

黄芳,徐珍珍,孟珊,等. 盐胁迫下棉花 LTR-反转座子的转录激活及在耐盐相关基因发掘中的应用[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(6): 1220-1226.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.06.004

盐胁迫下棉花 LTR-反转座子的转录激活及在耐盐相关基因发掘中的应用

黄芳^{1,2}, 徐珍珍², 孟珊², 刘静², 汪保华¹, 沈新莲²

(1.南通大学生命科学学院,江苏南通 226019; 2.江苏省农业科学院经济作物研究所/农业部长江下游棉花和油菜重点实验室,江苏南京 210014)

摘要: LTR-反转座子是棉花基因组的主要组成部分,在基因组中通常呈现“静止”状态。但受到胁迫刺激时,部分反转座子的转录活性可被“激活”,可能影响邻近基因的表达。本研究在盐胁迫下通过生物信息学手段,在旱地棉转录组数据库中检测到 3 885 个转录激活的候选 LTR-反转座子;这些候选 LTR-反转座子上下游 5 kb 内共有 1 787 个邻近基因,其中 377 个邻近基因在盐胁迫下差异表达,通过对 377 个基因进行功能注释发现,326 个基因注释到 GO 数据库中,并且部分基因与棉花已报道过的耐盐抗旱基因同源。本研究结果将为棉花的耐盐分子机理解析提供一定的理论基础。

关键词: 棉花; 盐胁迫; LTR-反转座子; 转录活性; 邻近基因

中图分类号: S562 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)06-1220-07

The identification of long terminal repeat retrotransposons (LTR-RTs) with transcription activity under salt stress and its application in screening the candidate genes related to salt-tolerant in cotton

HUANG Fang^{1,2}, XU Zhen-zhen², MENG Shan², LIU Jing², WANG Bao-hua¹, SHEN Xin-lian²

(1.School of Life Science, Nantong University, Nantong 226019, China; 2.Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Cotton and Rapeseed, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China)

Abstract: Long terminal repeat retrotransposons (LTR-RTs) are the most abundant genomic components in cotton. Normally, LTR-RTs keep in a quiescent state in their host genomes. Using a variety of stresses, the transcription activities of some LTR-RTs may be greatly activated, and they probably influence the expression of their related genes, such as adjacent genes. In this study, 3 885 candidate LTR-RTs with transcription activities were detected under salt stress based on the transcriptome data of *Gossypium aridum*. In parallel, 1 787 genes with distances of less than 5 kb to these 3 885 LTR-RTs were identified, and 377 genes were differentially expressed under salt stress. 326 genes were annotated to the gene ontology

database, and some of them were homologous genes with salt-tolerant and drought-resistant genes which had been reported in cotton. This study will provide a basis for the cotton molecular mechanism of salt-tolerant.

Key words: cotton; salt stress; long terminal repeat retrotransposons (LTR-RTs); transcription activity; adjacent genes

收稿日期:2017-05-09

基金项目:江苏省科技项目(BK20150540);国家转基因生物新品种培育重大专项(2014ZX08005-004-002);江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(14)5008]

作者简介:黄芳(1989-),女,湖南常宁人,硕士,主要从事棉花分子育种研究。(Tel)0513-85012820;(E-mail)18761726702@163.com

通讯作者:沈新莲,(Tel)025-84390291;(E-mail)xlshen68@126.com。
汪保华,(Tel)0513-85012820;(E-mail)bhwang@ntu.edu.cn

