

刘振雷,潘家荃,周桦楠,等. 甘薯耐冷组学及分子生物学研究进展[J]. 江苏农业科学,2021,49(24):45-48.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.24.007

甘薯耐冷组学及分子生物学研究进展

刘振雷¹, 潘家荃², 周桦楠², 刘冠求², 于涛²

(1. 辽宁省农业科学院人事教育部, 辽宁沈阳 110161; 2. 辽宁省农业科学院作物研究所, 辽宁沈阳 110161)

摘要:甘薯为喜温短日照作物,起源于热带地区,对低温较敏感。低温冷害对甘薯的产量和品质都会产生显著影响,常造成巨大的经济损失。因此,开展甘薯的耐冷分子生物学研究具有重要的理论和实践价值。总结了低温对甘薯地上部分和地下部分的表观危害症状及对甘薯生理生化方面造成的影响;列举了近年来甘薯耐冷组学和耐冷 microRNA 方面取得的研究进展,研究结果为甘薯耐冷基因的挖掘及从分子层面揭示甘薯耐冷机理奠定了基础;介绍了目前基因工程在甘薯耐冷研究中的应用,有效加快了耐冷分子化育种进程。同时,文章提出以加强甘薯抗冷性的 QTL 分子标记定位研究、推进甘薯冷信号分子传导研究、深入开展利用基因工程技术 3 个方面为未来甘薯耐冷研究的重点方向,以期为甘薯耐冷研究及抗性育种提供理论参考和研究思路。

关键词:甘薯;耐冷;组学;分子生物学;表观危害症状;生理生化;研究进展

中图分类号:S531.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)24-0045-04

甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam.],别名番薯、红薯和甜薯等,是旋花科甘薯属中重要的块根类作物,在世界范围内广泛种植^[1-2]。我国年生产甘薯水平处于世界首位,年种植面积约为 237.37 万 hm²,占世界甘薯种植面积的 30.55%,年产量约为 5 192.2 万 t,占世界甘薯总生产量的 56.62%^[3]。甘薯不仅是食品和饲料,而且是重要的工业原料和新能源作物,在食品和生物产业的发展中有着极其重要的作用^[4]。甘薯属于同源六倍体植物,基因组结构相对复杂,通过常规杂交技术手段对甘薯进行遗传改良既耗时又低效,其抗逆相关性状的遗传机理研究相对缓慢^[5-6]。低温胁迫是影响甘薯生长发育的主要非生物胁迫之一,也是限制甘薯地区推广及甘薯产量的关键环境因素^[7]。因此,研究甘薯耐冷的分子生物学机制,对提高甘薯品质及耐冷性具有重要意义。

1 低温胁迫对甘薯的危害

甘薯起源于热带美洲,广泛种植于热带、亚热带和温带地区,而在寒冷地区种植较少^[8-9]。Guy 将低温胁迫主要分为冷害(chilling injury)和冻害(freeze injury),冷害是指 0℃以上低温对植物形成的伤害,冻害是指低于 0℃低温对植物形成的伤害^[7]。

1.1 甘薯地上部

成熟的甘薯植株形态结构主要分为地上茎叶部和地下块根部。在甘薯生长时期低温胁迫会导致其叶片萎蔫、皱缩,从而影响光合作用地上部到地下部的营养运输。低温胁迫后观察及测定叶片组织切片的结构和电导率,结果表明细胞膜上过氧化强烈,电解质外渗严重,甚至导致甘薯植株的死亡^[10]。

1.2 甘薯块根

低温胁迫也会导致甘薯块根变色和部分萎陷,从而对甘薯贮藏和萌发产生不利影响^[11]。甘薯块根收获后含水量和呼吸速率高,但种皮较薄,因此甘薯贮藏对温度要求严格^[12]。不同的甘薯品种最佳贮藏温度也不同,普遍来说,大多数甘薯的最佳贮藏温度在 12~15℃^[13]。甘薯块根遭遇冷害后主要症状包括由匍枝根霉(*Rhizopus stolonifera* Vuill.)引起的软腐病和由块根细胞壁破坏引起的普遍软化,因此甘薯的采后贮藏是甘薯产业化应用的主要

