

董臣飞,许能祥,张文洁,等. 外源赤霉素调控稻草饲用品质后水稻转录因子基因表达谱分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(10):141-145.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.10.026

# 外源赤霉素调控稻草饲用品质后水稻转录因子基因表达谱分析

董臣飞,许能祥,张文洁,顾洪如

(江苏省农业科学院/农业农村部种养结合重点实验室,江苏南京 210014)

**摘要:**为探索外源赤霉素(GA)调控稻草饲用品质的分子机制,采用 Illumina HiSeq 2500 平台的水稻表达谱芯片技术,分析研究生育后期外源赤霉素处理后水稻转录因子基因表达谱的变化。GA 处理后杂交籼稻两优培九与其对照有 28 个基因表达发生明显变化,其中表达上调的有 9 个,下调的有 19 个;表达差异明显的基因主要属于亚油酸代谢、 $\alpha$ -亚麻酸的代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转换、植物病原物相互作用、淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、嘌呤代谢等途径的基因。GA 处理后粳稻品种南粳 44 有 11 个基因的表达发生明显差异,其中 9 个基因表达上调,2 个基因表达下调;差异表达基因主要集中在类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、昼夜节律等途径上。进一步采用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR),验证 4 个转录因子基因在 GA 处理后表达变化,与表达谱结果基本一致。

**关键词:**水稻;赤霉素;转录因子;基因表达谱

**中图分类号:**S511.01

**文献标志码:**A

**文章编号:**1002-1302(2021)10-0141-05

稻草饲料化利用是当前秸秆综合利用研究的热点。前人对稻草饲用的研究多集中在调制方法上<sup>[1-2]</sup>,但效果受到稻草理化性状及机械设备等因素的限制。通过栽培及遗传育种措施改善稻草饲用品质是提高稻草饲用率的简易方法,但目前这方面的研究较少。在改善稻草饲用品质的农艺措施中,施用外源赤霉素(gibberellic acid,GA)是一种有效方式。前期研究表明,水稻(*Oryza sativa*)生育后

期进行外源 GA 处理能增加收获时稻草的绿叶面积,提高稻草中的非结构性碳水化合物(non-structural carbohydrates, NSC)和粗蛋白(crude protein, CP)含量,有效改善稻草饲用品质<sup>[3-4]</sup>,但缺乏深入的机理研究。

笔者前期研究表明,外施 GA 后籼稻品种两优培九和粳稻品种南粳 44 稻草的饲用品质得到显著改善,其衰老进程放缓;但是籼稻和粳稻品种间存在显著差异:两优培九 GA 处理组稻草中的 NSC 和 CP 含量增加幅度显著高于南粳 44,与之相对应的是叶片中的丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量显著低于对照组,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性显著高于对照,且其酶活性增加幅度高于南粳

收稿日期:2020-07-13

基金项目:科技基础资源调查专项(编号:2017FY100603);国家自然科学基金青年基金(编号:31302030)。

作者简介:董臣飞(1981—),女,山东青岛人,博士,副研究员,主要从事饲草调制与加工相关研究。E-mail: cfdong1981@126.com。

165(4):375-384.

[18] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12):909-930.

[19] Yao W J, Wang L, Zhou B R, et al. Over-expression of poplar transcription factor *ERF76* gene confers salt tolerance in transgenic tobacco[J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 198:23-31.

[20] 吴幼容,郑郁善. 观音竹对盐胁迫的生长及生理生化响应[J]. 福建林学院学报, 2012, 32(1):23-27.

[21] 郑郁善,郑容妹,姚庆端. 盐胁迫对沿海沙地绿竹生理生化的效应[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2003, 32(4):478-481.

[22] 何开跃,郭春梅. 盐胁迫对 3 种竹子体内 SOD、POD 活性的影响[J]. 江苏林业科技, 1995, 22(4):11-14.

[23] 季琳琳,吴中能,刘俊龙,等. NaCl 胁迫对两种柳树幼苗生理特性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(1):77-82.

[24] 程淑娟,唐东芹,刘群录,等. 盐胁迫下的 2 种素馨属植物生理特性[J]. 福建林学院学报, 2012, 32(1):33-38.