随着基因组学的迅速发展和测序技术的进步,

许多作物已完成了全基因组测序工作。通过分析基因组成分发现:除功能基因以外,各种类型的转座元件及其衍生物,特别是 LTR-反转座子在基因组中占很大比例^[1]。例如,在水稻、大豆、雷蒙德氏棉、辣椒、亚洲棉和玉米基因组中,分别有约 20%、42%、45%、56%、68% 及 75% 的 LTR-反转座子^[2-8]。根据 *int* 和 *po* 的排列顺序,LTR-反转座子又分为 Ty3-*gypsy* 和 Ty1-*copia* 两大亚家族。通常条件下,由于受到甲基化、组蛋白的共价修饰以及小分子干扰 RNA (siRNA) 等因素的影响,大部分转座子以静止状态存在于基因组中,但受到生物或非生物胁迫(组织培养、病原菌入侵、盐胁迫、冷害、激素处理以及远缘杂交等)刺激时,部分反转座子可能会被转录激活^[9]。例如烟草中的 LTR-反转座子 *Tto1*,在原生质体中的表达量提高了 10 倍,并且 *Tto1* 的调控主要表现在转录水平^[10];柠檬的组织培养再生植株,在盐胁迫环境下可以检测到 Ty1-*copia*-like 类 LTR-反转座子 *CLCoy1* 的表达^[11];组织培养、稻瘟菌、2, 4-D、水杨酸及高盐处理后的水稻品种月亮谷中,均能检测到 Ty3-*gypsy* 类的 LTR-反转座子表达^[12]。

研究表明,转录激活的 LTR-反转座子可能插入基因内部或附近,影响这些基因的表达^[13]。在一粒小麦和山羊草人工合成的异源四倍体中,检测到了部分 LTR-反转座子 *Wis 2-1A*,它们产生了大量的转录本。进一步分析发现,LTR-反转座子 *Wis 2-1A* 的 3'端 LTR 的转录读出使邻近基因正义或者反义转录,激活或者干扰邻近基因的表达^[14];白皮葡萄中,由于花青苷的合成调控基因 *VvmybA1* 的启动子区插入了 Ty3-*gypsy* 类 LTR-反转座子,影响了该基因的表达,影响了花青苷合成,从而形成了白皮葡萄^[15];玉米蜡质基因 *Waxy* 中,由于 LTR-反转座子 *Stonor*、*G* 及 *B5* 的插入使其内含子的长度增加了约 40~60 倍,从而使其表达量降低了约 90%^[16]。

以往的研究结果表明,棉花转座子的研究多集中在鉴定其对基因组进化影响等方面^[6-8, 17-18],非生物胁迫下的转录激活鲜有报道。棉花是世界上重要的经济作物,是纤维和油料的重要来源,但低温、高温、盐渍以及干旱等非生物胁迫严重影响了棉花的产量^[19-21]。现有的主栽棉花品种虽然产量高,但种质资源遗传基础较窄,耐盐水平较低,遇到恶劣的气候,棉花产量受到很大的影响^[22]。前期研究中我们发现,

棉属二倍体 D 组野生种旱地棉 (*Gossypium aridum*) 具有较好耐盐性,是耐盐研究的理想材料。另外,二倍体棉花具有相同的染色体数目 ($n=13$),且基因组在不同二倍体种间具有很强的共线性^[6]。因此,借助已公布的 D 组雷蒙德氏棉 (*Gossypium raimondii*) 的基因组图谱^[6-7] 及 D 组棉花盐胁迫下的转录组数据可以开展盐胁迫下基因层面的研究。

前期研究中,我们完成了雷蒙德氏棉基因组转座子数据库的构建,共鉴定到 13 297 个 LTR-反转座子^[23];另一方面,我们通过高通量测序技术,已获得了二倍体 D 组野生种旱地棉在 200 mmol/L NaCl 处理 0 h、3 h、12 h、72 h 及 144 h 的转录组数据^[24]。本研究将在盐胁迫下二倍体 D 组野生种转录组数据库中检测转录激活的 LTR-反转座子及差异表达的邻近基因,并对差异表达的邻近基因进行功能注释。以为棉花耐盐分子机理的解析提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

雷蒙德氏棉基因组中的 13 297 条 LTR-反转座子来源于 <http://www.grtedb.org> 网站;雷蒙德氏棉基因的 CDS 序列 1 份来自 Phytozome 网站 (<http://www.phytozome.net/>), 1 份来自中国农业科学院棉花研究所 (<http://cgp.genomics.org.cn/page/species/index.jsp>);旱地棉转录数据来自本实验室。

1.2 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子的鉴定

利用 Blastn 程序,搜索棉花 13 297 个 LTR-反转座子与旱地棉盐胁迫下转录组数据的匹配,鉴定盐胁迫下转录激活的候选 LTR-反转座子,参数设定标准: $E \leq 10^{-10}$,匹配长度 ≥ 100 bp,其他参数为默认设置值。

