contig3(丙二烯合酶,alleneoxide synthase,chloroplastic);H. CL3599.Contig2(CBL-互作蛋白激酶,CBL-interacting protein kinase 24-like);I. CL1729.Contig5(假设蛋白,hypothetical protein);J. CL2610.Contig4(假设蛋白,hypothetical protein);K. Unigene2800(N-糖苷酶,N-glycosidase);L. Unigene5683(双向糖转运蛋白 N3,bidirectional sugar transporter N3);M. Unigene2676(假定蛋白,hypothetical protein);N. Unigene8926(类 Myb 转录因子,Myb-like transcription factor);O. Unigene8743(双向糖转运蛋白 N3,bidirectional sugar transporter N3);P. CL182.Contig8(发色团裂合酶,chromophore lyase CRL,chloroplastic);Q. CL6023.Contig1(异天冬酰胺蛋白酶,probable isoaspartyl peptidase);R. Unigene69(包含 B3 结构域的 AP2/ERF 转录因子,AP2/ERF and B3 domain-containing transcription factor);S. Unigene14183(假设蛋白,hypothetical protein)

3 讨论

3.1 响应火龙果干旱胁迫的转录因子与蛋白激酶 转录因子通过与目标基因的顺式作用元件相结合,启动下游抗旱相关功能基因的表达,对逆境胁迫的基因诱导表达起调控作用^[24]。如 AP2/ERF 类转录因子分成 4 个亚族: DREB(dehydration-responsive element binding protein) ,ERF(Ethylene-responsive element binding factors) ,AP2(APETALA2) ,RAV(related to ABI3/VP1) ^[25] ,均可识别植物干旱等非生物胁迫诱导的响应元件。有研究报道已经指出,在拟南芥中 *AtRD29A* 基因启动子区域存在该家族亚基,可识别下游调节基因,从而提高植物抗性^[26]。本研究中,筛选出的基因 AP2/ERF B3(Unigene69_All) 属于 AP2/ERF 家族,其在火龙果植株受到干旱胁迫的根中表达量显著升高,表明 AP2/ERF B3 参与了对火龙果的干旱胁迫的应答机制。

类钙调磷酸酶 B 蛋白(CBL) 和其互作蛋白激酶(CBL-interacting protein kinase ,CIPK) 是与非生物胁迫相关的 Ca^{2+} 信号转导中的重要组分。已经在小麦中克隆出 7 个 CBL 和 8 个 CIPK 基因,并对它们编码的蛋白质进行了系统分析^[27]。本实验筛选到的 CBL 互作蛋白激酶(CL3599. Contig2_All) 在干旱胁迫下的火龙果根中高表达,有可能存在与其互作蛋白 CBL,可以通过酵母双杂技术对其互作蛋白进一步筛选。Remorin 蛋白可能是植物专一性蛋白,且和植物从水生到陆生有关,能够参加植物抗性与发育的信号传导途径^[22]。本实验筛选到的 Remorin 蛋白(CL1511. Contig5) 可能参与了火龙果对干旱应答的信号通路。

3.2 酪氨酸代谢途径对火龙果干旱胁迫的响应 酪氨酸蛋白磷酸酶(PTPase)是参与酪氨酸代谢的重要酶类,在大量的动物实验中,已经证明 PTPase 在细胞信号传递中起到非常关键的作用^[28],笔者发现,酪氨酸代谢也是富集到的重要通路之一。ABA 作为植物体内六大激素之一,被誉为“胁迫分子”^[29],因此 ABA 的积累是植物响应干旱胁迫的重要表现。目前有研究发现,偏钒酸钠(NaVO_3)可以阻断水分亏缺诱导的 ABA 积累^[30],而 NaVO_3 作为 PTPase 的专一抑制剂已在玉米材料中进行了验证,证明 PTPase 可以被水分亏缺激活^[31]。由此可见,酪氨酸代谢参与了植物对干旱胁迫的响应和调节。