[25] 胡晓立,李彦慧,陈东亮,等. 3 种李属彩叶植物对 NaCl 胁迫的生理响应[J]. 西北植物学报, 2010, 30(2):370-376.

[26] 郑容妹. 沿海沙地引种绿竹等竹子的抗盐抗旱机理研究[D]. 福州:福建农林大学, 2003.

[27] 姚文静,王茹,王星,等. 3 个竹种实生竹苗质量评价研究[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5):116-121.

44, 叶片中的 GA 含量和 GA/脱落酸(ABA)的值均显著高于对照组, 且高于南粳 44。这说明水稻生育后期喷施外源 GA 能显著改善稻草饲用品质, 主要通过减少 MDA 的积累量, 提高 SOD 和 POD 活性, 提高内源 GA 含量及 GA/ABA 的值来实现, 且对衰老进程较快的籼稻品种两优培九的效果优于粳稻品种南粳 44<sup>[5]</sup>。但 GA 是如何改变水稻基因表达, 对生理性状产生影响的分子机理有待进一步探究。

本研究在前期外源 GA 对稻草饲用品质及水稻内源激素含量和衰老相关生理指标影响的基础上, 采用两优培九和南粳 44 这 2 个不同类型水稻品种为试验对象, 于开花后 15 d 喷施 45 g/hm<sup>2</sup> GA, 在处理组采集水稻叶片样品, 分析外源 GA 处理对水稻转录因子基因表达谱的影响, 以期为揭示外源赤霉素调控稻草饲用品质的分子机理提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

利用江苏地区生产中推广应用的 2 个不同类型优质水稻品种(杂交籼稻两优培九、早熟晚粳南粳 44)进行试验。

### 1.2 试验设计与田间管理

试验于 2015 年在江苏省农业科学院水稻试验田进行。于 2015 年 5 月 10 日播种, 6 月 13 日插秧。采用随机区组设计, 每个处理 3 次重复, 每小区 10

行, 每行 10 株, 1 穴 1 株, 行株距为 30 cm × 20 cm。按照常规水稻进行肥水管理。

### 1.3 测定内容及方法

水稻开花后挑选长势一致的主茎倒 1 叶挂牌, 在水稻开花后 15 d(9 月 8 日)上午喷药, GA 喷施浓度为 45 g/hm<sup>2</sup>。喷药后 14 d(9 月 22 日, 即开花后 29 d)取样。采集主茎倒 1 叶, 用锡箔纸包好放入液氮罐中冷冻保存。样品质检合格后, 构建表达谱测序文库, 基于 Illumina 技术测序平台, 进行双端测序(测序平台为 Illumina HiSeq2500; 测序方式为 PE100)。采用与表达谱测序相同的 RNA 进行实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)分析验证芯片的试验结果。基因表达谱分析及实时荧光定量 PCR 验证均委托广州锐博生物科技有限公司进行测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 赤霉素处理后杂交籼稻显著差异表达基因转录谱

图 1 是两优培九 CK 的 3 个重复样本以及 GA 处理 3 个重复样本中都表达差异的基因汇总, 其中红色区域表示表达上调基因, 绿色区域表示表达下调基因, 黑色表示表达不变。两优培九开花后 15 d 喷施 GA 处理后, 对照组和 GA 处理组有 28 个基因表达发生显著变化, 其中表达上调的有 9 个, 下调的有 19 个。

