

武 一, 孙雪梅, 杨世鹏, 等. 基于转录组的茎用莴苣抽薹相关差异表达基因分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(4): 711-720.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.04.015

## 基于转录组的茎用莴苣抽薹相关差异表达基因分析

武 一, 孙雪梅, 杨世鹏, 谭 龙, 王丽慧

(青海大学农林科学院, 青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 青海 西宁 810016)

**摘要:** 为探究影响茎用莴苣抽薹的相关关键基因, 采用高通量转录组测序的方法, 研究茎用莴苣产品器官收获期和抽薹期的差异表达基因。结果表明, 茎用莴苣种质资源 1 号在产品器官收获期和抽薹期的差异表达基因数量为 6 754 个, 茎用莴苣种质资源 3 号在产品器官收获期和抽薹期的差异表达基因数量为 5 444 个。基因本体 (GO) 功能富集分析结果表明, 差异表达基因主要富集在结合、催化活性、细胞过程、代谢过程、细胞解剖实体等 GO 条目中。京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析结果表明, 茎用莴苣种质资源 1 号和茎用莴苣种质资源 3 号分别有 133 条和 129 条 KEGG 代谢通路, 其中有 128 条代谢通路在 2 份种质资源中均被注释; 差异表达基因富集较多的 KEGG 代谢通路有次生代谢物的生物合成、植物激素信号转导、植物-病原体的相互作用等。转录因子分析结果表明, 茎用莴苣产品器官收获期和抽薹期的差异表达基因大多数属于 AP2/ERF、bHLH、bZIP、C2H2、MYB、NAC、WRKY 等转录因子家族。对茎用莴苣产品器官收获期和抽薹期差异表达基因的研究结果进行综合分析, 发现在 AP2/ERF、WRKY、bHLH 等转录因子家族以及次生代谢物的生物合成、植物激素信号转导等通路中存在较多的差异表达基因, 推测这些转录因子家族和代谢通路可能参与茎用莴苣抽薹的调控网络。本研究结果为解析茎用莴苣抽薹相关基因及其分子机制奠定了基础。

**关键词:** 茎用莴苣; 抽薹; 转录组; 差异表达基因

**中图分类号:** S636.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)04-0711-10

## Analysis of differentially expressed genes related to bolting in stem lettuce based on transcriptome data

WU Yi, SUN Xue-mei, YANG Shi-peng, TAN Long, WANG Li-hui

(Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai University, Qinghai Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Xining 810016, China)

**Abstract:** To explore the key genes influencing bolting in stem lettuce, high-throughput transcriptome sequencing was employed to study the differentially expressed genes during the organ harvesting and bolting periods of stem lettuce. The results revealed that there were 6 754 differentially expressed genes in stem lettuce germplasm resource No.1 during the organ harvesting period and bolting period, while stem lettuce germplasm resource No.3 had 5 444 differentially expressed genes during these periods. Gene ontology (GO) functional enrichment analysis indicated that differentially expressed genes were mainly enriched in GO entries such as binding, catalytic activity, cellular processes, metabolic processes, and cellular anatomical entities.

Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis showed that stem lettuce germplasm resource No.1 and stem lettuce germplasm resource No.3 had 133 and 129 KEGG metabolic pathways respectively, with 128 metabolic pathways annotated in both germplasm resources. KEGG metabolic pathways with a relatively higher enrichment of differential-

收稿日期: 2023-03-21

基金项目: 青海省科学技术厅基础研究项目 (2022-ZJ-745); 国家重点研发项目 (2022YFD1602400)

作者简介: 武 一 (1998-), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜遗传育种研究。 (E-mail) wuyi77abc@163.com

通讯作者: 王丽慧, (E-mail) qhwlhwlh@126.com

ly expressed genes included biosynthesis of secondary metabolites, plant hormone signal transduction, and plant-pathogen interactions. Transcription factor analysis revealed that most of the differentially expressed genes during the organ harvesting and bolting periods of stem lettuce belonged to transcription factor families such as AP2/ERF, bHLH, bZIP, C2H2, MYB, NAC and WRKY. Comprehensive analysis results indicated that there were numerous differentially expressed genes in transcription factor families such as AP2/ERF, WRKY, bHLH, as well as pathways involving biosynthesis of secondary metabolites and plant hormone signal transduction. It was speculated that these transcription factor families and metabolic pathways could participate in the regulatory network of bolting in stem lettuce. These results can provide scientific basis for understanding the genes related to bolting in stem lettuce and their molecular mechanisms.

**Key words:** stem lettuce; bolting; transcriptome; differentially expressed genes

茎用莴苣 (*Lactuca sativa* L.) 属于菊科莴苣属, 又称莴笋、莴菜等, 是一年或二年生草本植物<sup>[1]</sup>, 在中国许多地区均有种植。茎用莴苣中含有丰富的矿物质, 其中的铁元素 (茎用莴苣肉质茎中铁元素的含量为 20.00 mg/kg; 白菜中铁元素的含量为 5.39 mg/kg; 萝卜中铁元素的含量为 5.00 mg/kg) 可以被人体吸收利用, 防治缺铁性贫血; 钾元素 (茎用莴苣肉质茎中钾元素的含量为 3 186.00 mg/kg; 白菜中钾元素的含量为 1 593.00 mg/kg; 萝卜中钾元素的含量为 1 730.00 mg/kg) 可用于降血压和预防心律紊乱; 胡萝卜素 (茎用莴苣肉质茎中胡萝卜素的含量为 0.30 mg/kg; 白菜中胡萝卜素的含量为 0.60 mg/kg; 萝卜中胡萝卜素的含量为 0.20 g/kg) 可用于防癌和抗衰老<sup>[2-5]</sup>。Hou 等<sup>[6]</sup>对莴苣的化学成分进行研究, 发现其主要包含三萜、黄酮和倍半萜内酯等。戴国辉等<sup>[7]</sup>研究发现, 茎用莴苣的肉质茎和叶片中均含有山莴苣苦素、莴苣黄质等多种化合物。

茎用莴苣作为一种营养丰富、口感较好的蔬菜, 深受各类人群的喜爱, 市场需求量也越来越大。然而, 由于受到外界生长环境和品种自身特点的影响, 茎用莴苣在种植过程中容易出现早抽薹现象, 导致储存在肉质茎中的养分迅速转移到花薹中<sup>[8]</sup>, 使肉质茎无法正常生长发育, 从而影响产量和质量, 降低经济效益<sup>[9]</sup>。茎用莴苣的食用部位主要是肉质茎, 预防茎用莴苣早抽薹可以确保其产量和质量。

目前, 与植物抽薹开花有关的研究大都集中在十字花科作物 (如萝卜<sup>[10]</sup>、白菜<sup>[11]</sup>、拟南芥<sup>[12]</sup>、甘蓝型油菜<sup>[13]</sup>) 上, 对莴苣<sup>[14]</sup>抽薹开花的研究较少。*LsFT* 是最早从叶用莴苣中鉴定出来的与开花相关的基因, 在叶用莴苣中过表达 *LsFT* 基因则使莴苣开花时间提前, 沉默 *LsFT* 基因则使莴苣开花时间延迟<sup>[15]</sup>。Ning 等<sup>[16]</sup>对莴苣不同的花发育阶段进行研究, 发现了 1 个参与开花的基因 *LsMADS55*。Han