收稿日期:2021-10-10

基金项目:沈阳市专家工作站(编号:20220105);沈阳市薯类产学研联盟(编号:2022-CXY-076);辽宁省农业科学院基本科研业务费计划(编号:2021GR2927)。

作者简介:刘振雷(1979—),男,辽宁沈阳人,硕士,副研究员,从事作物育种研究。E-mail:l15840049311@126.com。

通信作者:于涛,硕士,副研究员,从事作物育种研究。E-mail:18802421111@139.com。

瓶颈。综上所述,低温胁迫会对甘薯生长发育、贮藏和萌发产生不利影响,提高甘薯品种的耐冷性具有重要意义。

2 基于组学的甘薯耐冷研究

近年来,随着生物信息学和测序技术的飞速发展,越来越多的植物基因组测序完成^[14]。甘薯是高度杂合的六倍体植物,组学相关研究进展相对缓慢,但近年来,新一代测序技术高效率低成本,促进了甘薯组学的发展^[15-16]。目前,甘薯耐冷组学研究主要集中于转录组。

Ji 等为进一步了解甘薯耐寒机制,将具有高贮藏能力的徐薯 15-1 和低贮藏能力的徐薯 15-4 在 4℃ 下贮藏 0、2、6 周,进行转录组分析,共筛选出 525 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)并将其分为六个簇,结果分析表明在徐薯 15-1 中的表达高于在徐薯 15-4 中的基因数量,且随着时间的推移显著增加,为开发具有改良冷藏能力的新品种提供了候选基因^[17]。除对块根做低温处理外, Ji 等还对低温胁迫和胁迫后恢复下对叶片进行了从头转录组组装,与对照组相比分别鉴定出 2 461、1 017 个 DEGs,对数据进行 GO 和 KEGG 分析表明,与拟南芥耐寒 *COR* 基因的报道相反的是,甘薯中鉴定出的 *COR* 基因在低温下没有表现出增加的表达,揭示了甘薯对冷胁迫反应的分子基础^[18]。有研究表明,通过转录组测定甘薯在贮藏期间对低温胁迫的反应,数据表明低温条件下 18 681 个基因表达上调,21 983 个基因表达下调,许多 DEGs 与细胞膜系统、抗氧化酶、碳水化合物代谢和激素代谢有关,这些层面可能与甘薯的低温抗性有关,为甘薯在低温贮藏条件下的生化和生理结果提供了分子基础^[13]。赵晓飞对甘薯块根进行低温处理,转录组学测序产生了 8.25 Gb 的高质量数据,对照组与处理组相比共有 4 470 条 DEGs,其中上调表达的 Unigenes 有 4 059 条,下调表达的有 411 条,从中筛选出 DREB/CBF 家族转录因子 *SuDREB1B*,实时荧光定量表明该基因受低温诱导并上调表达,且与抗氧化酶的活性呈正相关^[19]。

