

王华, 汪王微, 刘春旖, 等. 干旱处理下 2 个梨品种转录组差异表达基因分析[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(4): 61-67.

干旱处理下 2 个梨品种转录组差异表达基因分析

王 华¹, 汪王微¹, 刘春旖¹, 王巧巧¹, 朱立武¹, 徐小牛²

(1 安徽农业大学 果树学重点实验室, 安徽 合肥 230036; 2 安徽农业大学 林学与园林学院, 安徽 合肥 230036)

摘要:【目的】以转录组数据为基础挖掘梨抗旱关键基因, 为培育梨抗旱品种提供理论基础。【方法】以正常浇水和干旱处理下黄冠梨 *Pyrus bretschneideri* ‘Xuehuali’ × *P. pyrifolia* ‘Shinsseiki’ 和黄金梨 *P. pyrifolia* ‘Niitaka’ × *P. pyrifolia* ‘Nijisseiki’ 的叶片进行 Illumina Hi Seq™ 2000 高通量转录组测序分析, 利用基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库分析 2 个梨品种中的差异表达基因 (DEGs)。【结果】2 个梨品种间在正常浇水和干旱处理下分别发现了 4 377 和 3 841 个 DEGs, 其中只在干旱处理下的 DEGs 有 1 340 个。这些 DEGs 在 GO 数据库的 3 个本体生物过程、分子功能和细胞成分中富集到的数量分别是 1 387、922 和 1 253 个, 与植物抗旱相关的代谢过程、应激反应和生物膜等条目分别富集到 349、139 和 151 个 DEGs。仅在干旱处理下的 1 340 个 DEGs 被比对到 102 个 KEGG 代谢通路上, 其中与植物内源激素相关的代谢通路有 3 个。将 1 340 个 DEGs 进行转录因子分析发现, 被注释为转录因子的有 37 个, 分布在 17 个转录因子家族中, 其中乙烯应答转录因子 (ERF) 家族所拥有的 DEGs 最多, 为 11 个。【结论】本研究发现了与梨抗旱相关的内源激素代谢基因和转录因子, 干旱胁迫下这些基因在 2 个梨品种中差异表达, 这可能与 2 个品种的抗旱性差异存在密切关系, 为下一步梨抗旱分子机理研究奠定了基础。

关键词: 梨; 干旱; 转录组; 差异表达基因; 代谢通路; 转录因子
中图分类号: S661.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2018)04-0061-07

Analysis of differentially expressed genes in transcriptomes of two pear genotypes under drought stress

WANG Hua¹, WANG Wangwei¹, LIU Chunyi¹, WANG Qiaoqiao¹, ZHU Liwu¹, XU Xiaoniu²
(1 Key Laboratory of Pomology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;
2 School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: 【Object】To discover key genes related to drought resistance of pear plants based on transcriptome data, and provide a theoretical foundation for the breeding of drought resistant pear varieties. 【Method】High through-put transcriptome sequencing by illumina Hi Seq TM 2000 was performed using leaves of ‘Huangguan’ pear (*Pyrus bretschneideri* ‘Xuehuali’×*P. pyrifolia* ‘Shinsseiki’) and ‘Hwangkumbae’ pear (*P. pyrifolia* ‘Niitaka’×*P. pyrifolia* ‘Nijisseiki’) under normal irrigation and drought stress treatments. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) databases were used to analyze the differentially expressed genes (DEGs) in two pear genotypes. 【Result】There were 4 377 and 3 841 DEGs comparing two pear genotypes under control irrigation and drought stress, respectively. Among these DEGs, 1 340 DEGs were only found under drought stress. There were 1 387, 922 and 1 235 DEGs in three ontologies including biological

process, molecular function and cellular component, respectively. There were 349, 139 and 151 DEGs enriched in terms related to drought response of plant including metabolic process, stress response and biomembrane, respectively. The 1 340 DEGs only found under drought stress were matched to 102 KEGG pathways, and three of the pathways were related to phytohormone biosynthesis. Furthermore, among the 1 340 DEGs, 37 genes were annotated as transcription factors which belonged to 17 transcription factor families, and the ethylene responsive factor (ERF) family had 11 DEGs. 【Conclusion】 In this study, some genes related to endogenous hormone metabolism and transcription factors are found to express differentially in two pear genotypes under drought stress. These genes are probably closely related to the genotypic differences in drought resistance. Our results provide a basis for future study of the molecular mechanism of drought resistance of pear plant.