等<sup>[17]</sup>对不同温度下生长的叶用莴苣进行转录组测序分析, 挖掘出与抽薹有关的基因 *LsSOC1* 和 *LsFT*, 敲除这 2 个基因均会延迟抽薹。Chen 等<sup>[15]</sup>研究发现, 赤霉素参与叶用莴苣抽薹的调控, 在热诱导叶用莴苣抽薹期间, 叶片中的赤霉 3 (GA3)、赤霉素 4 (GA4) 水平以及茎中的生长素水平均显著提高<sup>[18]</sup>。DELLA 蛋白负调节赤霉素信号通路, Wang 等<sup>[19]</sup>在莴苣中鉴定了 4 个 DELLA 蛋白编码基因, 包括 *LsRGL1*, 在莴苣中敲除该基因可促进抽薹, 而该基因过表达可抑制抽薹以及赤霉素和生长素的生物合成。在某些植物中, 生长素也可以诱导开花, 生长素响应基因受生长素受体基因 (*TIR1*)、生长素响应因子 (ARF) 家族以及 AUX/IAA 转录因子家族的影响<sup>[20]</sup>。有研究发现, 蛋白质丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (*STPK*) 以及热激蛋白基因 *Hsp70-2711* 和 *Hsp70-3711* 可能参与叶用莴苣的抽薹<sup>[21-23]</sup>。本研究拟以茎用莴苣种质资源 1 号、3 号为试验材料, 于产品器官收获期和抽薹期分别进行取样, 利用 Illumina Hiseq 进行转录组测序分析, 探究影响茎用莴苣抽薹的关键基因, 以期培育耐抽薹的茎用莴苣品种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试样品为青海大学农林科学院园艺研究所收集的茎用莴苣种质资源 1 号 (绿色茎用莴苣) 和 3 号 (紫色茎用莴苣) (表 1), 种植于青海大学园艺创新基地, 常规栽培管理, 在不同生育期 (产品器官收获期、抽薹期) 选取长势一致的植株, 取叶片和肉质茎混匀, 各 3 个生物学重复, 样品保存于 -80 ℃ 冰箱中, 用于总 RNA 提取。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 总 RNA 文库的构建和测序 使用 TRIzol

法<sup>[24]</sup>提取 RNA,再参考胡小蓉等<sup>[24]</sup>的检测方法对样品 RNA 的质量进行检测,保证后续使用的 RNA 可以满足文库构建和测序的需要。RNA 质量达标后,mRNA 先使用胸腺嘧啶组成的核苷酸链[Oligo(dT)]磁珠富集,再随机打断。以随机打断的 mRNA 和随机寡核苷酸为材料,组成第 1 条、第 2 条

cDNA,获得 cDNA 文库。文库构建完成后,先使用 Qubit2.0 荧光定量仪进行初步定量,再使用 Agilent 2100 生物分析仪对文库的插入片段大小进行检测,插入片段大小符合预期后,使用 Illumina HiSeq 平台进行测序。转录文库构建和测序工作委托武汉迈特维尔生物科技有限公司完成。

表 1 茎用莴苣样品分组

Table 1 Grouping of stem lettuce samples

组别	取样时期	试验材料	样品编号	取样部位
Z1	产品器官收获期	茎用莴苣种质资源 1 号	Z1-1	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 1 号	Z1-2	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 1 号	Z1-3	叶片、肉质茎
Z2	产品器官收获期	茎用莴苣种质资源 3 号	Z2-1	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 3 号	Z2-2	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 3 号	Z2-3	叶片、肉质茎
Z3	抽薹期	茎用莴苣种质资源 1 号	Z3-1	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 1 号	Z3-2	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 1 号	Z3-3	叶片、肉质茎
Z4	抽薹期	茎用莴苣种质资源 3 号	Z4-1	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 3 号	Z4-2	叶片、肉质茎
		茎用莴苣种质资源 3 号	Z4-3	叶片、肉质茎

1.2.2 测序数据分析 对 Illumina HiSeq 平台测序获得的原始数据进行质量分析并去除低质量序列和接头序列后,得到高质量序列。使用 HISAT 软件<sup>[25]</sup>将过滤后的高质量序列与参考基因组和基因注释文件(基因登录号:GCF\_002870075.3)比对,进行基因注释。

1.2.3 差异表达基因分析 使用 DESeq2 软件<sup>[26]</sup>进行差异表达分析,得到 Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组这 2 个比较组之间的差异表达基因,筛选标准: $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$ ,且校正后的  $P$  值( $FDR$ ) $<0.05$ , $\text{Fold Change}$  为 2 个组之间基因表达水平的比值。对于京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库,以通路为单位进行超几何分布检验;对于基因本体(GO),则基于 GO 条目进行分析,并利用 iTAK 软件<sup>[27]</sup>进行转录因子分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 RNA-Seq 测序数据统计分析

本研究共完成 12 份样品的测序分析,结果(表 2)表明,高质量 reads 的碱基总数为 83.22 Gb,每份样品高质量 reads 的碱基总数均超过 6.00 Gb。 $Q20$

(碱基质量值不低于 20 的碱基数占总碱基数的比例)和  $Q30$ (碱基质量值不低于 30 的碱基数占总碱基数的比例)均在 90.00% 以上, $G+C$  含量为 44.31%~45.55%,能够比对到参考基因组的 reads 所占比例为 88.46%~94.33%;茎用莴苣种质资源 1 号在产品器官收获期和抽薹期具有唯一匹配的 reads 所占比例均值分别为 89.42% 和 87.85%;茎用莴苣种质资源 3 号产品器官收获期和抽薹期具有唯一匹配的 reads 比例分别为 90.77% 和 83.99%。主成分分析结果(图 1)表明,每组的样品都聚集在一起,表明重复样品间具有较高的相似度及重复性<sup>[28]</sup>。上述研究结果表明测序数据质量合格、可靠性较高,可开展下一步研究。

### 2.2 差异表达基因

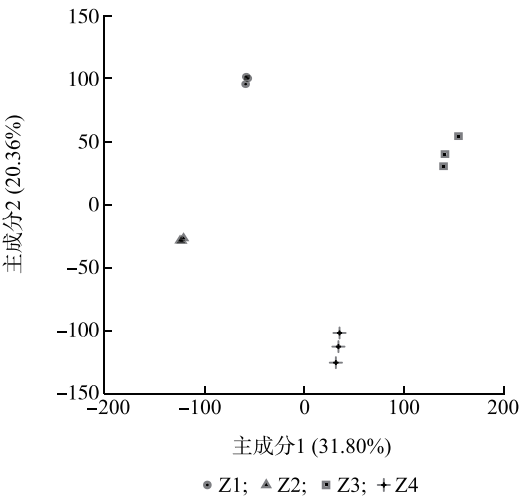
筛选差异表达基因的标准为 $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$ ,且 $FDR < 0.05$ 。Z1 和 Z3 的比较组中差异表达基因为 6 754 个,上调表达基因有 3 273 个,占 48.46%,下调表达基因 3 481 个,占 51.54%;Z2 和 Z4 的比较组中差异表达基因为 5 444 个,上调表达基因有 2 879 个,占 52.88%,下调表达基因 2 565 个,占 47.12%(表 3)。