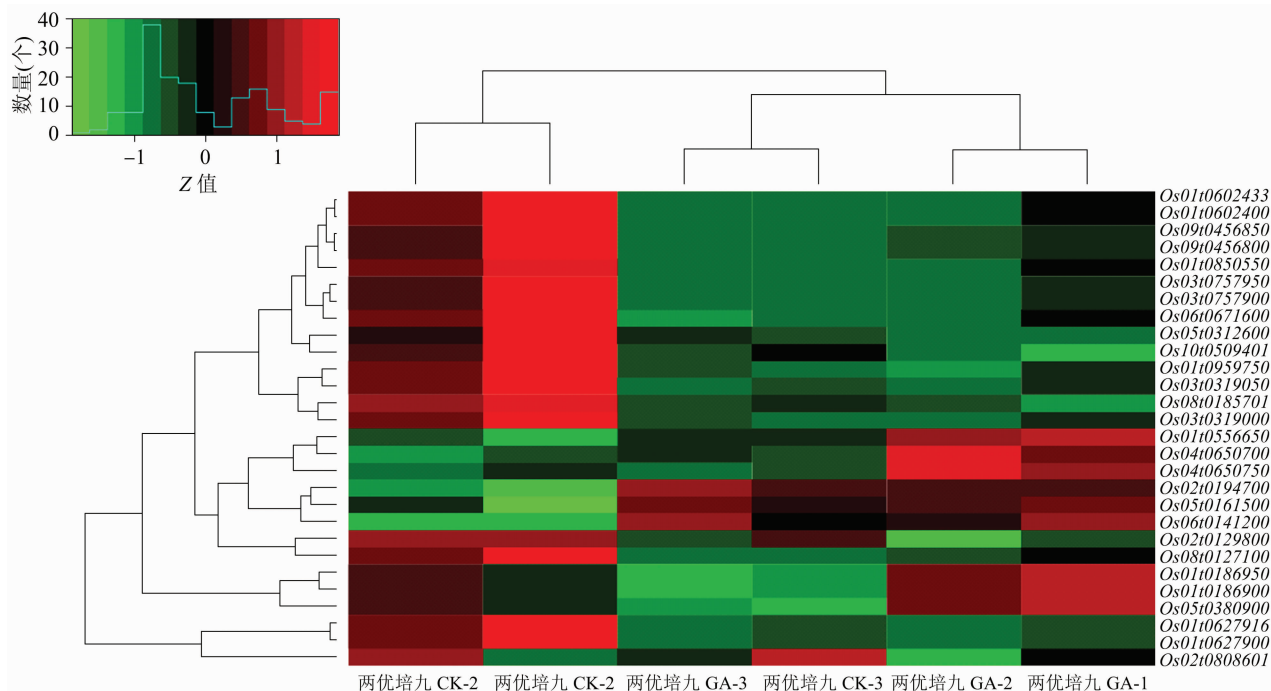
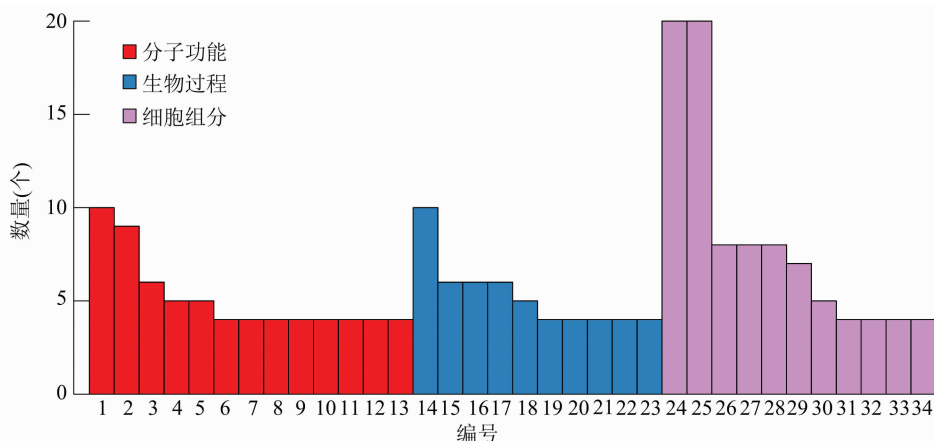


图1 赤霉素处理后两优培九表达差异显著基因热图

如图 2 所示,表达差异显著的基因主要属于亚油酸代谢、 $\alpha$ -亚麻酸的代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转