Key words: pear; drought; transcriptome; differentially expressed gene; metabolic pathway; transcription factor

随着全球气候变暖,干旱发生更加频繁,持续时间更长,平均气温和极端气温都有所上升^[1]。同时,其他非生物胁迫也会导致植物脱水,如冻害、干热风及盐胁迫等。当受到干旱胁迫时,植物会调动多水平的复杂响应来应对胁迫,包括形态适应、生理生化调控及基因表达的调节^[1-2]。

梨是世界重要的果树作物,在中国更被称为“百果之宗”。在过去的 20 年里,中国梨产量增长了 3 倍以上,从 550 万 t 升至 1 900 万 t,占世界梨产量的 70%。目前,世界梨产业已偏向于亚洲梨产业^[3]。但是,随着干旱趋势的加剧,在我国梨主产区,梨园生产对灌溉水依赖性逐步增大,有的地区已造成地下水严重超采的现象^[4],水资源短缺已成为梨果生产的主要限制性因子之一。提高水分利用效率是农业节水栽培的核心问题^[5]。目前,梨产区的节水途径主要是改进梨园灌水方式^[4],而对梨抗旱资源的挖掘和抗旱品种的培育研究相对较少,特别是通过基因工程培育梨树新品种更是鲜有报道。本研究在前人对于干旱胁迫下梨树在生理^[6-7]、分子水平响应相关研究的基础上^[8-9],以生产实践中发现的抗旱性较强的黄冠梨 *Pyrus bretschneideri* ‘Xuehuali’ × *P. pyrifolia* ‘Shinsseiki’ (Huangguan, HG) 和抗旱性较弱的黄金梨 *P. pyrifolia* ‘Niitaka’ × *P. pyrifolia* ‘Nijisseiki’ (Hwangdeum, HK) 为试验材料,借助转录组测序技术,挖掘梨树抗旱基因,明析其抗旱代谢相关调控机制,为培育梨抗旱品种提供理论基础和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2014 年 7 月,以安徽农业大学实验基地所栽种的长势良好的 2 年生黄金梨和黄冠梨嫁接盆栽苗

(杜梨为砧木) 为材料,在人工气候室内进行正常浇灌[对照,土壤含水量 (*w*) 为 70%±5%]和干旱处理[土壤含水量 (*w*) 为 20%±5%],每个处理 (黄冠梨对照: HGC, 黄金梨对照: HKC, 黄冠梨干旱处理: HGSD 和黄金梨干旱处理: HKSD) 15 株树苗,取梨树中部倒数 3~6 片成熟功能叶进行总 RNA 的提取。

1.2 样品处理及转录组数据库分析

梨叶片总 RNA 的提取,采用 Li 等^[10]的方法进行。梨转录组序列的测定和分析参考 Li 等^[11]的方法,获得过滤后的干净读数 (Clean reads) 后与梨基因组进行比对获得基因序列。在此基础上,对于干旱胁迫处理前后 2 个梨树品种中的差异表达基因 (Differentially expressed genes, DEGs) 进行分析,本研究中,我们用每百万 reads 中来自于某基因每千碱基长度的 reads 数 (Reads per kilobase transcriptome per million mapped reads, RPKM) 值来统计基因的表达量,且界定错误发现率 (False discovery rate, FDR) ≤ 0.01, Log₂Ratio 的绝对值 ≥ 1 (Ratio 为基因在 2 个比较样本中表达量的比值) 的基因为差异表达基因。对于差异基因的注释和功能分析,则是把基因序列分别在 NCBI 的非冗余蛋白质序列库 (NCBI non-redundant protein sequences, Nr 数据库)、基因本体库 (Gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 中进行比对。

1.3 差异表达基因 RT-qPCR 验证

从测序结果中随机挑选 12 个 DEGs 用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法验证转录组测序数据的有效性和准确性。使用软件 Primer premier 5.0 设计荧光定量 PCR 引物 (表 1),以叶片的 cDNA 为模板,以梨的 *GAPDH* 片段为内参,详细步骤参考董丽丽等^[12]的方法,每个样品进行 4 次重复检测,使用 2^{-ΔΔC_t} 法求得待测样品相对表达量。