表 2 转录组测序数据

Table 2 Transcriptome sequencing data

样品 编号	高质量 reads 的碱基数 (Gb)	比对到参考 基因组的 reads 所占比例(%)	具有唯一匹配 的 reads 所占 比例(%)	原始序列	有效序列	错误率 (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	G+C 含量 (%)
Z1-1	6.77	93.40	89.85	46 957 882	45 112 008	0.03	97.04	91.92	44.36
Z1-2	6.90	92.78	89.17	48 016 180	46 008 816	0.03	97.01	91.88	44.31
Z1-3	6.95	92.83	89.25	49 318 926	46 302 690	0.03	97.14	92.11	44.40
Z2-1	6.86	93.75	90.43	47 110 046	45 731 226	0.03	96.65	90.91	44.62
Z2-2	6.80	94.21	90.89	46 776 390	45 306 996	0.03	96.94	91.51	44.51
Z2-3	7.01	94.33	90.99	48 316 568	46 751 280	0.03	96.81	91.19	44.59
Z3-1	6.36	91.39	87.72	44 116 692	42 389 482	0.03	96.99	91.80	44.58
Z3-2	6.49	91.63	87.89	45 319 082	43 250 060	0.03	96.99	91.71	44.55
Z3-3	7.48	91.69	87.95	50 643 140	49 871 480	0.03	96.75	91.17	44.64
Z4-1	7.30	88.46	83.19	49 755 676	48 640 206	0.03	97.05	91.86	45.55
Z4-2	7.13	89.28	84.34	48 946 690	47 560 208	0.03	96.95	91.65	45.18
Z4-3	7.17	89.06	84.44	48 925 146	47 772 048	0.03	96.93	91.55	45.00

Z1-1 至 Z4-3 见表 1。Q20:碱基质量值不低于 20 的碱基数占总碱基数的比例;Q30:碱基质量值不低于 30 的碱基数占总碱基数的比例。



Z1~Z4 见表 1。

图 1 样品主成分分析

Fig.1 Principal component analysis of samples

表 3 差异表达基因的统计

Table 3 Statistics of differentially expressed genes

组别	差异表达基因 总数(个)	下调表达基因 数目(个)	上调表达基因 数目(个)
Z1 和 Z3 的比较组	6 754	3 481 (51.54%)	3 273 (48.46%)
Z2 和 Z4 的比较组	5 444	2 565 (47.12%)	2 879 (52.88%)

Z1~Z4 见表 1。括号内为占差异表达基因总数的比例。

对筛选出的与抽薹相关的差异表达基因进行层次聚类分析,图 2 显示,每组的 3 个生物学重复均聚

成一簇,表明样品的生物学重复性良好,数据的可靠性高,聚类分析将与抽薹相关的差异表达基因大致分为 5 类。差异表达基因韦恩图(图 3)显示,有 2 579 个差异表达基因在 Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中共同表达,其中上调表达的基因有 1 217 个,下调表达的基因有 1 267 个。

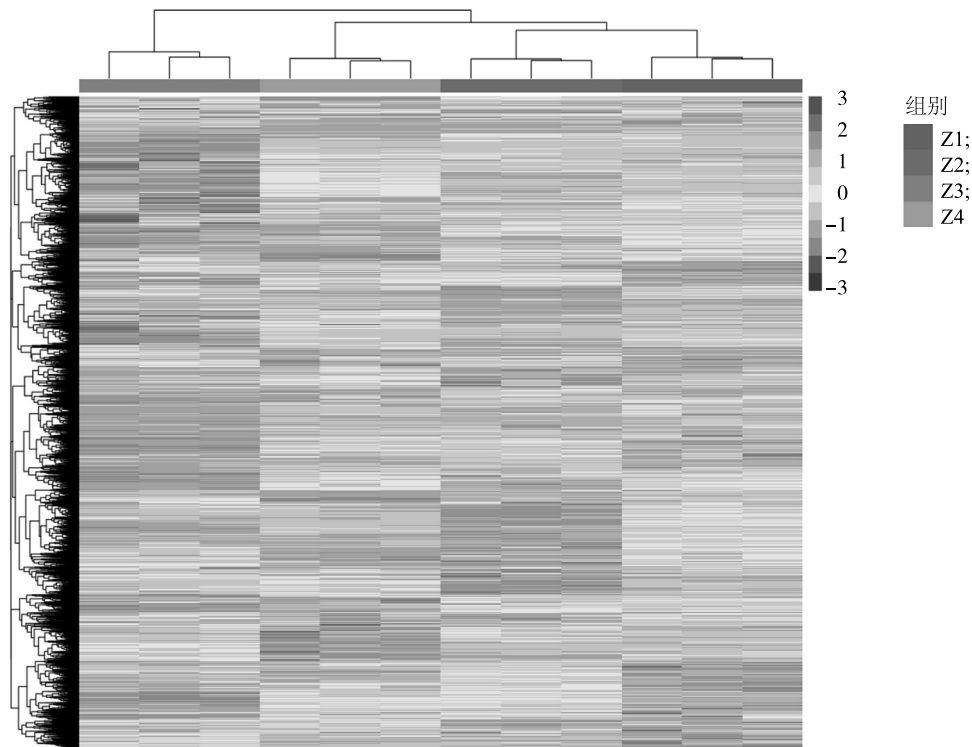
2.3 GO 功能富集分析

GO 功能富集分析分为分子功能 (Molecular function, MF)、生物学过程 (Biological process, BP) 和细胞组分 (Cellular component, CC) 3 个类别<sup>[29]</sup>。Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中差异表达基因富集的 GO 条目分别有 44 个和 46 个,其中共同富集的 GO 条目有 44 个,本研究只列出差异表达基因显著富集的 32 个条目(图 4)。BP 差异表达基因富集较多的 GO 条目为细胞过程和代谢过程;MF 差异表达基因富集较多的 GO 条目为结合和催化活性;CC 差异表达基因富集较多的 GO 条目为细胞解剖实体和含蛋白质复合体。在细胞过程和代谢过程差异表达基因富集较多,这一结果与其他植物的转录组测序结果<sup>[30]</sup>一致,表明荃用莴苣在抽薹过程中细胞活动和代谢均较活跃。

2.4 KEGG 通路富集分析

在 KEGG 数据库中,Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中的差异表达基因分别被注释到 133