3 甘薯耐冷基因工程

甘薯遗传背景复杂,杂交高度不亲和,甘薯特殊的遗传背景使得常规杂交育种面临诸多挑战,而通过生物技术基因工程等手段挖掘重要基因,可加

速甘薯耐冷分子化育种进程^[20]。Lee 等克隆得到甘薯冷诱导过程中木质素形成的过氧化物酶 *IbLfp* 基因,过表达 *IbLfp* 的转基因甘薯块根可能通过增强 POD 活性氧(ROS)的清除活性从而表现出更好的耐低温性^[21]。TmAF 是黄粉虫(*Tenebrio molitor*)中的一类抗冻蛋白,赖先军等将 TmAFP 通过基因工程技术转入甘薯体内,对转基因植株作低温处理,处理表明转基因植株相比于野生型植株有强大的耐低温能力^[22]。*AtP3B* 基因在拟南芥中可作为蛋白质伴侣及 RNA 伴侣提高植株的耐热及耐冷性, Ji 等在甘薯中过表达该基因,转基因植株表现出更强的光合速率、更低的膜透性和更强的耐低温性^[23]。菠菜中编码甜菜碱醛脱氢酶(BADH)的基因参与了植物体内甘氨酸甜菜碱(GB)的生物合成,而 GB 含量的增加可提高植物对各种非生物胁迫的耐受性。Fan 等将菠菜的 *SoBADH* 基因转入甘薯中, BADH 的异源过表达提高了转基因甘薯植株对低温等胁迫的抗性^[24]。Kim 等在甘薯体内过表达了大豆冷诱导锌指蛋白(SCOF-1),低温处理转基因植株发现 SCOF-1 的表达与转基因植株的低温胁迫耐受性呈现正调节, SCOF-1 的过表达可有效地调节甘薯的低温胁迫^[25]。Kim 等在甘薯中过表达了拟南芥 *NDPK2* 基因,提高了转基因甘薯抗氧化酶活性,增强了寒冷、高盐和干旱胁迫的耐受性^[26]。DREB1 和 CBF 蛋白属于 AP2(ERE)转录因子家族,在拟南芥的耐寒性中起重要作用^[27],近年来,其在甘薯耐寒中的作用也被揭示。Li 等从甘薯体内分离得到 SINA 家族基因 *IbSINA5*,并将其转入甘薯,表明过表达 *IbSINA5* 通过 CBF-SINA-COR 途径显著提高了转基因植物的抗寒性^[28]。Jin 等通过基因工程技术获得了过表达 *IbCBF3* 转录因子转基因甘薯植株,低温处理下,转基因植株表现出更强的耐冷性及抗氧化性^[29]。

4 甘薯耐冷 microRNA

microRNA 是生物体内由内源基因编码的、普遍存在的、非编码的单链小分子 RNA,随着生物信息学技术的发展,甘薯 microRNA 相关研究逐渐增多^[30]。Yu 等对甘薯品种 Covington 幼苗进行 4℃ 和 47℃ 的温度胁迫处理,对 26 种 miRNA 及其 14 个靶基因的不同时间段表达量分析显示,低温和高温胁迫改变了甘薯幼苗中胁迫响应相关 miRNA 的表达,可能通过调节次生代谢、防御反应、ROS 途径

和脱落酸(ABA)信号等过程来调节甘薯的生长发育,从而使甘薯对极端环境胁迫积极响应^[31]。Xie 等为系统地研究甘薯在贮藏期间对低温胁迫的反应,通过通量深度测序技术对甘薯所有 microRNA 和降解产物进行测序,共鉴定出 190 个已知的 miRNA 和 191 个新的 miRNA, qRT-PCR 和测序数据共同证实了在低温胁迫条件下和对照条件下差异表达的 26 个 miRNA, miRNA 和降解产物分析表明 miRNA 介导乙烯(SA)信号、ABA 途径和 ROS 途径参与甘薯块根在贮藏期间对低温胁迫的反应^[32]。

5 展望

低温胁迫会对植物细胞膜系统造成显著影响,同时能抑制光合作用进而对植物的代谢平衡产生严重影响^[33]。因此,甘薯耐寒研究对延长甘薯生育期,提升薯块品质,扩大甘薯在各地区的推广具有重要意义。从基因组学和分子生物学角度不断深入挖掘甘薯耐寒性遗传机制的研究势在必行。

5.1 加强甘薯抗冷性的 QTL 分子标记定位研究

QTL 是指控制数量性状的基因在染色体上的位置,而 QTL 定位就是通过检测分子遗传标记找到 QTL 之间的连锁关系,并估算 QTL 的遗传效应值,最终将单个或多个 QTL 定位在具体的染色体上,进而辅助后代选择^[34]。植物的耐寒性为微效多基因控制的性状,因此 QTL 的定位和克隆更加困难。尽快建立并完善甘薯耐寒性相关的直接形态鉴定指标,利用形态上的差异定位甘薯种质资源中与耐寒相关的 QTLs。着力改进作图群体,构建高密度甘薯分子遗传连锁图谱,加强 QTL 的精准定位和克隆,深入理解甘薯耐寒机理,进而推进分子标记辅助选择育种,加速甘薯耐寒种质资源的选育。

5.2 推进甘薯冷信号分子传导研究

植物受到低温胁迫后,首先感受到低温信号,之后发生一系列生理生化反应,进而调节相关基因的表达,产生低温抗性。目前,植物对冷信号的感应子所知甚少,一些推测的低温受体包括钙离子渗透通道、组氨酸激酶、受体激酶、磷酸酯酶、光合机构等^[35]。但甘薯低温胁迫信号响应及耐寒信号分子转导机理还没有深入研究。因此,今后可对甘薯低温胁迫下冷信号转导的整个过程及多个途径开展深入研究,进而从耐寒信号分子转导层面上揭示甘薯耐寒的本质。