换、植物病原物相互作用、淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、嘌呤代谢等途径。



1—氧化还原酶活性; 2—结合金属离子; 3—激酶活性; 4—结合蛋白质; 5—结合ATP; 6—结合核苷酸; 7—作用于与分子氧结合或减少的配对供体的引导酶活性; 8—结合DNA; 9—蛋白激酶活性; 10—单加氧酶活性; 11—结合铁离子; 12—结合血红素; 13—水解酶活性; 14—氧化还原过程; 15—代谢过程; 16—几丁质应答; 17—磷酸化作用; 18—损伤反应; 19—内质网未折叠蛋白反应; 20—缺水反应; 21—碳水化合物代谢过程; 22—蛋白磷酸化; 23—细胞内信号转导; 24—细胞膜(membrane); 25—细胞膜的整体组分; 26—细胞核; 27—质膜(plasma membrane); 28—细胞质; 29—胞质溶胶; 30—胞浆; 31—叶绿体; 32—胞外体; 33—核质; 34—液泡膜

图2 两优培九差异表达基因功能分类

## 2.2 赤霉素处理后粳稻品种南梗 44 显著差异表达基因转录谱

由图 3 可知,粳稻品种南梗 44 GA 处理后有 11 个基因的表达差异显著,其中 9 个基因表达上调,2

个基因表达下调。如图 4 所示,表达差异显著的基因主要属于类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、昼夜节律-植物等途径。