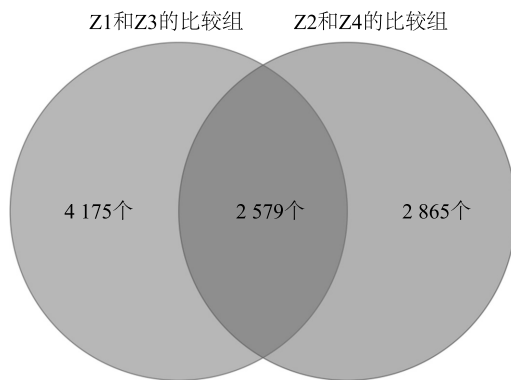




Z1~Z4 见表 1。

图 2 差异表达基因聚类分析结果

Fig.2 Cluster analysis result of differentially expressed genes



Z1~Z4 见表 1。

图 3 差异表达基因的韦恩图

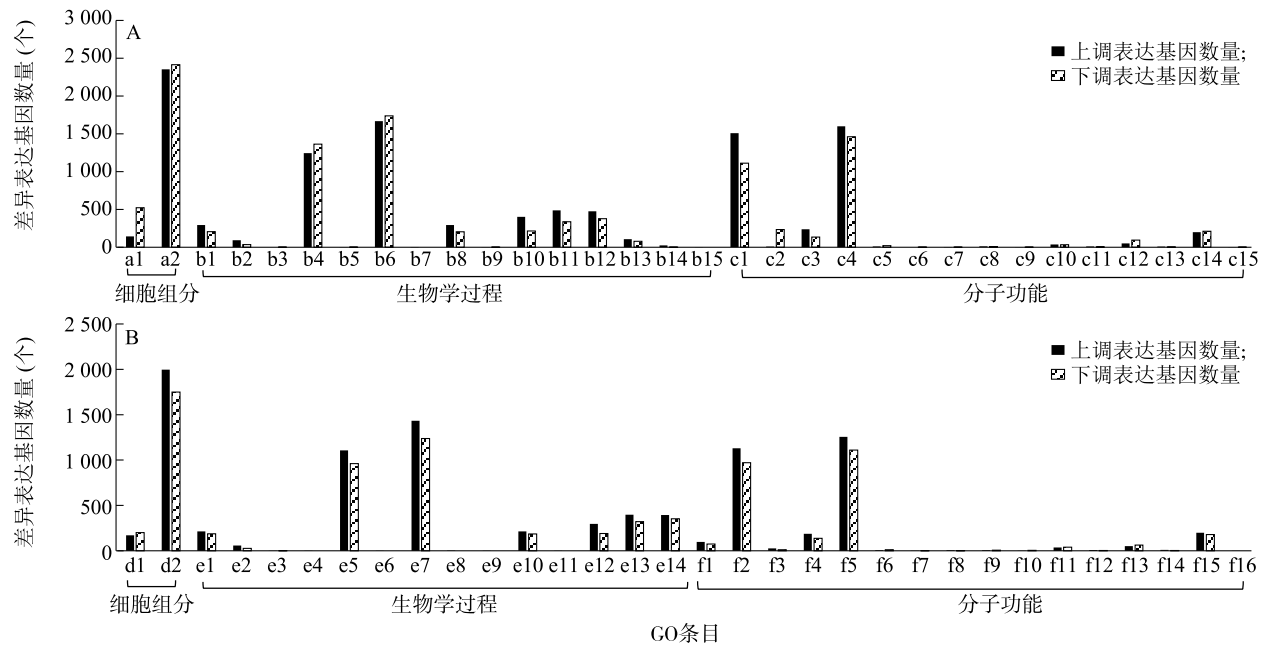
Fig.3 Venn diagram of differentially expressed genes

条、129 条 KEGG 通路,2 个组共同注释到的 KEGG 通路为 128 条。利用 KEGG 数据库富集出茎用莴苣抽薹过程中差异表达基因表现出显著性差异的前 20 条通路。前 20 条通路差异表达基因数量见表 4 和表 5,茎用莴苣抽薹过程中差异表达基因富集的通路主要有次生代谢物的生物合成 (ko01110)、植物激素信号转导 (ko04075)、植物-病原体的相互作

用 (ko04626) 等。通过对 KEGG 富集通路的研究结果进行分析发现,代谢途径的差异表达基因只在 Z2 和 Z4 的比较组中显著富集,在 Z1 和 Z3 的比较组中没有显著富集,其原因可能是紫色茎用莴苣较绿色茎用莴苣早熟,一些物质的调控作用需要被提前激活,提前启动代谢途径,但具体原因还需进一步探究。

## 2.5 转录因子分析

转录因子在植物生长和发育中起着调节作用<sup>[31]</sup>。图 5 显示,Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组分别鉴定到 74 个和 68 个转录因子家族,分别包括 501 个和 458 个差异表达基因。Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中的差异表达基因大多数都属于 AP2/ERF (56 个、43 个)、bHLH (38 个、34 个)、MYB (37 个、30 个)、NAC (27 个、19 个)、WRKY (24 个、21 个)、C2H2 (23 个、13 个)、bZIP (19 个、14 个) 等转录因子家族,表明这些转录因子家族可能在茎用莴苣抽薹过程中起着一定作用;在 TUB、NF-YB、HB-other、DBB、FAR1 等转录因子家族中的差异表达基因数量最少,只有 1 个。



A: Z1 和 Z3 的比较组; B: Z2 和 Z4 的比较组。Z1~Z4 见表 1。a1: 含蛋白质复合体; a2: 细胞解剖实体; b1: 生殖; b2: 免疫系统过程; b3: 硫利用; b4: 代谢过程; b5: 碳水化合物利用; b6: 细胞过程; b7: 碳利用; b8: 生殖过程; b9: 生物附着; b10: 信号; b11: 多细胞生物过程; b12: 发育过程; b13: 生长; b14: 运动; b15: 色素沉淀; c1: 催化活性; c2: 结构分子活性; c3: 转运活性; c4: 结合; c5: 抗氧化活性; c6: 蛋白质标记; c7: 蛋白质折叠伴侣; c8: 翻译调节器活性; c9: 营养库活性; c10: 分子传感器活性; c11: 分子衔接活性; c12: 分子功能调节剂; c13: 分子载体活性; c14: 转录调节活性; c15: 通用转录起始因子活性; d1: 含蛋白质复合体; d2: 细胞解剖实体; e1: 生殖; e2: 免疫系统过程; e3: 硫利用; e4: 行为; e5: 代谢过程; e6: 碳水化合物利用; e7: 细胞过程; e8: 碳利用; e9: 氮利用; e10: 生殖过程; e11: 生物附着; e12: 信号; e13: 多细胞生物过程; e14: 发育过程; e15: 生长; f1: 催化活性; f2: 结构分子活性; f3: 转运活性; f4: 结合; f5: 抗氧化活性; f6: 蛋白质标记; f7: 蛋白质折叠伴侣; f8: 翻译调节器活性; f9: 营养库活性; f10: 分子传感器活性; f11: 分子衔接活性; f12: 分子功能调节剂; f13: 分子载体活性; f14: 转录调节活性; f15: 通用转录起始因子活性; f16: 通用转录起始因子活性。