5.3 深入开展利用基因工程技术加快甘薯耐冷分子育种的研究

基因工程技术能够有效避免将野生种中的不利性状引入栽培种,同时能够加强对其他物种中抗性位点的利用,为提高甘薯耐冷性创造了有利条件。近年来,突变体库的创建利用,转录组学及蛋白组学的广泛应用为植物耐冷相关基因的发掘和克隆提供了技术支撑。根据基因在逆境应答中的作用,可分为调控信号转导和下游逆境应答基因,如转录因子和蛋白激酶等及基因编码的蛋白直接参与抗逆应答。转录因子调控下游基因的表达,一直以来都是研究的热点。*CBF* 是冷驯化植物低温应答途径中的关键基因。下游的冷调节基因同样在植物耐冷研究中起重要作用,这类基因包含与抗氧化、脂类、碳水化合物、脯氨酸及多胺等代谢相关的酶、分子伴侣、胚胎发育、晚期富集蛋白、抗冻蛋白及其他一些渗透调节相关基因^[36]。因此深入开展基因工程在甘薯耐冷分子育种中的应用,采用多组学联合法,不断挖掘与甘薯耐寒相关的基因,进而通过遗传转化的方式,缩短获得甘薯耐冷种质资源的周期,加快甘薯耐冷分子育种的进程。

参考文献:

- [1] 陆淑韵,刘庆昌,李维基. 甘薯育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1998:19-29.
- [2] Bovell-Benjamin A C. Sweet potato: a review of its past, present, and future role in human nutrition[J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2007, 52: 1-59.
- [3] FAO. FAOSTAT[EB/OL]. [2021-10-15]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. 2019.
- [4] Liu Q C. Improvement for agronomically important traits by gene engineering in sweetpotato[J]. Breed Science, 2017, 67(1): 15-26.
- [5] Lebot V, Atherton J, Rees A. Section II. Sweetpotato; breeding and genetics[M]//Tropical root and tuber crops: cassava, sweetpotato, yams and aroids. Wallingford: CABI, 2008: 107-126.
- [6] Feng J Y, Li M, Zhao S, et al. Analysis of evolution and genetic diversity of sweetpotato and its related different polyploidy wild species *I. trifida* using RAD-seq[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 181.
- [7] Guy C. Molecular responses of plants to cold shock and cold acclimation[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 1999, 1(2): 231-242.
- [8] Okada Y, Kobayashi A, Tabuchi H, et al. Review of major sweetpotato pests in Japan, with information on resistance breeding programs[J]. Breeding Science, 2017, 67(1): 73-82.
- [9] Picha D. Chilling injury, respiration, and sugar changes in sweet potatoes stored at low temperature[J]. Journal of the American