1.3 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子邻近基因的鉴定、差异表达分析及功能注释

盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子邻近基因的鉴定和差异表达分析:采用 Blastn 结合 Perl 脚本等,对盐胁迫下转录激活的候选 LTR-反转座子在染色体上的位置进行定位,提取上游和下游 5 kb 以内的邻近基因,利用 Blastn 程序搜索邻近基因与旱地棉盐胁迫下转录组数据的匹

配,鉴定盐胁迫下差异表达的候选基因,参数设定标准为 $E \leq 10^{-10}$,匹配长度 ≥ 100 bp,其他参数为默认设置值。

盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子差异表达邻近基因的功能注释:采用 CROSS_MATCH 程序结合 Perl 脚本等,搜索差异表达的邻近基因与拟南芥 CDS 数据库(The *Arabidopsis* Information resource, www.arabidopsis.org) 的匹配,鉴定每条差异表达的邻近基因在该数据库中匹配最好的拟南芥基因的 ID 号,利用拟南芥基因匹配的 ID 号,在 DAVID 网站(DAVID Bioinformatics Resources 6.7)中搜索其参与的 GO term 号,最后将每个基因的 GO term 利用 BGI WEGO(<http://wego.genomics.org.cn/cgi-bin/wego/index.pl>) 在线数据库进行展示。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子的鉴定

利用 Blastn 程序在旱地棉盐胁迫下 3 h、12 h、72 h 和 144 h 的转录组数据中,共搜索到 3 885 个转录激活的候选 LTR-反转座子。其中,223 个属于 Ty3-gypsy 亚家族,3 662 个属于 Ty1-copia 亚家族。通过分析不同时间转录激活的候选 LTR-反转座子发现,2 638 个 LTR-反转座子在 3 h 和 12 h 都表达,2 620 个 LTR-反转座子在 3 h 和 72 h 都表达,2 628 个 LTR-反转座子在 12 h 和 72 h 都表达,2 686 个 LTR-反转座子在 72 h 和 144 h 都表达。进一步分析发现,2 597 个 LTR-反转座子在 3 h、12 h、72 h 和 144 h 都表达(图 1)。

2.2 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子邻近基因的鉴定

通过分析上述盐胁迫下 3 885 个转录激活的候选 LTR-反转座子上下游邻近基因发现,共有 1 787 个基因与 3 885 个 LTR-反转座子之间的距离小于 5 kb。进一步分析发现 3 885 个 LTR-反转座子的 5'上游有 869 个基因,3'下游有 918 个基因(表 1)。5'上游的 869 个基因中,110 个基因与 3 885 个 LTR-反转座子的距离在 0~1 000 bp,149 个基因在 1 001~2 000 bp,186 个基因在 2 001~3 000 bp,199 个基因在 3 001~4 000 bp,225 个基因在 4 001~5 000 bp;3'下游的 918 个基因中,123 个基因与 3 885 个 LTR-

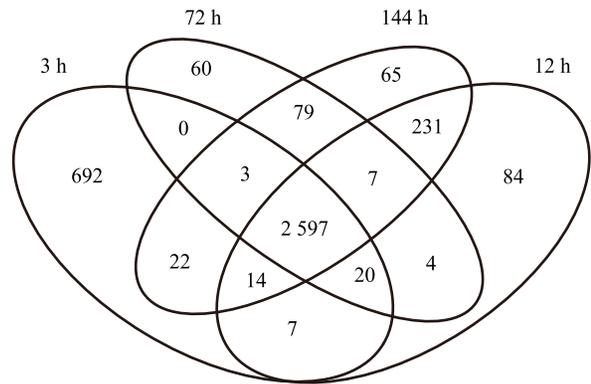


图 1 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子

Fig.1 The long terminal repeat retrotransposons (LTR-RTs) with transcription activity under salt stress in wild diploid species of cotton

反转座子的距离在 0~1 000 bp,154 个基因在 1 001~2 000 bp,205 个基因在 2 001~3 000 bp,209 个基因在 3 001~4 000 bp,227 个基因在 4 001~5 000 bp(表 1)。