图 4 差异表达基因的基因本体 (GO) 功能分类  
Fig.4 Gene ontology (GO) functional classification of differentially expressed genes

表 4 Z1 和 Z3 的比较组中差异表达基因富集的前 20 条京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路  
Table 4 The top 20 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathways enriched by differentially expressed genes in the comparison group of Z1 and Z3

代谢通路编号	代谢通路名称	差异表达基因数量 (个)	表达量上调基因数量 (个)	表达量下调基因数量 (个)
ko04626	植物-病原体的相互作用	356	283	73
ko04016	丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号转导途径-植物	212	145	67
ko03010	核糖体	231	8	223
ko00500	淀粉和蔗糖的代谢	95	34	61
ko02010	腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 结合盒式蛋白 (ABC) 运输体	53	39	14
ko04075	植物激素信号转导	237	138	99
ko00908	玉米素的生物合成	31	25	6
ko00902	单萜类化合物的生物合成	10	5	5
ko04712	昼夜节律-植物	60	36	24
ko00909	倍半萜和三萜的生物合成	37	27	10
ko00591	亚油酸代谢	10	6	4
ko00053	抗坏血酸和醛酸的代谢	29	15	14
ko00073	角质、木栓质和蜡质的生物合成	22	11	11

续表 4 Continued 4

代谢通路编号	代谢通路名称	差异表达基因数量 (个)	表达量上调基因数量 (个)	表达量下调基因数量 (个)
ko00941	黄酮类化合物的生物合成	36	18	18
ko00943	异黄酮类化合物的生物合成	2	2	0
ko00860	卟啉和叶绿素的代谢	18	8	10
ko01110	次生代谢物的生物合成	478	245	233
ko00780	生物素代谢	12	4	8
ko00565	醚类脂质代谢	12	7	5
ko03030	DNA 复制	24	5	19

表 5 Z2 和 Z4 的比较组中差异表达基因富集的前 20 条京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路

Table 5 The top 20 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathways enriched by differentially expressed genes in the comparison group of Z2 and Z4

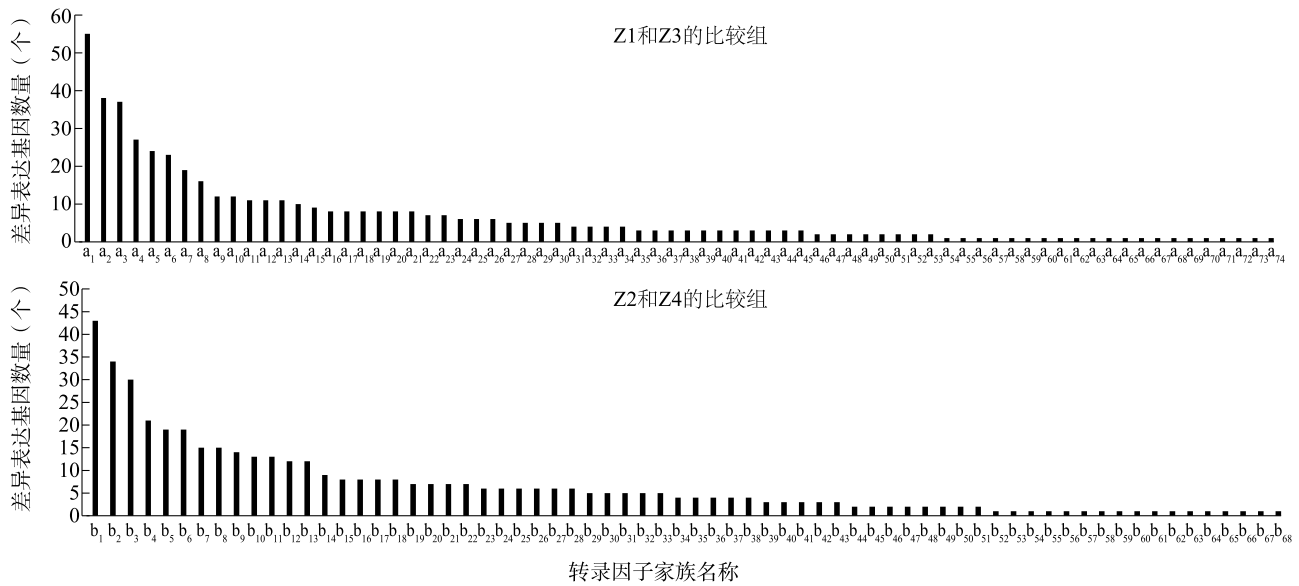
代谢通路编号	代谢通路名称	差异表达基因数量 (个)	表达量上调基因数量 (个)	表达量下调基因数量 (个)
ko04016	丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号转导途径-植物	175	103	72
ko04075	植物激素信号转导	254	139	115
ko00196	光合作用-触角蛋白	20	20	0
ko01110	次生代谢物的生物合成	435	237	198
ko00500	淀粉和蔗糖的代谢	76	29	47
ko00073	角质、木栓质和蜡的生物合成	28	20	8
ko04712	昼夜节律-植物	60	32	28
ko00750	维生素 B <sub>6</sub> 代谢	17	6	11
ko01100	代谢途径	715	369	346
ko00908	玉米素的生物合成	26	14	12
ko04626	植物-病原体的相互作用	235	156	79
ko00906	类胡萝卜素的生物合成	21	15	6
ko00592	$\alpha$ -亚麻酸代谢	28	8	20
ko00940	苯丙烷的生物合成	76	39	37
ko00905	芸薹素类化合物的生物合成	20	12	8
ko00942	花青素的生物合成	3	3	0
ko00052	半乳糖代谢	26	3	23
ko00860	卟啉和叶绿素的代谢	17	14	3
ko00960	托烷、嘧啶和吡啶类生物碱的生物合成	12	6	6
ko00909	倍半萜和三萜的生物合成	28	16	12

### 3 讨论

高通量转录组测序技术可以用于研究差异表达基因及其调控机理<sup>[32]</sup>。差异表达基因是发生应激效应时表达水平发生显著性变化的基因,研究差异表达基因可以明晰基因的功能,也可以为研究相关分子机制提供丰富的参考数据<sup>[33]</sup>。茎用莴苣是一种具有较高营养价值的蔬菜,但其提早抽薹会影响食用口感及商品价值,目前,对茎用莴苣的研究主要

集中于栽培技术<sup>[34]</sup>及产量<sup>[35]</sup>等方面,茎用莴苣抽薹的机理尚不清楚,有待进一步研究。

抽薹会长出花薹,使植株高度增加<sup>[36]</sup>,植株在花芽分化期间,如果遇到长日照高温条件,体内生长素含量升高,就会出现抽薹现象,发生抽薹初期茎顶的亚顶端细胞伸长<sup>[37]</sup>。GO 功能富集分析结果表明,Z1 和 Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中差异表达基因富集较多的 GO 条目包括细胞过程,表明抽薹过程中有一系列细胞的变化。本研究中,Z1 和