表 1 梨叶片差异表达基因荧光定量测定引物		
Table 1 Primers for qRT-PCR verification of differentially expressed genes in pear leaves		
基因登录号	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
Pbr016940.1	TGTGGTATGCGGGAACCTGC;	TTCCTCCTGAAAGAGCAACCT
Pbr018626.1	TGTGGTATGCGGGAACCTGC	TTCCTCCTGAAAGAGCAACCT
Pbr004876.1	GCAACCACGCTTTCACCAT	AAGGCAGTCCAGTTTCCATTC
Pbr031796.1	AGGCATTCCAAGCGACCCA	CAACTCCGATGGGAATGAA
Pbr005929.1	TCTAACCACCTCATTCTCTCCG	CACCCGTCGTCATCACCAG
Pbr006516.1	CGTCCCTGCCAACTCAAAC	GGCTCTTCCACCTCATTCC
Pbr006463.1	GTGATGATGCTGCTGCTTA	CGTTGCTGCTCTTGCTCAT
Pbr002127.1	ATGGAACGCACATAACAAC	CAATCTGTTTGATGCGTAAT
Pbr002776.1	GTGTCGTACCTCGTCAATG	TTTGAATGCACGGCTATT
Pbr011316.1	GGGGTCCCAATGGATGTCA	TTCCGCTTCGACAAATGC
Pbr023254.1	AGGTTTCTTTGGGTGCTGA	CTCCTTCCCTCTTTCATCG
Pbr024943.2	TCCCAAAGAGTTTAGCCC	TCATCCACTCGCCAGAAA
GAPDH片段	GTGCCCACTGTTGATGTTTCC	CCTTCTGACTCCTCCTTGATAGC

2 结果与分析

2.1 测序结果

测序结果(表 2)显示, 2 个梨树品种的对照分别得到了 4 787 万 (HGC) 和 4 788 万 (HKC) 的过滤后的干净读数, 而 2 个干旱处理分别得到了 4 777 万 (HGSD) 和 4 778 万 (HKSD) 的过滤后的干净读数, 这些数据为进一步分析提供了足够的数据源。4 个样品 HGC、HKC、HGSD 和 HKSD 的转录组数据与梨基因组的比对率分别为 64.52%、65.08%、64.01% 和 63.59%。在表达基因的数量上, 4 个样品中除了 HGSD 不足 2.6 万以外, 其他样品的表达基因都在 2.6 万以上。同时, 在黄冠梨的 2 个样品 (HGC 和 HGSD) 中都预测到了 1 900 个左右的新转录本, 在黄金梨的 2 个样品 (HKC 和 HKSD) 中均预测到了 1 700 多个新转录本。同时, 4 个样品都分别得到了 4 万多个可变剪切和 21 万以上的 SNPs。

表 2 梨叶片转录组分析结果					
Table 2 Transcriptome analysis result of pear leaves					
处理	梨品种	表达基 因数量	新转录 本数量	可变剪 切数量	SNP 数量
正常浇水	黄金梨	26 711	1 741	40 079	214 162
	黄冠梨	26 540	1 949	42 685	223 805
干旱	黄金梨	26 221	1 721	41 613	211 005
	黄冠梨	25 935	1 870	41 754	214 067

2.2 差异表达基因统计与分析

不同样本间基因差异表达的分析结果如图 1 <http://xuebao.scau.edu.cn>

所示, 不同浇水处理下 2 个品种间都有差异表达基因; 进一步研究表明, 正常浇水处理下 2 个梨品种有 4 377 个 DEGs, 干旱处理后 2 个梨品种有 3 841 个 DEGs, 不同浇水处理下都有的 DEGs 有 2 501 个, 1 876 个基因只在正常浇水处理差异表达, 而 1 340 个 DEGs 仅在干旱后差异表达。进一步分析发现, 这 1 340 个 DEGs 中有 529 个基因上调表达, 而其余 811 个基因下调, 这些基因是我们进一步研究的重点。

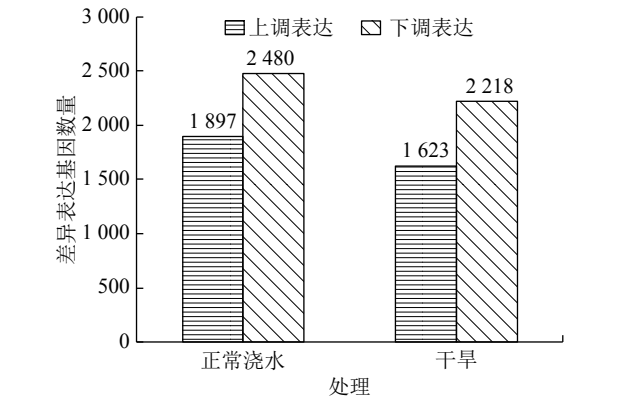


图 1 不同处理下 2 个梨品种中差异表达基因统计
Fig. 1 Statistics of differentially expressed genes in two pear genotypes under different treatments