表 1 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子的邻近基因

Table 1 The adjacent genes of the long terminal repeat retrotransposons (LTR-RTs) with transcription activity under salt stress in wild diploid species of cotton

距离 (bp)	邻近基因		总数
	5'上游	3'下游	
0~1 000	110	123	233
1 001~2 000	149	154	303
2 001~3 000	186	205	391
3 001~4 000	199	209	408
4 001~5 000	225	227	452
合计	869	918	1 787

2.3 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子邻近基因的差异表达分析

将上述鉴定到的 1 787 个邻近基因,利用 Blastn 程序在盐胁迫 3 h、12 h、72 h 和 144 h 的旱地棉转录组数据中进行搜索,共检测到 377 个盐胁迫下差异表达的候选基因。其中,118 个基因在 3 h 和 12 h 都表达,80 个基因在 3 h 和 72 h 都表达,62 个基因在 12 h 和 72 h 都表达,113 个基因在 72 h 和 144 h 都表达。进一步分析发现,46 个基因在 3 h、12 h、72 h 和 144 h 都表达(图 2)。

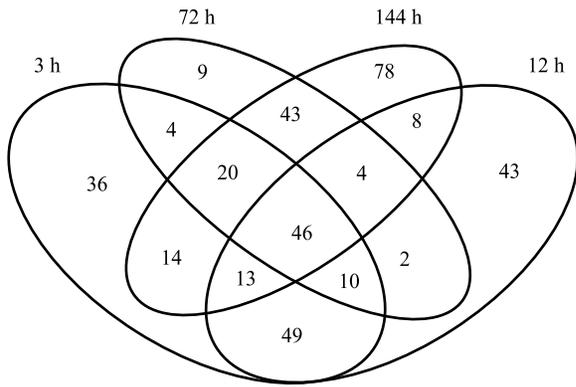
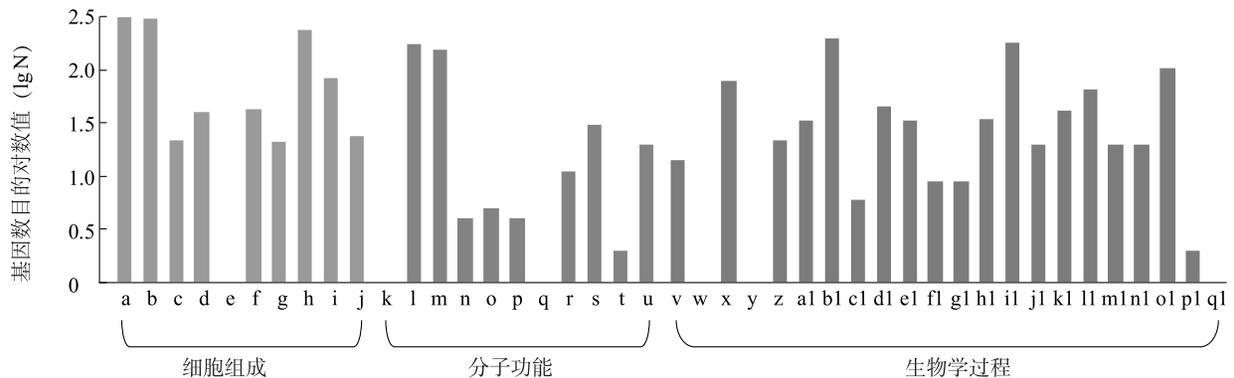


图2 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子差异表达的邻近基因

Fig.2 The differentially expressed adjacent genes of LTR-RTs with transcription activity under salt stress in wild diploid species of cotton



a:细胞;b:细胞组分;c:信封;d:胞外区;e:胞外区部分;f:大分子复合物;g:膜蛋白;h:细胞器;i:细胞器部分;j:共质体;k:抗氧化剂;l:结合;m:催化活性;n:电子载体;o:酶调节活性;p:分子转导活性;q:营养库活性;r:结构分子活性;s:转录调节活性;t:转录调节因子活性;u:转运活性;v:解剖结构的形成;w:生物粘附;x:生物调节;y:细胞杀伤;z:细胞成分的生物合成;a1:细胞组成组织;b1:细胞过程;c1:死亡;d1:发展过程;e1:建设定位;f1:生长;g1:免疫系统的过程;h1:定位;i1:代谢过程;j1:多有机体过程;k1:多细胞生物过程;l1:色素沉着;m1:繁殖;n1:生殖过程;o1:刺激反应;p1:节律过程;q1:病毒的复制。