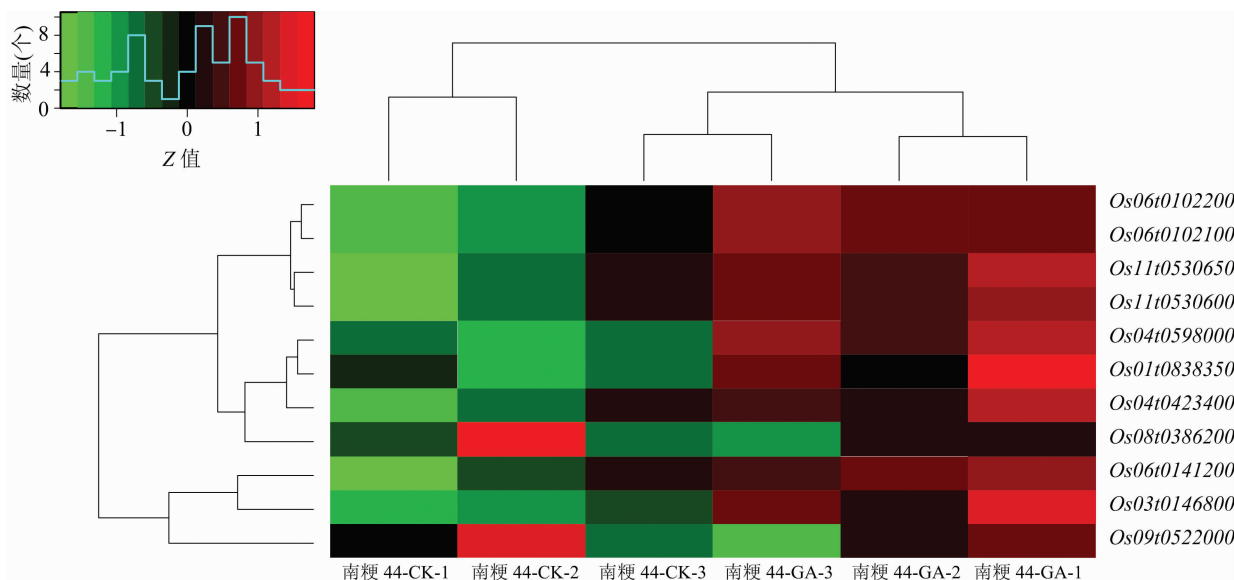


图3 南梗 44 赤霉素处理后表达差异基因热图

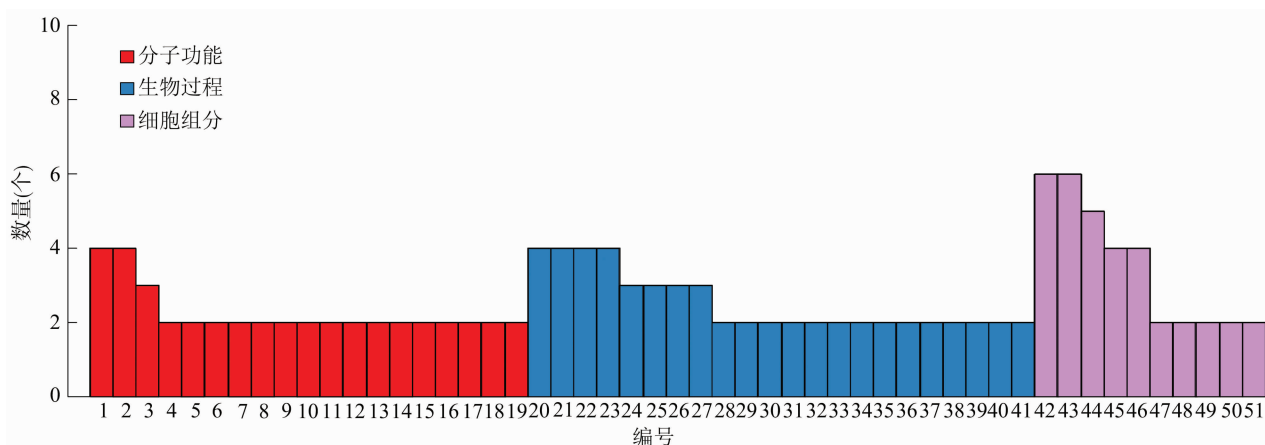
## 2.3 实时荧光定量 PCR 验证

在表达差异显著的基因中选取植物激素信号转导相关基因 *Os03t0402800* [第 3 号染色体 (chr03): 16407695 ~ 16410007] 和 *Os03t0181100* (chr03:4248884 ~ 4249820) 及淀粉和蔗糖代谢相关

基因 *Os03t0757900* (chr03:31315908 ~ 31318366) 和 *Os02t0106100* [第 2 号染色体 (chr02): 343057 ~ 346875] 进行实时荧光定量 PCR 验证;括号中数字表示染色体上的位置。实时荧光定量 PCR 验证所用材料与用于表达谱测序的材料及处理方式完全

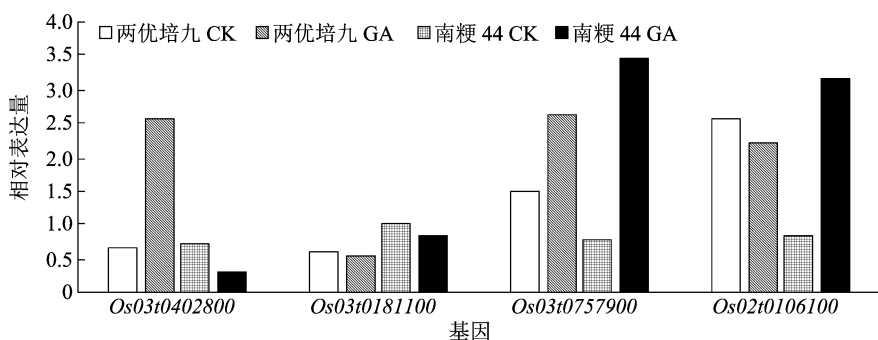
一样。对其结果进行分析,两优培九中 *Os03t0402800* 基因表达量在 GA 处理后明显升高,而南粳 44 中该基因表达量在 GA 处理后反而下降;两优培九和南粳 44 中 *Os03t0181100* 在 GA 处理后基因表达量均下降,但差异不明显;两优培九和南粳 44 中的

*Os03t0757900* 在 GA 处理后均明显升高;两优培九中 *Os02t0106100* 在 GA 处理后小幅下降,而南粳 44 中却明显升高,这些结果与表达谱测序结果基本一致(图 5)。