2.3 梨基因注释信息

2.3.1 GO 功能显著性富集分析 基因本体 (GO) 是一个国际化的基因功能分类体系, 提供了一套动态更新的标准词汇表来全面描述生物体中基因和基因产物的属性。将 1 340 个仅在干旱处理下的 DEGs 与 GO 数据库进行比对 (表 3), 总共

表 3 干旱处理下 1 340 个差异表达基因的基因本体分析
Table 3 Gene ontology analysis of 1 340 differentially expressed genes under drought stress

基因本体	基因本体条目	差异基因数量	占比/%	基因本体	基因本体条目	差异基因数量	占比/%
生物学过程	免疫系统过程	8	0.60	分子功能	信号传感器活性	17	1.27
	刺激反应	139	10.37		转录因子活性、蛋白结合	1	0.07
	生物附着	1	0.07		分子功能调节器	7	0.52
	节律过程	2	0.15		转运子活性	46	3.43
	信号	37	2.76		抗氧化活性	3	0.22
	单一的生物过程	214	15.97		结合	350	26.12
	细胞成分组织或生物起源	46	3.43	细胞组分	结构分子活性	7	0.52
	代谢过程	349	26.04		胞外区部分	3	0.22
	多细胞生物的过程	41	3.06		生物膜	151	11.27
	发展过程	65	4.85		病毒粒子	1	0.07
	生物相	1	0.07		细胞外基质成分	1	0.07
	生长	4	0.30		病毒粒子区域	1	0.07
	繁殖	31	2.31		膜部分	71	5.30
	繁殖过程	30	2.24		细胞外基质成分	1	0.07
	多有机体过程	10	0.75		胞外区	10	0.75
	局部化	72	5.37		膜封闭腔	6	0.45
	细胞过程	292	21.79		细胞器	239	17.84
	生物调节	45	3.36		细胞器部分	65	4.85
分子功能	催化活性	464	34.63		细胞	325	24.25
	金属血红素活性	1	0.07		细胞部分	325	24.25
	分子换能器活性	10	0.75		高分子配合物	36	2.69
	核酸结合转录因子活性	16	1.19				

1)占比为各条目差异基因数量在所属生物学过程总差异基因数量中所占的比例

有 3 544 个 DEGs 至少含有一种 GO 功能注释 ($P<0.05$), 其中注释到生物过程、分子功能和细胞成分 3 个本体中的 DEGs 分别有 1 387、922 和 1 253 个。其中, 生物过程的基因富集在 18 个 GO 本体条目, 其中代谢过程、细胞过程、单一的生物过程和应激反应所富集的 DEGs 数量居于前 4 位, 所占比例都在 10% 以上; 分子功能的基因主要富集在 11 个 GO 本体条目, 其中催化活性和结合所富集的基因最多, 共占 DEGs 总数的 60% 以上; 细胞成分被分为 14 个 GO 本体条目, 其中细胞、细胞部分、细胞器和生物膜富集的基因较多, 占 DEGs 总数的 75% 以上。

2.3.2 KEGG 代谢途径分类分析 在 1 340 个仅在干旱处理下的 DEGs 中共有 239 个基因可以比对注释到 102 类 KEGG 的代谢通路中, 其中, 10 个代谢通路富集达到差异显著 ($P<0.05$)(表 4)。其中, 注释到苯丙素的生物合成代谢途径的 DEGs 最多, 为 11 个。其次, 注释到植物内源激素脱落酸 (Absciscic acid, ABA) 相关的类胡萝卜素生物合成途径的有

8 个 DEGs, 与茉莉酸类物质 (Jasmonic acid, JA) 生物合成相关的 α -亚麻酸的代谢途径的有 9 个 DEGs 以及与细胞分裂素 (Cytokinine, CTK) 生物合成相关的玉米素合成途径有 3 个 DEGs。其次, 与糖代谢相关的途径有 2 条, 分别是戊糖、葡萄糖醛酸转换 (9 个 DEGs) 和半乳糖代谢 (8 个 DEGs)。另外, 注释到不饱和脂肪酸生物合成和脂肪酸降解的都有 7 个 DEGs, 注释为氮代谢的有 3 个 DEGs。