图3 LTR-反转座子差异表达的邻近基因的 GO 注释图

Fig.3 Gene ontology (GO) functional classification analysis of the differentially expressed adjacent gene of LTR-RTs

随着分子生物学的发展,棉花耐盐抗旱相关的基因相继被挖掘。其中,本研究中鉴定到的 377 个基因中部分基因与已经报道过的基因同源。进一步分析发现,这些基因主要有金属硫蛋白基因、转录因子类、受体激酶基因以及环化脱水酶基因等(表 2)。

3 讨论

棉花作为世界上重要的经济作物,是纤维产出及油料的重要来源,但低温、高温、盐渍和干旱等非生物

2.4 盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的 LTR-反转座子差异表达邻近基因的功能注释

通过对 377 个盐胁迫下差异表达的候选基因进行功能注释发现,共有 326 个基因注释到了 GO 数据库中,分别分布在细胞组分(Cellular component)、分子功能(Molecular function)和生物学过程(Biological process)(图 3)。进一步分析发现,326 个基因注释到细胞组分 10 个类别,分子功能 11 个类别,生物学过程 22 个类别。部分基因被注释到 2 个及 2 个以上的类别中,因此,所有基因的总数目大于 326。注释到细胞组分的 10 个类别的基因中,注释到细胞部分(Cell part)和细胞(Cell)的类别最多;注释到分子功能 11 个类别的基因中,注释到催化活性(Catalytic activities)和结合类(Binding)的类别最多;注释到生物学过程 22 个类别的基因中,注释到代谢过程(Metabolic process)和细胞过程(Cellular process)的类别最多(图 3)。

胁迫往往严重影响着棉花的产量^[19-21]。本研究通过生物信息学方法鉴定了盐胁迫下二倍体 D 组棉花转录激活的候选 LTR-反转座子以及差异表达的邻近基因,并通过在线数据库对差异表达的邻近基因进行了功能注释,结果发现:在盐胁迫下存在部分 LTR-反转座子可被转录激活的现象,在不同的处理时间下,具有不同的响应。并且,转录激活的 LTR-反转座子的部分邻近基因在盐胁迫下差异表达。这在一定程度上,为棉花耐盐基因的挖掘提供了一个新思路。