干旱胁迫下,火龙果根中差异表达基因显著富集在了酪氨酸代谢途径中,结合 KEGG 数据库和测序结果,酪氨酸脱羧酶(CL218. Contig10_All, TYDC)、乙醇脱氢酶(CL6151. Contig1_All, ADH1_7; CL1258. Contig5_All, ADH4)、胺氧化酶(Unigene1021_All, AOC3)等均被注释到了酪氨酸代谢中,这与其他植物在干旱胁迫下的富集通路有所不同^[8-9]。火龙果是热带作物,具有较强的抗旱性,这可能是火龙果在干旱胁迫下富集的通路与其他植物不同的原因之一。因此,酪氨酸代谢途径可能是火龙果具有较强抗旱能力的重要保障,具有深入研究的价值。

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] Nie Q, Gao G L, Fan Q J, et al. Isolation and characterization of a catalase gene “HuCAT3” from pitaya (*Hylocereus undatus*) and its expression under abiotic stress[J]. Gene, 2015, 563(1): 63-71.
- [3] Deng R J, Fan J X, Wang Y Q, et al. Semi-lethal temperature of pitaya under low temperature stress and evaluation on their cold resistance[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(11): 1742-1748.
- [4] 闫臻,齐钊,徐敏,等. 淹水胁迫对火龙果植株形态和生理特性的影响[J]. 广东农业科学, 2017, 44(12): 39-44+3.
- [5] 袁亚芳,陈明贤,陈清西,等. NaCl 胁迫对火龙果扦插苗若干生理生化指标的影响[J]. 热带作物学报, 2012, 33(7): 1256-1260.
- [6] 魏志刚,王玉成. 植物干旱胁迫响应机制[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [7] Chaves M M, Maroco J P, Pereira J S. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant[J]. Functional Plant Biology, 2003, 30(3): 239-264.
- [8] 冷暖,刘晓巍,张娜,等. 草地早熟禾干旱胁迫转录组差异性分析[J]. 草业学报, 2017, 26(12): 128-137.
- [9] 刘洪博,刘新龙,苏火生,等. 干旱胁迫下割手密根系转录组差异表达分析[J]. 中国农业科学, 2017, 50(6): 1167-1178.
- [10] 麻文俊. 楸树优良无性系 2-8 苗期生理变化与基因表达对干旱胁迫的响应[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013.
- [11] 文晓鹏,郑思成,樊庆杰,等. 火龙果试管苗对干旱胁迫的生理生化反应[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(4): 8-13.
- [12] 张依楠,廖海民,吉志超,等. 水分胁迫对火龙果茎解剖结构的影响[J]. 山地农业生物学报, 2017, 36(5): 78-82.
- [13] 员艳丽. 白沙蒿对干旱响应的转录组研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2016.
- [14] 李亮. 玉米雄穗响应干旱胁迫的主要代谢途径解析及耐旱 SNAC 基因筛选鉴别[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015.
- [15] 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.
- [16] 王靖宇,丁伟, Muhammad S K,等. 干旱胁迫下转基因抗旱大豆与不同碳代谢途径杂草生存竞争的研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 73-76.
- [17] 王允,张逸,刘灿玉,等. 干旱胁迫下外源 ABA 对姜叶片活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 2016, 43(3): 587-594.
- [18] 郭瑞盼,辛泽毓,王志强,等. 干旱胁迫对小麦非结构性碳水化合物代谢的影响及其与抗旱性的关系[J]. 华北农学报, 2015, 30(2): 202-211.
- [19] 董蕾,李吉跃. 植物干旱胁迫下水分代谢、碳饥饿与死亡机理[J]. 生态学报, 2013, 33(18): 5477-5483.
- [20] 程彦伟,韩建明,徐晓燕,等. 植物 Remorin 蛋白的研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2009, 30(4): 88-93.
- [21] 全先庆,张洪涛,单雷,等. 植物金属硫蛋白及其重金属解毒机制研究进展[J]. 遗传, 2006, 28(3): 375-382.
- [22] D'Angelo C, Weinl S, Batistic O, et al. Alternative complex formation of the Ca-regulated protein kinase CIPK1 controls ab-