2.3.3 转录因子分析 仅在干旱处理下的 2 个梨品种的 1 340 个 DEGs 通过 Blast 在 Nr 库中比对上 1 322 个, 其中有 37 个被注释为转录因子, 这些转录因子分布在 17 个转录因子家族中。其中注释到最多的是乙烯应答转录因子 (Ethylene responsive factor, ERF) 家族, 有 11 个 DEGs (2 个上调、9 个下调)。另外, 居于前 4 位的还有 C2H2L (2 个上调、2 个下调), NAC (2 个上调、1 个下调) 和 DOF (1 个上调、2 个下调), 其他家族, 除了 COL, MYB 分别拥有上下调基因各 1 个, WRKY 拥有 2 个下调基因

表 4 干旱处理下 1 340 个差异表达基因的 KEGG 通路分析

代谢通路	差异基因数量	<i>P</i>	通路编号
类胡萝卜素生物合成	8	0.000 467	ko00906
戊糖、葡萄糖醛酸转换	9	0.003 048	ko00040
α-亚麻酸的代谢	9	0.003 334	ko00592
半乳糖代谢	8	0.003 666	ko00052
不饱和脂肪酸的生物合成	7	0.004 746	ko01040
脂肪酸的降解	7	0.015 496	ko00071
玉米素的生物合成	3	0.020 015	ko00908
氮素代谢	5	0.022 543	ko00910
苯丙素的生物合成	11	0.024 799	ko00940
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	6	0.027 159	ko00280

外, 其余家族都只注释到 1 个差异基因, 且除了 HD 外, 都下调表达 (图 2)。

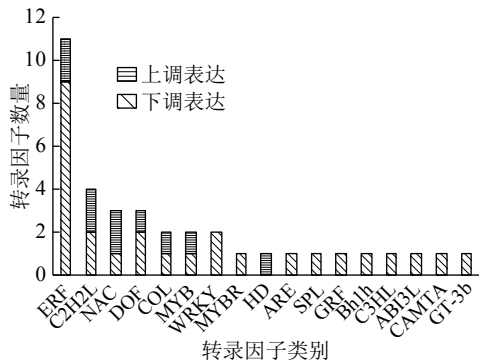


图 2 干旱处理下 1 340 个差异表达基因中转录因子分类
Fig. 2 Classification of transcription factors among 1 340 differentially expressed genes under drought stress

2.4 ABA 生物合成相关基因的分析

植物激素与植物抗旱的关系一直是科研的热点, 作为“胁迫激素”的 ABA 更是备受关注。本研究中, 把 2 个品种中干旱后特异表达的 DEGs 与类

胡萝卜素生物合成代谢途径 (ko00906) 比对发现, 与 ABA 生物合成密切相关的基因有 β-胡萝卜素羟化酶 (Carotene hydroxylase, *PtrZ*, Pbr002245.1)、玉米黄质环氧化酶 (Zeaxanthin epoxidase, *ZEP*, Pbr025145.1)、9-顺环氧类胡萝卜素双加氧化酶 (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, *NCED*, Pbr002245.1)、*ABA2*(*SDR* 类基因, 编码一个短链脱氢酶, Pbr022971.1) 及脱落酸醛氧化酶 (Indole-3-acetaldehyde oxidase, *AAO3*, Pbr029589.1、Pbr005981.1、Pbr005979.1 和 Pbr005978.1), 这些基因的表达情况见表 5。

2.5 荧光定量分析

从不同浇水处理下的 2 个梨品种比较组中分别随机选取 2 个上调基因和 4 个下调基因, 用 qRT-PCR 方法验证测序数据的有效性, 结果如图 3 所示。这些结果与转录组分析结果一致, 从另一个方面证实了 2 组数据中差异表达基因的数据有效性。

表 5 干旱处理下 ABA 生物合成相关差异表达基因的表达与注释

Table 5 Gene expression and annotation of differentially expressed genes related to ABA biosynthesis under drought stress

基因登录号	RPKM值		<i>P</i>	差异基因表达情况 (log ₂ Ratio 的绝对值)	基因注释
	黄金梨	黄冠梨			
Pbr002245.1	0.001	14.675	2.05×10 ⁻⁹²	13.84	<i>PtrZ</i>
Pbr025145.1	8.385	17.933	1.27×10 ⁻³⁶	1.10	<i>ZEP</i>
Pbr039596.1	0.684	1.974	2.65×10 ⁻⁰⁷	1.53	<i>NCED5</i>
Pbr022971.1	7.085	20.580	4.55×10 ⁻³⁰	1.54	<i>ABA2</i>
Pbr029589.1	4.532	10.632	2.33×10 ⁻⁵¹	1.23	<i>AAO3</i>
Pbr005981.1	0.562	3.272	2.53×10 ⁻¹¹	2.54	<i>AAO3</i>
Pbr005979.1	2.271	7.489	8.27×10 ⁻²⁷	1.72	<i>AAO3</i>
Pbr005978.1	2.200	7.256	3.37×10 ⁻³⁴	1.72	<i>AAO3</i>