表 2 已报道棉花中与逆境相关的主要基因

Table 2 Genes associated with stress in cotton

棉花中同源基因	注释	已报道过的基因	功能	参考文献
<i>Gorai. 002G070100</i>	金属硫蛋白基因	<i>GhMT3a</i>	在烟草中提高盐、冷及干旱抗性	[25]
<i>Gorai. 001G196800</i>	CCCH 锌指类蛋白基因	<i>GhZFP1</i>	在烟草中提高耐盐胁迫能力	[26]
<i>Gorai. 003G099700</i>	DREB-binding 转录因子	<i>GhDREB1</i>	拟南芥中提高耐冷、盐及渗透胁迫能力	[27]
<i>Gorai. 005G033200</i> 、 <i>Gorai. 006G062200</i> 、 <i>Gorai. 006G081800</i> 、 <i>Gorai. 013G154300</i> 、 <i>Gorai. 001G208700</i>	环化脱水酶基因	<i>GhCyp1</i>	在烟草中提高耐盐胁迫能力	[28]
<i>Gorai. 006G081600</i>	CBL-结合蛋白激酶基因	<i>GhCIPK6</i>	在拟南芥中提高抗旱、耐盐能力	[29]
<i>Gorai. 006G083900</i> 、 <i>Gorai. 006G084000</i> 、 <i>Gorai. 001G263700</i>	受体激酶基因	<i>GbRLK</i>	在拟南芥中提高抗旱、耐盐能力	[30]
<i>Gorai. 008G200800</i> 、 <i>Gorai. 002G181600</i> 、 <i>Gorai. 008G041400</i>	WRKY 转录因子	<i>GhWRKY39-1</i> 、 <i>GhWRKY17</i> 、 <i>GhWRKY68</i>	烟草中提高耐盐胁迫能力;转基因烟草中提高抗旱胁迫能力。	[31-33]
<i>Gorai. 006G081600</i>	蔗糖相关蛋白激酶 2 基因	<i>GhSnRK2</i>	拟南芥中提高抗旱、耐低温胁迫能力	[34]
<i>Gorai. 003G099700</i>	DREB-binding 转录因子	<i>GhDREB</i>	在小麦中提高抗旱、耐盐、耐冷胁迫能力	[35]
<i>Gorai. 001G000600</i> 、 <i>Gorai. 006G079800</i> 、 <i>Gorai. 008G102300</i> 、 <i>Gorai. 004G120700</i> 、 <i>Gorai. 004G1207000</i> 、 <i>Gorai. 004G1207001</i> 、 <i>Gorai. 004G1207002</i> 、 <i>Gorai. 004G1207003</i> 、 <i>Gorai. 004G1207004</i> 、 <i>Gorai. 006G047300</i>	bZIP 类转录因子	<i>AtABI5</i>	提高棉花抗旱性	[36]
<i>Gorai. 002G073700</i> 、 <i>Gorai. 010G171100</i>	NAC 类转录因子	<i>SNAC1</i>	受低温、干旱、盐和 ABA 诱导;提高抗旱、耐盐性	[37-38]
<i>Gorai. 001G196800</i>	锌指类蛋白基因	<i>GhSAP1</i> 、 <i>GhBBX1</i> 、 <i>GhRCHY1</i> 、 <i>GhZFP2</i> 、 <i>GhZFP3</i>	烟草中提高抗旱、耐盐性	[39]

通常条件下,大部分反转座子以静止状态存在于植物基因组中,但受到胁迫刺激时,部分反转座子可能被转录激活,而转录激活的 LTR-反转座子可能插入基因内部或者附近,影响这些基因的表达^[9,13]。基因的启动子区包括核心启动子以及调控区,总长度 2 kb 左右^[40]。研究表明有些转座子尽管没有插入到基因编码区,但同样也引起了性状的变化^[13]。因此,本研究对盐胁迫下转录激活的候选活性 LTR-反转座子上下游 5 kb 的基因进行了鉴定,共鉴定到 1 787 个邻近基因,其中 377 个邻近基因在盐胁迫下差异表达。盐胁迫下转录激活的候选 LTR-反转座子在转座或者转录过程中可能会影响邻近基因的表达甚至影响其生物学功能,并且 LTR-反转座子与邻近基因的距离越小,影响邻近基因的

可能性就越大^[41]。本研究从全基因组水平初步鉴定了盐胁迫下转录激活的 LTR-反转座子差异表达的邻近基因,为深入研究造成这种现象的机理奠定了一定的基础。

通过对 377 个差异表达的邻近基因进行功能注释发现,326 个基因注释到 GO 数据库中,并且这些基因广泛分布在细胞组分、分子功能以及生物学过程类别中。另一反面,本研究中鉴定到的差异表达的 377 个基因中的部分基因与已经报道过的棉花耐盐抗旱相关基因同源,并且这些基因具有不同的生物学功能。一些转录因子类基因(例如:WRKY 转录因子)在植物盐胁迫中发挥重要作用^[31-32];激酶类基因如 *GhCIPK6*、*GhSnRK2* 及 *GbRLK* 可以显著提高拟南芥的耐盐能力^[29-30,34]。以后的研究中,将通过分

子技术进一步验证棉花中这些同源基因的功能。

参考文献:

- [1] ZHAO M X, MA J X. Co-evolution of plant LTR-retrotransposons and their host genomes [J]. *Protein & Cell*, 2013, 4(7):493-501.
- [2] MA J X, DEVOS K M, BENNETZEN J L. Analyses of LTR-retrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice [J]. *Genome Research*, 2004, 14(5):860-869.
- [3] PATERSON A H, BOWERS J E, BRUGGMANN R, et al. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses [J]. *Nature*, 2009, 457(7229):551-556.
- [4] TIAN Z X, RIZZON C, DU J C, et al. Do genetic recombination and gene density shape the pattern of DNA elimination in rice long terminal repeat retrotransposons? [J]. *Genome Research*, 2009, 19(12):2221-2230.
- [5] DU J C, GRANT D, TIAN Z X, et al. SoyTEdb: a comprehensive database of transposable elements in the soybean genome [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1):113.
- [6] WANG K B, WANG Z W, LI F G, et al. The draft genome of a diploid cotton *Gossypium raimondii* [J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(10):1098-1103.
- [7] PATERSON A H, WENDEL J F, GUNDLACH H, et al. Repeated polyploidization of *Gossypium* genomes and the evolution of spinnable cotton fibres [J]. *Nature*, 2012, 492(7429):423.
- [8] LI F G, FAN G Y, WANG K B, et al. Genome sequence of the cultivated cotton *Gossypium arboreum* [J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(6):567-572.
- [9] SUN H, LUHMANN H J, KILB W. DNA methylation in plants: relationship to small RNAs and histone modifications, and functions in transposon inactivation [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2012, 53(5):766-784.
- [10] GRANDBASTIEN M A. Activation of plant retrotransposons under stress conditions [J]. *Trends in Plant Science*, 1998, 3(5):181.
- [11] FELICE B D, WILSON R R, ARGENZIANO C, et al. A transcriptionally active *copia*-like retroelement in *Citrus Limon* [J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2009, 14(2):289-304.
- [12] 徐 玲, 杨 静, 刘 林, 等. 水稻 *gypsy* 类逆转座子对不同胁迫条件的响应 [J]. *湖南农业大学学报*, 2012, 38(6):591-596.
- [13] TSUGANE K, MAEKAWA M, TAKAGI K, et al. An active DNA transposon *nDart* causing leaf variegation and mutable dwarfism and its related elements in rice [J]. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2006, 45(1):46-57.
- [14] KASHKUSH K, KHASDAN V. Large-scale survey of cytosine methylation of retrotransposons and the impact of readout transcription from long terminal repeats on expression of adjacent rice genes [J]. *Genetics*, 2007, 177(4):1975-1985.
- [15] KOBAYASHI S, GOTO-YAMAMOTO N, HIROCHIKA H. Retrotransposon - induced mutations in grape skin color [J]. *Science*, 2004, 304(5673):982.
- [16] VARAGONA M J, PURUGGANAN M, WESSLER S R. Alternative splicing induced by insertion of retrotransposons into the maize waxy gene [J]. *Plant Cell*, 1992, 4(7):811-820.
- [17] JENNIFER S H, HYERAN K, JOHN D N, et al. Differential lineage-specific amplification of transposable elements is responsible for genome size variation in *Gossypium* [J]. *Genome Research*, 2006, 16(10):1252-1261.
- [18] LUO S, MACH J, ABRAMSON B, et al. The cotton centromere contains a Ty3-*gypsy*-like LTR retroelement [J]. *Plos One*, 2012, 7(4):e35261.
- [19] 杨长琴, 刘瑞显, 张国伟, 等. 花铃期干旱对棉纤维素累积及纤维比强度的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2015, 31(6):1218-1223.
- [20] MARTINEZ-CARRASCO R, SANCHEZ-RODRIGUEZ J, PEREZ P. Changes in chlorophyll fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* forestry [J]. *Photosynthetica*, 2002, 40(3):363-368.
- [21] 韩 勇, 衡 丽, 李 华, 等. 种植方式对江苏滨海盐碱地棉花产量和生理活性的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(11):111-113.
- [22] 叶武威, 刘金定. 棉花种质资源耐盐性鉴定技术与应用 [J]. *中国棉花*, 1998, 25(9):37-38.
- [23] XU Z Z, LIU J, NI W C, et al. GrTEdb: the first web-based database of transposable elements in cotton (*Gossypium raimondii*) [J]. *Database*, 2017(1):1-7.
- [24] XU P, LIU Z W, FAN X Q, et al. De novo transcript sequencing and comparative analysis of differentially expressed genes in *Gossypium aridum* under salt stress [J]. *Gene*, 2013, 525(1):26-34.
- [25] XUE T T, LI X Z, ZHU W, et al. Cotton metallothionein *Gh-MT3a*, a reactive oxygen species scavenger, increased tolerance against abiotic stress in transgenic tobacco and yeast [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(1):339-349.
- [26] GUO Y H, YU Y P, WANG D, et al. *GhZFP1*, a novel CCCH-type zinc finger protein from cotton, enhances salt stress tolerance and fungal disease resistance in transgenic tobacco by interacting with GZIRD21A and GZIPR5 [J]. *New Phytologist*, 2009, 183(1):62-75.
- [27] HUANG J G, YANG M, LIU P, et al. *GhDREB1* enhances abiotic stress tolerance, delays GA-mediated development and represses cytokinin signalling in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell and Environment*, 2009, 32(8):1132-1145.
- [28] ZHU C F, WANG Y X, LI Y B, et al. Overexpression of a cotton cyclophilin gene (*GhCyp1*) in transgenic tobacco plants confers dual tolerance to salt stress and *Pseudomonas syringae* pv. tabaci infection [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011, 49(11):1264-1271.
- [29] HE L R, YANG X Y, WANG L C, et al. Molecular cloning and functional characterization of a novel cotton CBL-interacting protein