- Society for Horticultural Science, 1987, 112: 497–502.
- [10] Pearce R S. Plant freezing and damage[J]. Annals of Botany, 2001, 87(4): 417–424.
 - [11] Porter W C, Pharr D M, Kijshman L J, et al. Discoloration of chilled sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] roots; factors related to cultivar differences[J]. Food Science, 1976, 41(4): 938–941.
 - [12] Ravi V, Aked J, Balagopalan C. Review on tropical root and tuber crops. I. Storage methods and quality changes[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1996, 36(7): 661–709.
 - [13] Xie Z Y, Zhou Z L, Li H M, et al. High throughput sequencing identifies chilling responsive genes in sweetpotato (*Ipomoea batatas* Lam.) during storage[J]. Genomics, 2019, 111(5): 1006–1017.
 - [14] Bolger M E, Arsova B, Usadel B. Plant genome and transcriptome annotations; from misconceptions to simple solutions[J]. Brief in Bioinformatics, 2018, 19(3): 437–449.
 - [15] 马仁罡, 孙健英, 李宗芸. 基于生物信息学的甘薯基因组学等研究进展[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(2): 531–538.
 - [16] Yang J, Moeinzadeh M H, Kuhl H, et al. Haplotype – re – solved sweet potato genome traces back its hexaploidization history[J]. Nat Plants, 2017, 3: 696.
 - [17] Ji C Y, Bian X F, Lee C J, et al. *De novo* transcriptome sequencing and gene expression profiling of sweet potato leaves during low temperature stress and recovery[J]. Gene, 2019, 700: 23–30.
 - [18] Ji C Y, Kim H S, Lee C J, et al. Comparative transcriptome profiling of tuberous roots of two sweetpotato lines with contrasting low temperature tolerance during storage[J]. Gene, 2020, 727: 144244.
 - [19] 赵晓飞. 甘薯冷诱导转录组测序及转录因子 SwDREB1B 在抗冷调节中的作用[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2015: 17–52.
 - [20] Yang Y, Guan S, Zhai H, et al. Development and evaluation of a storage root – bearing sweetpotato somatic hybrid between *Ipomoea batatas* (L.) Lam. and *I. triloba* L. [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2009, 99: 83–89.
 - [21] Lee C J, Park S U, Kim S E, et al. Overexpression of *IbLfp* in sweetpotato enhances the low temperature storage ability of tuberous roots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 167: 577–585.
 - [22] 赖先军, 张义正, 古英洪, 等. 转昆虫抗冻蛋白基因增强甘薯抗冻能力[J]. 植物学报, 2020, 55(1): 9–20.
 - [23] Ji C Y, Jin R, Xu Z, et al. Overexpression of *Arabidopsis* P3B increases heat and low temperature stress tolerance in transgenic sweetpotato[J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 139.
 - [24] Fan W J, Zhang M, Zhang H X, et al. Improved tolerance to various abiotic stresses in transgenic sweet potato (*Ipomoea batatas*) expressing spinach betaine aldehyde dehydrogenase [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37344.
 - [25] Kim Y H, Kim M D, Park S C, et al. SCOF – 1 – expressing transgenic sweetpotato plants show enhanced tolerance to low – temperature stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49(12): 1436–1441.
 - [26] Kim Y K, Lim S, Yang K S, et al. Expression of *Arabidopsis* NDPK2 increases antioxidant enzyme activities and enhances tolerance to multiple environmental stresses in transgenic sweetpotato plants [J]. Molecular Breeding, 2009, 24(3): 233–244.
 - [27] Chinnusamy V, Zhu J H, Zhu J K. Cold stress regulation of gene expression in plants[J]. Trends in Plant Science, 2007, 12(10): 444–451.
 - [28] Li S Y, Liu X A, Zhao L Z, et al. Overexpression of *IbSINA5* increases cold tolerance through a CBF SINA – COR mediated module in sweet potato [J]. Phyton – International Journal of Experimental Botany, 2021, 90(3): 761–772.
 - [29] Jin R, Kim B H, Ji C Y, et al. Overexpressing *IbCBF3* increases low temperature and drought stress tolerance in transgenic sweetpotato [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 118: 45–54.
 - [30] Song X W, Li Y, Cao X F, et al. MicroRNAs and their regulatory roles in plant – environment interactions[J]. Annual Review of Plant Biology, 2019, 70: 489–525.
 - [31] Yu J J, Su D, Yang D J, et al. Chilling and heat stress – induced physiological changes and MicroRNA – related mechanism in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 687.
 - [32] Xie Z Y, Wang A M, Li H M, et al. High throughput deep sequencing reveals the important roles of microRNAs during sweetpotato storage at chilling temperature[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 16578.
 - [33] 雷雪峰, 马爱生, 李海翠, 等. 8 种禾本科牧草低温胁迫的生理响应及抗寒性比较[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(9): 218–222.
 - [34] 马 猛, 闫 会, 李 强. 甘薯分子遗传图谱构建及 QTL 定位研究进展与展望[J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 2020, 38(4): 41–45.
 - [35] Solanke A U, Sharma M K, Tyagi A K, et al. Characterization and phylogenetic analysis of environmental stress – responsive SAP gene family encoding A20/AN1 zinc finger proteins in tomato [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2009, 282(2): 153–164.
 - [36] 刘 辉. 番茄耐寒种质低温胁迫下的转录组分析及相关基因功能鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 12–13.