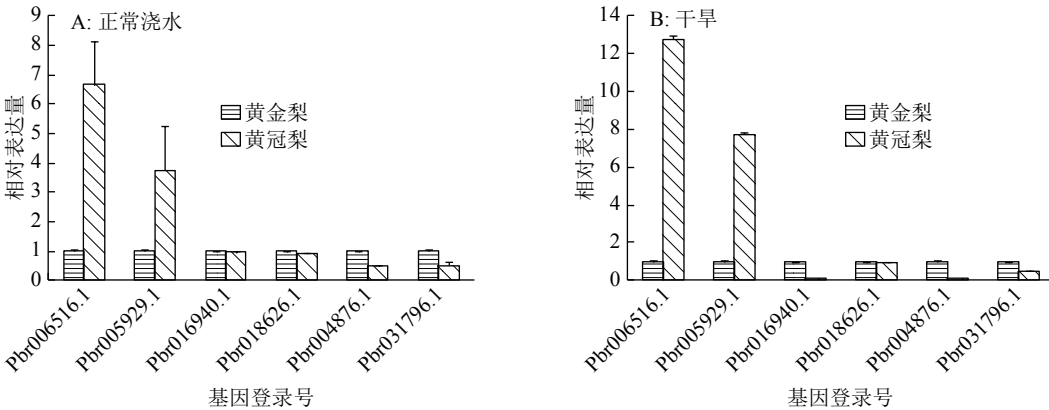


图 3 不同处理下 2 个梨品种差异表达基因 qRT-PCR 验证

Fig. 3 qRT-PCR validation of differentially expressed genes in two pear genotypes under different treatments

3 讨论与结论

本研究以正常浇水和干旱胁迫下耐旱梨品种黄冠梨和不耐旱梨品种黄金梨的叶片为试验材料,通过转录组分析找到了跟植物抗旱有关的差异表达基因,其中在富集达到差异显著的 10 个代谢通路中,与植物内源激素相关的代谢通路有 3 个,分别是类胡萝卜素生物合成途径 (8 个 DEGs)、 α -亚麻酸的代谢途径 (9 个 DEGs) 以及玉米素合成途径 (3 个 DEGs)。其中,与 ABA 生物合成相关的类胡萝卜素生物合成途径的 8 个差异基因分别被注释为 *PtrZ*、*ZEP*、*NCED* 和 *ABA2* 的各有 1 个 DEGs,注释为 *AAO3* 的有 4 个 DEGs。

植物产生的主要激素有生长素 (Auxin)、赤霉素 (Aibberellin, GA)、细胞分裂素 (Cytomin, CTK)、脱落酸 (ABA)、乙烯 (Ethylene, ETH)、水杨酸 (Salicylic acid, SA)、茉莉酸 (JA) 和油菜素内脂 (Brassinosteroid, BR) 等,其中,ABA、SA、JA 和 ETH 在介导植物对病原菌和非生物胁迫的防御反应中起着重要作用,而它们中的 ABA 在植物非生物抗逆中的研究较深入^[13]。研究表明^[14],高盐和干旱刺激能引起植物激素 ABA 水平的升高,接着 ABA 启动信号级联反应,触发诸如关闭气孔等短期反应,从而通过调节胁迫反应基因来维持水分平衡和长期生长反应。

ABA 在胁迫发生时的积累是通过 ABA 生物合成相关基因的表达而实现的。ABA 的生物合成的主要途径是 C40 途径,在这个过程中 C40 的类胡萝卜素是合成 ABA 的前体^[15]。在合成类胡萝卜素的过程中, *PtrZ* 是关键基因之一,能提高类胡萝卜素的产量^[16]。在 ABA 合成的过程中, *ZEP* 促进玉米黄质形成花药黄质并进一步生成紫黄质^[17],这一步是 ABA 的合成关键步骤之一。 *NCED* 则是 9-顺式紫