- kinase gene (*GhCIPK6*) reveals its involvement in multiple abiotic stress tolerance in transgenic plants [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 435(2): 209-215.
- [30] ZHAO J, GAO Y L, ZHANG Z Y, et al. A receptor-like kinase gene (*GbRLK*) from *Gossypium barbadense* enhances salinity and drought-stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 110.
- [31] SHI W N, HAO L L, LI J, et al. The *Gossypium hirsutum* *WRKY* gene *GhWRKY39-1* promotes pathogen infection defense responses and mediates salt stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. *Plant Cell Reports*, 2014, 33(3): 483-498.
- [32] YAN H R, JIA H H, CHEN X B, et al. The cotton *WRKY* transcription factor *GhWRKY17* functions in drought and salt stress in transgenic *Nicotiana benthamiana* through ABA signaling and the modulation of reactive oxygen species production [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2014, 55(12): 2060-2076.
- [33] JIA H H, WANG C, WANG F, et al. *GhWRKY68* reduces resistance to salt and drought in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120646.
- [34] BELLO B, ZHANG X Y, LIU C L, et al. Cloning of *Gossypium hirsutum* sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2 gene (*GhSnRK2*) and its overexpression in transgenic *Arabidopsis* escalates drought and low temperature tolerance [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112269.
- [35] GAO S Q, CHEN M, XIA L Q, et al. A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE-binding transcription factor gene, *GhDREB*, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat [J]. *Plant Cell Reports*, 2009, 28(2): 301-311.
- [36] MITTAL A, GAMPALA S S, RITCHIE G L, et al. Related to ABA-Insensitive3 (*ABI3*)/*Viviparous1* and *AtABI5* transcription factor coexpression in cotton enhances drought stress adaptation [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2014, 12(5): 578-589.
- [37] MENG C M, CAI C P, ZHANG T Z, et al. Characterization of six novel NAC genes and their responses to abiotic stresses in *Gossypium hirsutum* L. [J]. *Plant Science*, 2009, 176(3): 352-359.
- [38] LIU G Z, LI X L, JIN S X, et al. Overexpression of rice NAC gene *SNAC1* improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86895.
- [39] 五个棉花逆境相关锌指蛋白基因的功能初步分析[D].南京:南京农业大学, 2012.
- [40] 赵美霞, 张彪, 刘胜毅, 等. 白菜和甘蓝基因组转座子表达及其对基因调控的潜在影响[J]. *遗传*, 2013, 35(8): 1014-1022.
- [41] ZABALA G, VODKIN L. A putative autonomous 20.5 kb CACTA transposon subfamily in an F3' H allele identifies a new CACTA transposon subfamily *Glycine max* [J]. *BMC Plant Biology*, 2008, 8(1): 124.

(责任编辑:陈海霞)