Z1~Z4 见表 1。a<sub>1</sub>: AP2/ERF-ERF; a<sub>2</sub>: bHLH; a<sub>3</sub>: MYB; a<sub>4</sub>: NAC; a<sub>5</sub>: WRKY; a<sub>6</sub>: C2H2; a<sub>7</sub>: bZIP; a<sub>8</sub>: Others; a<sub>9</sub>: C2C2-Dof; a<sub>10</sub>: MADS-MIKC; a<sub>11</sub>: GRAS; a<sub>12</sub>: HB-HD-ZIP; a<sub>13</sub>: MYB-related; a<sub>14</sub>: SNF2; a<sub>15</sub>: C3H; a<sub>16</sub>: AP2/ERF-AP2; a<sub>17</sub>: B3; a<sub>18</sub>: C2C2-GATA; a<sub>19</sub>: HB-BELL; a<sub>20</sub>: HSF; a<sub>21</sub>: OFP; a<sub>22</sub>: AUX/IAA; a<sub>23</sub>: B3-ARF; a<sub>24</sub>: GRF; a<sub>25</sub>: LOB; a<sub>26</sub>: TCP; a<sub>27</sub>: mTERF; a<sub>28</sub>: Tify; a<sub>29</sub>: TRAF; a<sub>30</sub>: zf-HD; a<sub>31</sub>: C2C2-CO-like; a<sub>32</sub>: HMG; a<sub>33</sub>: SBP; a<sub>34</sub>: TAZ; a<sub>35</sub>: BES1; a<sub>36</sub>: CSD; a<sub>37</sub>: DDT; a<sub>38</sub>: GARP-G2-like; a<sub>39</sub>: GNAT; a<sub>40</sub>: MADS-M-type; a<sub>41</sub>: PHD; a<sub>42</sub>: Pseudo ARR-B; a<sub>43</sub>: RWP-RK; a<sub>44</sub>: SET; a<sub>45</sub>: SWI/SNF-BAF60b; a<sub>46</sub>: C2C2-YABBY; a<sub>47</sub>: E2F-DP; a<sub>48</sub>: GARP-ARR-B; a<sub>49</sub>: HB-KNOX; a<sub>50</sub>: Jumonji; a<sub>51</sub>: NF-YA; a<sub>52</sub>: PLATZ; a<sub>53</sub>: Trihelix; a<sub>54</sub>: Alfin-like; a<sub>55</sub>: AP2/ERF-RAV; a<sub>56</sub>: ARID; a<sub>57</sub>: BBR-BPC; a<sub>58</sub>: C2C2-LSI; a<sub>59</sub>: CAMTA; a<sub>60</sub>: CPP; a<sub>61</sub>: DBB; a<sub>62</sub>: DBP; a<sub>63</sub>: EIL; a<sub>64</sub>: FAR1; a<sub>65</sub>: GeBP; a<sub>66</sub>: HB-other; a<sub>67</sub>: IWS1; a<sub>68</sub>: LUG; a<sub>69</sub>: NF-YB; a<sub>70</sub>: S1Fa-like; a<sub>71</sub>: SRS; a<sub>72</sub>: SWI/SNF-SWI3; a<sub>73</sub>: TUB; a<sub>74</sub>: Whirly; b<sub>1</sub>: AP2/ERF-ERF; b<sub>2</sub>: bHLH; b<sub>3</sub>: MYB; b<sub>4</sub>: WRKY; b<sub>5</sub>: NAC; b<sub>6</sub>: Others; b<sub>7</sub>: C2C2-Dof; b<sub>8</sub>: MYB-related; b<sub>9</sub>: bZIP; b<sub>10</sub>: C2H2; b<sub>11</sub>: MADS-MIKC; b<sub>12</sub>: GARP-G2-like; b<sub>13</sub>: SBP; b<sub>14</sub>: Trihelix; b<sub>15</sub>: C2C2-CO-like; b<sub>16</sub>: C2C2-GATA; b<sub>17</sub>: GRAS; b<sub>18</sub>: LOB; b<sub>19</sub>: AP2/ERF-AP2; b<sub>20</sub>: AUX/IAA; b<sub>21</sub>: GRF; b<sub>22</sub>: HSF; b<sub>23</sub>: C3H; b<sub>24</sub>: GNAT; b<sub>25</sub>: HB-HD-ZIP; b<sub>26</sub>: NF-YA; b<sub>27</sub>: OFP; b<sub>28</sub>: SET; b<sub>29</sub>: B3; b<sub>30</sub>: B3-ARF; b<sub>31</sub>: HB-BELL; b<sub>32</sub>: TCP; b<sub>33</sub>: Tify; b<sub>34</sub>: BES1; b<sub>35</sub>: Jumonji; b<sub>36</sub>: MADS-M-type; b<sub>37</sub>: PHD; b<sub>38</sub>: SNF2; b<sub>39</sub>: DBP; b<sub>40</sub>: mTERF; b<sub>41</sub>: Pseudo ARR-B; b<sub>42</sub>: TAZ; b<sub>43</sub>: TRAF; b<sub>44</sub>: AP2/ERF-RAV; b<sub>45</sub>: BBR-BPC; b<sub>46</sub>: C2C2-YABBY; b<sub>47</sub>: DDT; b<sub>48</sub>: EIL; b<sub>49</sub>: IWS1; b<sub>50</sub>: PLATZ; b<sub>51</sub>: zf-HD; b<sub>52</sub>: ARID; b<sub>53</sub>: C2C2-LSI; b<sub>54</sub>: CAMTA; b<sub>55</sub>: CSD; b<sub>56</sub>: DBB; b<sub>57</sub>: E2F-DP; b<sub>58</sub>: FAR1; b<sub>59</sub>: GARP-ARR-B; b<sub>60</sub>: HB-KNOX; b<sub>61</sub>: HB-other; b<sub>62</sub>: HB-WOX; b<sub>63</sub>: MBF1; b<sub>64</sub>: NF-X1; b<sub>65</sub>: NF-YB; b<sub>66</sub>: RWP-RK; b<sub>67</sub>: TUB; b<sub>68</sub>: ULT。

图 5 差异表达基因对应的转录因子家族

Fig.5 Transcription factor families corresponding to differentially expressed genes

Z3 的比较组、Z2 和 Z4 的比较组中的差异表达基因在次生代谢物的生物合成通路和植物激素信号转导通路中富集较多,且这 2 条通路中的差异表达基因数量均表现为上调表达基因数量大于下调表达基因数量,推测在茎用莴苣抽薹过程中这 2 条通路发挥着重要作用。

WRKY 家族转录因子可以影响植物的次生代谢<sup>[38-43]</sup>,对次生代谢物的积累起调控作用<sup>[44]</sup>,并且已有研究结果证明 WRKY 家族转录因子可以参与其他激素介导的信号转导,从而对植物体细胞的发育起到间接调控作用<sup>[45]</sup>。对转录组数据进行分析