- scisic acid-dependent and independent stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology* ,2006 , 48(6) : 857 – 72.
- [23] Senthil-Kumar M , Hema R , Suryachandra T R , et al. Functional characterization of three water deficit stress-induced genes in tobacco and *Arabidopsis*: an approach based on gene down regulation [J]. *Plant Physiology & Biochemistry* ,2010 ,48(9) : 35 – 44.
- [24] Mizoi J , Yamaguchi-Shinozaki K. GmDREB2A 2 , a canonical dehydration-responsive element-binding protein2-type transcription factor in soybean , is post-translationally regulated and mediates dehydration-responsive element-dependent gene expression [J]. *Plant Physiology* ,2013 ,161(1) : 346 – 361.
- [25] Sakuma Y , Liu Q , Dubouzet J G , et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs , transcription factors involved in dehydration and cold-inducible gene expression [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications* ,2002 ,290(3) : 998 – 1009.
- [26] 崔喜艳 , 陈众峰 , 陈展宇. AP2/ERF 转录因子对植物非生物胁迫应答的研究进展 [J]. *吉林农业大学学报* ,2015 ,37(4) : 417 – 423.
- [27] 邓小敏. 小麦 *CBL* 基因和 *CIPK* 基因的克隆及在非生物胁迫中的功能研究 [D]. 武汉: 华中科技大学 ,2013.
- [28] Stone R L , Dixon J E. Protein-tyrosine phosphatases. [J]. *Journal of Biological Chemistry* ,1994 ,269(50) : 31323 – 31326.
- [29] Pennisi E. Plant biology. Stressed out over a stress hormone [J]. *Science* ,2009 ,324(5930) : 1012 – 1013.
- [30] Guo YL , Roux SJ. Partial purification and characterization of an enzyme from pea nuclei with protein tyrosine phosphatase activity [J]. *Plant Physiology* ,1995 ,107(1) : 167 – 175.
- [31] 邢宇 , 王幼群 , 张蜀秋 , 等. 酪氨酸蛋白磷酸酶可能影响 ABA 的积累和参与植物细胞水分胁迫信号传递 [J]. *科学通报* ,2003 ,48(4) : 369 – 374.

Differentially Expressed Genes of Roots and Stems of Pitaya under Drought Stress

QI Zhao , YAN Zhen , XU Min , LIU Chengli , CHENG Yu , XIONG Rui , LUO Juan , TANG Hua

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

Abstract: Although pitaya (*Hylocereus undatus*) has a good drought tolerance , drought stress could result in reduced production , low quality , and even failure in bearing fruit of pitaya. The pitaya Dahong was used as the experimental material , and a new generation of high-throughput sequencing technology (RNA-Seq) was used to compare the differences in the root and stem of the pitaya between the treatment group and the control group. We screened differentially expressed genes (DEGs) from the root and stem , and verified the expression of the screened genes by qRT-PCR. A total of 194 DEGs were produced from CR-VS-DR , including 70 up-regulated expression genes and 124 down-regulated expression genes which responded to drought stress. From CS-VS-DS , 21 DEGs were obtained , including 12 up-regulated expression genes and 9 down-regulated expression genes which responded to drought stress. The screened differentially expressed genes were mainly concentrated in the process of tyrosine metabolism , secondary metabolite biosynthesis , glycolysis/glycoheterosis , and carbon metabolism. It showed that the pitaya was mainly adapted to drought stress by adjusting its basic metabolism , and the tyrosine metabolism may play an important role in the drought resistance of the pitaya.

Keywords: pitaya; drought stress; RNA-Seq; differentially expressed genes

(责任编辑: 潘学锋)