1—结合金属离子; 2—结合蛋白质; 3—转移酶活性; 4—结合核酸; 5—结合铁离子; 6—转录因子活性和序列特异性 DNA 结合; 7—氧化还原酶活性; 8—结合血红素; 9—NAD (p) h 作为供体与氧原子结合作用于与分子氧结合或还原的配对供体的氧化还原酶活性; 10—柚皮素-查耳酮合酶活性; 11—催化活性; 12—作用于与分子氧结合或还原的配对供体的氧化还原酶活性; 13—类黄酮 3-单加氧酶活性; 14—结合 DNA; 15—酰基转移酶活性; 16—异构酶活性; 17—酰基转移酶 (除氨基-酰基) 活性; 18—单加氧酶活性; 19—含花青素化合物的生物合成过程; 20—UV-B 应答; 21—蔗糖应答; 22—UV 应答; 23—生长素应答; 24—代谢过程; 25—茉莉酸应答; 26—类黄酮生物合成过程; 27—防御反应; 28—DNA 模板化转录调控; 29—DNA 模板化转录; 30—对氧化应激的反应; 31—生物合成过程; 32—应激反应; 33—生物过程; 34—氧化还原过程; 35—次生代谢物生物合成过程; 36—查耳酮生物合成过程; 37—生长素极性转运; 38—应激反应; 39—花青素调控; 40—生物合成过程; 41—重力反应; 42—细胞膜组分; 43—细胞膜; 44—细胞核; 45—细胞质; 46—内质网; 47—核仁; 48—内质网膜; 49—细胞内膜结合细胞器; 50—植物型液泡膜; 51—细胞器膜

图4 南粳 44 表达差异基因功能分类



*Os03t0402800* 和 *Os03t0181100* 这 2 个基因是两优培九和南粳 44 的 CK 共同表达差异的基因; *Os02t0106100* 是两优培九和南粳 44 的 GA 处理共同表达差异的基因

图5 GA 处理后 4 个水稻转录因子的基因相对表达水平

两优培九对照和 GA 处理共同表达差异的 12 个基因是 *Os04t0650750*、*Os01t0186950*、*Os01t0186900*、*Os01t0556650*、*Os01t0850550*、*Os04t0650700*、*Os05t0312600*、*Os02t0808601*、*Os03t0757900*、*Os05t0161500*、*Os10t0509401*、*Os05t0380900*; 南粳 44 对照和 GA 处理共同差异表达的 4 个基因分别是 *Os08t0386200*、*Os04t0423400*、*Os01t0838350* 和 *Os09t0522000*; 两优培九和南粳 44

对照和 GA 处理组共同差异表达基因只有 1 个, 是位于第 6 号染色体 (chr06) 的 2162738 ~ 2165150 区间的 *Os06t0141200*。

### 3 讨论

前期研究表明, 外源 GA 改善稻草饲用品质的生理机制主要通过有效减少叶片中 MDA 的积累, 提高水稻叶片的 SOD 和 POD 活性来实现<sup>[5]</sup>。在苜

蓍上使用 GA 有类似效果<sup>[6]</sup>, 脂质过氧化产物 MDA 含量是脂质过氧化程度的重要指标之一。它可引起生物大分子的变性或降解及生物合成的降低, 破坏细胞结构<sup>[7]</sup>。研究表明, GA 能有效抑制水稻旗叶 MDA 含量的上升, 降低旗叶的脂质过氧化速度, 减少 MDA 对细胞结构的破坏, 对延缓细胞衰老有一定作用<sup>[8]</sup>。

本研究结果表明, 外源 GA 处理后, 籼稻和粳稻品种基因表达谱的变化存在一定差异。水稻基因组中编码转录因子的基因数有 1 306 个。这些转录因子功能复杂, 参与了包括植物的生长发育、形态建成、生物和非生物胁迫以及植物激素的代谢和传导等各个方面的调控作用。本研究中两优培九和南粳 44 对照转录差异的基因包含有与植物激素信号转导的相关基因 *Os03t0402800* (chr03: 16407695 ~ 16410007) 和 *Os03t0181100* (chr03: 4248884 ~ 4249820) (图 1 至图 4)。而笔者前期研究表明, 外源 GA 处理对两优培九和南粳 44 的作用效果不同, GA 处理对衰老进程慢的粳稻品种南粳 44 延缓衰老、改善稻草饲用品质的效果不如对衰老进程较快的籼稻品种两优培九影响效果显著<sup>[5]</sup>。这意味着两优培九和南粳 44 本身存在激素代谢差异, 而笔者前期结果验证了这一推论: 外源 GA 处理后, 水稻叶片中的内源激素含量发生了显著变化, 籼稻和粳稻品种间存在显著差异, 两优培九对照的 GA 含量和 GA/ABA 的值在 2 次取样时均显著低于南粳 44 对照, ABA 含量高于南粳 44, 两优培九 GA 处理的 GA 含量和 GA/ABA 的值在 2 次取样时均极显著高于对照 ( $P < 0.01$ ), 变化幅度高于南粳 44<sup>[5]</sup>。本研究还发现, GA 调控后淀粉和蔗糖代谢相关基因 *Os03t0757900* (chr03: 31315908 ~ 31318366) 和 *Os02t0106100* (chr02: 343057 ~ 346875) 发生变化 (图 1 至图 2), 而前期研究表明在水稻生育后期进行外源 GA 处理能有效提高稻草中的非结构性碳水化合物 (NSC) 含量<sup>[4]</sup>, 这意味着 *Os03t0757900* 和 *Os02t0106100* 基因可能参与了稻草中 NSC 代谢积累的过程。