发现,茎用莴苣种质资源 1 号和 3 号均有较多的差异表达基因属于 WRKY 家族。Ishida 等<sup>[46]</sup>的研究结果表明,WRKY 家族转录因子对植物的开花时间具有一定的调控作用,拟南芥在长日照条件下过量表达 WRKY25,会导致其开花时间提前<sup>[47]</sup>。苏蔚等<sup>[48]</sup>发现,转录因子 BcWRKY22 可以调控菜心提前开花,在拟南芥中异源表达棉花 *GbWRKY1* 基因,发现植株抽薹开花时间明显提前,且 *GbWRKY1* 对植物开花时间的调节主要通过赤霉素途径实现<sup>[49]</sup>,由此推测 WRKY 家族转录因子可能会通过影响一些次生代谢物的积累和植物信号转导途径进而影响茎



用莴苣的抽薹过程。

有研究表明,bHLH 家族转录因子参与植物信号转导、次生代谢等多种生物学过程<sup>[50]</sup>,当 bHLH 家族转录因子 TT8 和 WD40 的功能被抑制时,甘蓝的开花时间会提前<sup>[51]</sup>。拟南芥的 *AtbHLH113* 基因和 *SPL9* 基因在蛋白质水平上相互作用,进而影响开花时间<sup>[52]</sup>。bHLH 转录因子家族富集的差异表达基因数量较多,因此其可能参与茎用莴苣抽薹的调控。谢德金等<sup>[53]</sup>研究发现 MYB 家族转录因子可以调节植物次生代谢物的生物合成。茎用莴苣抽薹后次生代谢物的生物合成通路中差异表达基因上调表达数量大于下调表达数量,且此通路中差异表达基因数量较多,可能与 MYB 转录因子对次生代谢的调控有关,目前关于 MYB 转录因子对抽薹影响的研究较少,不能推测其是否参与茎用莴苣的抽薹过程。

AP2/ERF 转录因子家族的 AP2 亚家族基因会影响植物花的发育,在拟南芥中,AP2 同源基因对花的生长有影响,包括花分生组织的形成和花器官的生长发育,对参与花发育相关基因的表达具有调控作用<sup>[54]</sup>。然而,拟南芥的 AP2 基因也参与抑制成花关键基因 *SOC1* 和 *AG* 的表达,并与 *miR172* 基因结合,对开花时间进行负调节<sup>[55]</sup>。有研究发现次生代谢物的生物合成通路中差异表达基因富集较多,而 AP2/ERF 转录因子家族在植物次生代谢调控中发挥着重要作用<sup>[56]</sup>。Feng 等<sup>[57]</sup>利用高通量测序技术分析鸭茅在不同生育期的转录组变化,发现 *ERF2* 基因在抽薹前期显著表达。本研究中差异表达基因属于 AP2/ERF 转录因子家族的数量最多,推测 AP2/ERF 转录因子家族可能会通过影响植物的次生代谢进而调控茎用莴苣的抽薹。

## 4 结 论

本研究对茎用莴苣产品器官收获期和抽薹期的叶片和肉质茎进行转录组测序分析,结果表明,在产品器官收获期和抽薹期差异表达的基因大多数属于 AP2/ERF、WRKY、bHLH 等转录因子家族,次生代谢物的生物合成、植物激素信号转导等 KEGG 通路富集的差异表达基因较多。因此,今后可在这些转录因子家族和代谢通路中开展挖掘茎用莴苣抽薹相关基因的研究。

## 参考文献:

[1] 袁庆军,杨昌煦. 四川莴苣属及近缘属 10 种植物的核型研究

[J]. 西南农业大学学报,2002,24(1):30-33.

- [2] 毛学文,张海林,毛 沛. 莴笋茎叶营养品质的分析比较[J]. 甘肃农业科技,2003(11):37.
- [3] 钱丽珠. 第二十六讲 莴苣(八)[J]. 上海蔬菜,2001(2):42.
- [4] 张德双,徐家炳,张凤兰. 不同球色大白菜主要营养成分分析[J]. 中国蔬菜,2004(3):37.
- [5] 许 伟,高品一,杨 岷,等. 萝卜药食两用价值及其研究进展[J]. 宁夏农林科技,2014,55(2):90-94.
- [6] HOU C C, LIN S J, CHENG J T, et al. Antidiabetic dimeric guianolides and a lignan glycoside from *Lactuca indica* [J]. Journal of Natural Products, 2003, 66(5):625-629.
- [7] 戴国辉,孙志栋,吴海军,等. 莴笋的营养保健价值及其加工开发[J]. 农产品加工(学刊),2008(11):43-46.
- [8] 孙桂文,滑桂顺,赵增林,等. 莴笋高产栽培技术要点[J]. 北京农业,2010(6):14-17.
- [9] 卢汪友. 莴笋周年无公害优质高产栽培技术[J]. 安徽农学通报,2013,19(20):52-53.
- [10] 裴 芸,张超省,田山君,等. 不同昼夜温差处理对萝卜抽薹及开花特性的影响[J]. 北方园艺,2018(11):1-8.
- [11] 黎 黎,刘 娟,阳梦瑶,等. 低温春化与光周期调控对普通白菜抽薹性状的影响[J]. 中国瓜菜,2021,34(5):45-51.
- [12] 齐仙惠,巫东堂,李改珍,等. 拟南芥成花调控途径的研究进展[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2018,38(9):1-7,36.
- [13] 王茹梦,刘忠松. 甘蓝型油菜开花期全基因组关联分析及开花基因标记开发[J]. 分子植物育种,2021,19(10):3329-3338.
- [14] 张利利,郝敬虹,韩莹琰,等. 温度对叶用莴苣春化的影响[J]. 应用生态学报,2016,27(11):3600-3606.
- [15] CHEN Z, HAN Y, NING K, et al. Inflorescence development and the role of *LsFT* in regulating bolting in lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 8:2248.
- [16] NING K, HAN Y Y, CHEN Z J, et al. Genome-wide analysis of MADS-box family genes during flower development in lettuce[J]. Plant, Cell & Environment, 2019, 42(6):1868-1881.
- [17] HAN Y, CHEN Z, LYU S, et al. MADS-box genes and gibberellins regulate bolting in lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7:1889.
- [18] LIU X Y, LYU S S, LIU R, et al. Transcriptomic analysis reveals the roles of gibberellin-regulated genes and transcription factors in regulating bolting in lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. PLoS One, 2018, 13(2):e0191518.
- [19] WANG S L, LUO C, SUN L, et al. *LsRGL1* controls the bolting and flowering times of lettuce by modulating the gibberellin pathway[J]. Plant Science, 2022, 316:111175.
- [20] QUINT M, GRAY W M. Auxin signaling[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(5):448-453.
- [21] 王 璐. 叶用莴苣 *LsSTPK* 和 *LsMAPK4* 基因的克隆与 *LsSTPK* 基因在抽薹中的功能分析[D]. 北京:北京农学院,2019.
- [22] WANG L, WU Y, DU W, et al. Virus-induced gene silencing (VIGS) analysis shows involvement of the *LsSTPK* gene in lettuce (*Lactuca sativa* L.) in high temperature-induced bolting[J]. Plant