黄质或 9'-顺式新黄质裂解为 C15 化合物黄质醛的限速酶^[18],该步骤是 ABA 合成的另一个关键步骤。以上反应在质体中进行,此后,黄质醛被从质体输出到了细胞溶质内,并在 SDR/ABA2 催化作用下转变为 ABA 醛^[19],ABA 醛则在 AAO 的作用下生成 ABA^[20]。本研究中,在干旱胁迫下,ABA 合成的 8 个关键基因在干旱处理下的黄冠梨和黄金梨中差异表达,这有可能是 2 个梨品种抗旱性差异的重要原因之一,因此这些基因的表达将协同 ABA 的动态变化,是下一步梨抗旱分子机理研究的重点。

转录因子在作物抗旱中的作用已屡被报道^[21]。本研究中注释到的转录因子家族有 17 个,其中 ERF 家族基因数量最多。ERF 转录因子家族属于 AP2 转录因子超家族的亚家族之一,含有一个 AP2-ERF 功能结构域,可特异性的结合 GCC-box 来调控下游胁迫响应基因表达,近年来成为植物抗逆研究的热点^[22]。在水分胁迫研究中,拟南芥中 *AtERF71/HRE2* 基因被证明能调节渗透胁迫^[23],芝麻^[24]中的 *ERF* 基因被证明可以被干旱诱导,番茄在旱、寒胁迫或 ABA 刺激下, *TERF1* 表达显著上升,并参与渗透调节^[25]。ERF 蛋白中含有乙烯响应元件结合蛋白,会响应乙烯诱导^[26],但也有研究表明 SA^[27]、JA^[28]以及 ABA^[25]也会诱导 *ERF* 基因表达。同时,人们对大麦研究表明,转录因子 HvDRF1(AP2/ERF 类转录因子)与 HvABI5(bZIP 类转录因子) 交互,提高了下游基因 *HVA1* 的表达^[29]。由此可见,植物抗逆响应是由多基因参与、各途径彼此联系的复杂的网络调控过程,ERF 类转录因子可能处在网络的某个交叉点,协同调控下游基因的表达从而参与植物的抗逆^[30]。本研究中的 11 个 ERF 转录因子,干旱胁迫后在 2 个品种间有 2 个上调表达、9 个下调表达,它们可能会通过参与内源激素信号转导或与其他转录因子交互而响应梨的水分胁迫。

参考文献:

- [1] GIORGI F, LIONELLO P. Climate change projections for the Mediterranean region[J]. *Global Planet Change*, 2008, 63(2/3): 90-104.
- [2] WU J, WANG L F, LI L, WANG S. De novo assembly of the common bean transcriptome using short reads for the discovery of drought-responsive genes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109262.
- [3] HWANG I G, KIM H Y, WOO K S, et al. Isolation and identification of the antioxidant DDMP from heated pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai)[J]. *Prev Nutr Food Sci*, 2013, 18(1): 76-79.
- [4] ZHANG Y C, SHEN Y J, XU X L, et al. Characteristic of the water-energy-carbon fluxes of irrigated pear orchards in the North China Plain[J]. *Agr Water Manage*, 2013, 128(1): 140-148.
- [5] 山仑. 植物水分利用效率和半干旱地区农业用水[J]. *植物生理学通讯*, 1994, 30(1): 61-66.
- [6] STRUTHERS R, IVANOVA A, TITS L, et al. Thermal infrared imaging of the temporal variability in stomatal conductance for fruit trees[J]. *Intl J Appl Earth Obs Geoinf*, 2015, 39: 9-17.
- [7] ZARAFSHAR M, AKBARINIA M, ASKARI H, et al. Morphological, physiological and biochemical responses to soil water deficit in seedlings of three populations of wild pear tree (*Pyrus boissieriana*)[J]. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 2014, 18(3): 31-35.
- [8] HUSSAIN S, NIU Q F, QIAN M J, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the dehydrin gene family in Asian pear (*Pyrus pyrifolia*)[J]. *Tree Genet Genomes*, 2015, 11(5): 110.
- [9] LI K Q, XU X Y, HUANG X S. Identification of differentially expressed genes related to dehydration resistance in a highly drought-tolerant pear, *Pyrus betulaeifolia*, as through RNA-Seq[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149352.
- [10] LI T, LI X Y, TAN D M, et al. Distinct expression profiles of ripening related genes in the 'Nanguo' pear (*Pyrus ussuriensis*) fruits[J]. *Sci Hortic*, 2014, 171: 78-82.
- [11] LI R Q, YU C, LI Y R, et al. SOAP2: an improved ultra-fast tool for short read alignment[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(15): 1966-1967.
- [12] 董丽丽, 龚凌燕, 陈磊, 等. 石榴肉桂酰辅酶 A 还原酶基因的克隆与表达分析[J]. *南京农业大学学报*, 2016, 39(5): 747-753.
- [13] NAKASHIMA K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. ABA signaling in stress-response and seed development[J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(7): 959-970.
- [14] MEHROTRA R, BHALOTHIA P, BANSAL P. Absciscic acid and abiotic stress tolerance - different tiers of regulation[J]. *J Plant Physiol*, 2014, 171(7): 486-496.
- [15] ROCK C D, ZEEVAART J A. The ABA mutant of *Arabidopsis thaliana* is impaired in epoxy-carotenoid biosynthesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(17): 7496-7499.
- [16] MISAWA N, SATOMI Y, KONDO K, et al. Structure and functional analysis of a marine bacterial carotenoid biosynthesis gene cluster and astaxanthin biosynthetic pathway proposed at the gene level[J]. *J Bacteriol*, 1995, 177(22): 6575-6584.
- [17] AUDRAN C, GONNEAU M, NORTH H, et al. Localisation and expression of zeaxanthin epoxidase mRNA in *Arabidopsis* in response to drought stress and during seed development[J]. *Aust J Plant Physiol*, 2001, 28(11): 1161-1173.
- [18] QIN X, ZEEVAART J A. Overexpression of a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in *Nicotiana glauca* increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance[J]. *Plant Physiol*, 2002, 128(2): 544-551.
- [19] GONZÁLEZ-GUZMÁN M, APOSTOLOVA N, BELLÍÉS J M, et al. The short-chain alcohol dehydrogenase ABA2 catalyzes the conversion of xanthoxin to abscisic aldehyde[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(8): 1833-1846.
- [20] SEO M, AOKI H, KOIWA H, et al. Comparative studies on the *Arabidopsis* aldehyde oxidase(AAO) gene family revealed a major role of AAO3 in ABA biosynthesis in seeds[J]. *Cell Physiol*, 2004, 45(11): 1694-703.
- [21] 吴蓓, 李梦瑶, 王广龙, 等. *AgERF4* 转录因子基因的克隆与表达分析[J]. *园艺学报*, 2016, 43(11): 2193-2202.
- [22] 吴凡, 张超, 郭加, 等. 牡丹切花 *ERF* 转录因子基因的分离与表达分析[J]. *园艺学报*, 2016, 43(1): 109-120.
- [23] PARK H Y, SEOK H Y, WOO D H, et al. AtERF71/HRE2 transcription factor mediates osmotic stress response as well as hypoxia response in *Arabidopsis*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(1): 135-141.
- [24] DOSSA K, WEI X, LI D, et al. Insight into the AP2/ERF transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress[J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 16(1): 171.
- [25] ZHANG X, ZHANG Z, CHEN J, et al. Expressing TERF1 in tobacco enhances drought tolerance and abscisic acid sensitivity during seedling development[J]. *Planta*, 2005, 222(3): 494-501.
- [26] ZHAO Y, WEI T, YIN K Q, et al. *Arabidopsis* RAP2.2 plays an important role in plant resistance to *Botrytis cinerea* and ethylene responses[J]. *New Phytol*, 2012, 195(2): 450-460.
- [27] ZHANG G, CHEN M, CHEN X, et al. Phylogeny, gene structures, and expression patterns of the *ERF* gene family in soybean (*Glycine max* L.)[J]. *J Exp Bot*, 2008, 59(15): 4095-4107.
- [28] CHAKRAVARTHY S, TUORI R P, D'ASCENZO M D, et al. The tomato transcription factor *Pti4* regulates defense-related gene expression via GCC box and non-GCC box elements[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(12): 3033-3050.
- [29] XUE G P, LOVERIDGE C W. HvDRF1 is involved in abscisic acid-mediated gene regulation in barley and produces two forms of AP2 transcriptional activators, interacting preferably with a CT-rich element[J]. *Plant J*, 2004, 37(3): 326-339.
- [30] LICAUSI F, OHME-TAKAGI M, PERATA P. APETALA2/Ethylene responsive factor (AP2/ERF) transcription factors: Mediators of stress responses and developmental programs[J]. *New Phytol*, 2013, 199(3): 639-649.

【责任编辑 庄 延】