本研究中 GA 处理后植物激素信号转导相关基因 *Os03t0402800* (chr03: 16407695 ~ 16410007) 和 *Os03t0181100* (chr03: 4248884 ~ 4249820) 及淀粉和

蔗糖代谢相关基因 *Os03t0757900* (chr03: 31315908 ~ 31318366) 和 *Os02t0106100* (chr02: 343057 ~ 346875) 的转录因子表达发生显著变化, 但其参与的 GA 处理后基因调控网络尚不清楚, 而这对深入了解转录因子的功能及其在调控中扮演的角色至关重要。今后笔者将进一步用 RNA 干扰、蛋白互作等技术进一步研究水稻响应 GA 处理过程的分子机制及相互间复杂的调控网络, 将转录因子基因应用于稻草饲用品质的改善中, 以期综合提高稻草饲用品质。

## 4 结论

外源赤霉素能有效调控稻草饲用品质。两优培九经 GA 处理后, 其对照和 GA 处理有 28 个基因表达发生显著变化, 其中表达上调的有 9 个, 下调的有 19 个。表达差异显著的基因主要属于亚油酸代谢、 $\alpha$ -亚麻酸的代谢、戊糖、葡萄糖醛酸转换、植物病原物相互作用、淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、嘌呤代谢等途径。粳稻品种南粳 44 经 GA 处理后有 11 个基因的表达发生显著差异, 其中 9 个基因表达上调, 2 个基因表达下调。差异表达基因主要集中在类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、植物昼夜节律等途径上。

## 参考文献:

- [1] Li J, Shen Y X, Cai Y M. Improvement of fermentation quality of rice straw silage by application of a bacterial inoculant and glucose[J]. Asian - Australian Journal of Animal Science, 2010, 23(7): 901 - 906.
- [2] 马艳艳, 李袁飞, 成艳芬, 等. 不同化学处理对稻草体外发酵动态变化的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(3): 350 - 355.
- [3] Dong C F, Gu H R, Ding C L, et al. Effects of gibberellic acid application after anthesis on the feeding value of double - purpose rice (*Oryza sativa* L.) straw at harvest[J]. Field Crops Research, 2012, 131: 75 - 80.
- [4] 董巨飞, 顾洪如, 许能祥, 等. 赤霉素对不同收获时间的稻草中非结构性碳水化合物含量的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(8): 53 - 64.
- [5] 董巨飞, 顾洪如, 丁成龙, 等. 水稻生育后期外源赤霉素调控稻草饲用品质的机理研究[J]. 草业学报, 2016, 25(11): 94 - 102.
- [6] 郭郁频, 任永霞, 刘贵河, 等. 外源钙和赤霉素对干旱胁迫下苜蓿幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(7): 89 - 96.
- [7] 陈信波, 廖爱君, 罗泽民. 大穗型水稻生育后期叶片和根系生理的特性[J]. 生命科学研究, 1999, 3(3): 250 - 255.
- [8] 刘 凯. 脱落酸和乙烯对水稻与小麦籽粒灌浆的调控作用及其机理[D]. 扬州: 扬州大学, 2008.