- Signaling & Behavior, 2021, 16(7):1913845.
- [23] 李 婷, 韩莹琰, 范双喜, 等. 叶用莴苣 2 个 *Hsp70* 基因与其抽薹的相关性分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(10):58-62.
- [24] 胡小蓉, 马 燕, 臧德奎, 等. 芍药芽总 RNA 提取方法的研究[J]. 山东农业科学, 2015, 47(2):16-20.
- [25] KIM D, LANGMEAD B, SALZBERG S L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements[J]. Nature Methods, 2015, 12(4):357-360.
- [26] VARET H, BRILLET G L, COPPÉE J, et al. SARTools: a DESeq2- and EdgeR-based R pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-Seq data[J]. PLoS One, 2016, 11(6):e0157022.
- [27] ZHENG Y, JIAO C, SUN H H, et al. iTAK: a program for genome-wide prediction and classification of plant transcription factors, transcriptional regulators, and protein kinases[J]. Molecular Plant, 2016, 9(12):1667-1670.
- [28] 郑 云, 崔芳芳, 郑九洲, 等. 烟草雄性不育突变转录组相关差异表达基因分析[J]. 西南农业学报, 2022, 35(8):1733-1741.
- [29] 刘 洋, 卢凯政, 卜少杰, 等. 田间自然温度调控下核桃根系差异表达基因分析[J]. 北方园艺, 2020(17):30-38.
- [30] 杨宇婷, 张 强. 甜叶菊多倍体变异机制的转录组及 SSR 分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(2):44-50.
- [31] 赵 航, 贾富强, 张富春, 等. 盐胁迫下盐穗木差异表达基因的转录组信息分析[J]. 生物信息学, 2014, 12(2):90-98.
- [32] 何 平, 李林光, 王海波, 等. 遮光性套袋对桃果实转录组的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(6):1088-1097.
- [33] 黄琼林. 高良姜转录组差异表达基因分析[J]. 中药材, 2020, 43(3):553-557.
- [34] 孙永涛, 王旭强. 夏秋季茎用莴苣适应性栽培试验[J]. 上海蔬菜, 2013(1):20, 82.
- [35] 马彦霞, 王晓巍, 张俊峰, 等. 茎用莴苣品种适应性及适宜密度和栽培方式研究[J]. 北方园艺, 2016(13):36-39.
- [36] PFEIFFER N, TRÄNKNER C, LEMNIAN I, et al. Genetic analysis of bolting after winter in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127(11):2479-2489.
- [37] 苏贺楠, 张利利, 刘超杰, 等. 高温诱导叶用莴苣抽薹过程中细胞形态的变化[J]. 北京农学院学报, 2016, 31(2):53-57.
- [38] 段俊枝, 杨翠苹, 王 楠, 等. WRKY 转录因子在植物耐盐基因工程中的应用进展[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(5):71-80.
- [39] 陈亚辉, 张 师, 杨庆山, 等. 多枝怪柳叶片响应 NaCl 胁迫的转录组分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(5):1188-1202.
- [40] 王剑超, 邱文敏, 金康鸣, 等. 伴矿景天 *WRKY* 基因家族鉴定及镉胁迫响应分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2023, 47(2):49-60.
- [41] 张 婷, 柏 杨, 齐希武, 等. 薄荷 *MhWRKY57* 基因克隆及响应茉莉酸信号的表达分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, 46(6):279-287.
- [42] 尹梦莹, 蔚亚楠, 杜光辉, 等. 蒜芥茄 *SsWRKY1* 基因克隆及黄萎病病原菌胁迫下表达分析[J]. 南方农业学报, 2022, 53(4):1000-1010.
- [43] 高 磊, 李 慧, 郑 焕, 等. 果树中花色苷的生物合成及其调控机制研究进展[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(1):258-267.
- [44] 王彩云, 张晓东, 沈 涛, 等. WRKY 在植物次生代谢物合成中的作用及研究进展[J]. 广东农业科学, 2013, 40(20):137-144.
- [45] SHANG Y, YAN L, LIU Z Q, et al. The Mg-chelatase H subunit of *Arabidopsis* antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA-responsive genes of inhibition[J]. The Plant Cell, 2010, 22(6):1909-1935.
- [46] ISHIDA T, HATTORI S, SANO R, et al. *Arabidopsis* TRANSPARENT TESTA GLABRA2 is directly regulated by R2R3 MYB transcription factors and is involved in regulation of GLABRA2 transcription in epidermal differentiation[J]. The Plant Cell, 2007, 19(8):2531-2543.
- [47] 王芳秀, 黎舒佳, 余迪求. *WRKY25* 过量表达导致拟南芥在长光照下开花提前[J]. 植物分类与资源学报, 2011, 33(6):653-659.
- [48] 苏 蔚, 肖柳英, 孙光闻, 等. 转录因子 BcWRKY22 在低温促进菜心抽薹开花中的功能分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(12):3862-3870.
- [49] 李 超. 棉花 GbWRKY1 在植物发育及防御反应中的功能分析[D]. 武汉:华中农业大学, 2014.
- [50] 郭 淑, 罗红梅, 宋经元, 等. 糖基转移酶在植物次生代谢途径中的研究进展[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2012, 14(6):2126-2130.
- [51] 周 雯. 甘蓝 TT8 及 WD40 转录因子影响花青素合成及开花时间的研究[D]. 重庆:西南大学, 2017.
- [52] 宋建辉. *bHLH113* 调控拟南芥开花和花青素合成的分子机制研究[D]. 杭州:浙江农林大学, 2020.
- [53] 谢德金, 叶友杰, 杨德明, 等. 基于巴戟天转录组数据的 R2R3-MYB 转录因子的鉴定和分析[J]. 药学报, 2020, 55(1):160-167.
- [54] 闻可心, 刘雪梅. *AP2* 功能基因在植物花发育中的重要作用[J]. 生物技术通报, 2010(2):1-7.
- [55] YANT L, MATHIEU J, DINH T T, et al. Orchestration of the floral transition and floral development in *Arabidopsis* by the bifunctional transcription factor APETALA2[J]. The Plant Cell, 2010, 22(7):2156-2170.
- [56] 宋康华, 黎宇婷, 张鲁斌. *AP2/ERF* 转录因子调控果实品质研究进展[J]. 热带作物学报, 2019, 40(5):1032-1040.
- [57] FENG G Y, HUANG L K, LI J, et al. Comprehensive transcriptome analysis reveals distinct regulatory programs during vernalization and floral bud development of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2017, 17. DOI: 10.1186/s12870-017-1170-8.

(责任编辑:王 妮)