

基于mRNA-Seq的沙漠植物花花柴干旱胁迫表达谱分析

王彦芹^{1,2}, 沈李丽^{1,3}, 罗来鑫³, 李健强³, 李志军^{1,2,*}

¹新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆阿拉尔843300

²塔里木大学生命科学学院, 新疆阿拉尔843300

³中国农业大学种子病理实验室, 北京100193

摘要:以抗逆性较强的荒漠植物花花柴为材料, 利用数字基因表达谱技术对用质量百分数20%的PEG溶液处理0、4、8、12和24 h后的花花柴幼苗的mRNA-Seq测序结果进行分析。结果表明, 花花柴幼苗叶部在不同处理时间均上调表达的基因有122个, 下调表达的基因54个, 根部在不同处理时间均上调表达的基因73个, 下调表达的基因79个。利用qRT-PCR和RT-PCR对可能与花花柴耐旱相关的6个差异表达基因进行了验证, 发现其表达模式与表达谱结果一致, 推测这些基因可能均与花花柴响应干旱胁迫相关。本研究为耐旱相关基因的发掘及应用提供了基础。

关键词: 沙漠植物; 花花柴; 干旱胁迫; mRNA-Seq; 耐旱相关基因

干旱胁迫是影响植物生长发育和限制作物产量的重要环境因子。干旱主要导致作物光合作用降低、呼吸作用加强; 有机物的运输减慢, 积累减少; 有机物质合成与分解的平衡遭到破坏(李培培2014), 最终导致农作物减产, 造成严重的经济损失。干旱对农业的影响已成为一个全球性的问题, 通过培育耐旱农作物新品种, 以增强农作物的耐旱性的研究具有重大意义。

随着测序技术的发展, 数字基因表达谱(digital gene expression profiling, DGE)已经广泛地应用于功能基因的发掘等生物学领域。通过DGE技术可以高效地检测出某个物种的基因在特定组织和特定状态下的表达情况(Jiang等2014)。该技术的优点是数字信号化分析提升了基因检测的准确性和灵敏度, 有助于发现表达量低的基因, 同时也具有操作简单、高速、经济等优势, 因此已经被广泛运用于生物和医学等多个研究领域(Qin和Zeevaart 1999)。

花花柴[*Karelinia caspica* (Pall.) Less]隶属于菊科花花柴属, 是我国西部干旱荒漠盐渍化环境中的广泛分布的多年生草本植物, 叶高度肉质化, 具有耐干旱、耐盐碱、耐高温、耐低温和抗病虫的广谱抗逆性特点(王彦芹等2017)。本研究以具耐旱优势的花花柴为材料, 通过高通量测序技术对干旱胁迫条件下花花柴幼苗的差异基因表达谱进行分析, 筛选出与耐旱相关的重要基因, 并初步分析预测其功能, 为进一步克隆与耐旱相关的基

因提供资源, 为利用植物基因工程手段改良植物抗旱性以及创造新的抗旱品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及干旱胁迫处理

试验所用的花花柴[*Karelinia caspica* (Pall.) Less]种子采自新疆阿拉尔市塔克拉玛干沙漠(40°32'N, 81°17'E)。选取大小均匀饱满的花花柴种子, 将其播种于 $V_{\text{营养土}}:V_{\text{蛭石}}=2:1$ 的混合基质中, 于(25±2) °C、16 h光照/8 h黑暗、光强为600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的温室中培养。待幼苗生长60 d时, 选取高15 cm左右大小均匀的花花柴幼苗进行干旱胁迫处理。

将幼苗移入1/2Hoagland培养液中缓苗2 d, 再将幼苗移入质量分数为20%的PEG-6000溶液中, 分别于胁迫处理0、4、8、12和24 h时取幼苗的叶和根器官, 叶器官分别编号为KcL0、KcL4、KcL8、KcL12、KcL24, 根器官分别编号为KcR0、KcR4、KcR8、KcR12、KcR24, 立即放入液氮中速冻, 后于-80°C保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 PEG-6000处理下花花柴幼苗表达谱测序

一部分样品用于提取RNA, 另一部分样品送华大基因公司进行RNA测序。

收稿 2018-01-16 修定 2018-04-17

资助 新疆生产建设兵团科技计划项目(2012BB045)和国家自然科学基金(31460071和31660085)。

* 通讯作者(lizhijun0202@126.com)。

1.2.2 测序结果的生物信息学分析

完成测序后,对测序结果评估,运用RPKM法分析不同样品间差异表达基因数量。

1.2.3 总RNA提取及反转录

RNA提取使用北京天根公司RNA prep pure Plant Kit;反转录试剂盒使用Promega的GoScript™ Reverse Transcription System。

1.2.4 花花柴耐旱相关基因的筛选及RT-PCR和qRT-PCR验证

本研究通过差异表达基因分析,对所选的6个候选基因利用qRT-PCR法进行表达模式的验证,RT-PCR使用Takara Ex Taq[®],利用Primer Premier 5

设计扩增引物(表1),并送往金斯瑞生物科技公司合成。

2 实验结果

2.1 测序结果与参考基因组比对结果分析

本研究对测得的Reads分析表明(表2),叶部对照样本Clean reads中44.67%可以注释到参考基因组(拟南芥)上,55.33%的Clean reads不能被参考基因组注释,干旱胁迫处理样本中Clean reads的注释情况类似。在可注释的reads中,叶器官对照样本13.14%,胁迫处理样本13.38%、14.54%、13.54%和13.23%可以与基因组高质量匹配;叶器官对照样

表1 花花柴qRT-PCR和RT-PCR引物序列

Table 1 Primer sequences of the qRT-PCR and RT-PCR using in *K. caspica*

基因名称	qRT-PCR引物序列(5'→3')	RT-PCR引物序列(5'→3')
<i>KcActin</i>	F: AGGTCACGACCAGCAAGATCA R: TGCTGGATTCTGGAGATGGTG	
<i>KcDCE1</i>	F: TCAAGAACACTGGCTGAACGG R: CCTTAGCAGGCAGCGTATCG	F: GGATGGGTGATTGGAGGAGC R: CAGCCGTTCCAGCCAGTGTTC
<i>KcMGL</i>	F: ACCGAAGCCCGTGCCAATA R: GGTGCTGCTACCCGAACAAGA	F: CATTTCCTTCCGAGATCATCCA R: CTAGCAGGCCACAAAACAGC
<i>KcNAC3</i>	F: CCCAATCTGTCTTTTCGCCTT R: AGTGCGGGGTATTGGAAAGC	F: CCCTTGGCTGATTCGGGAGATTAT R: GCACCTTTTGGACCACAATGGAACA
<i>KcNCED3</i>	F: GGTTCTTCCCAAGCGTTCC R: CGATGGTTCGGGCATCAA	F: ACGACGACCTCATCGGTTTCC R: TGATTTGCCTTATGAAGTGCCTGT
<i>KcP5CS1</i>	F: CATTGGACCTTCTTGCTTCCTT R: CTTTGAGTCTCGGCCTGACG	F: GCAGCATTACATCATCCACAA R: GATTCCAAGAGGCAGCAATAAACT
<i>KcGLGL4</i>	F: GAGTCCCTGCACCTCCACCC R: TGCTGACATTTGAGACGCCATA	F: TTTCTGCTTCTCCTGGTGT R: CAAGAACTTGGAGCTATTCAGTC

表2 干旱胁迫条件下花花柴样品测序结果与参考基因组比对的统计结果

Table 2 Statistical result of map to genome between mRNA-Seq result and reference gene

样品	匹配读数	高质量匹配	错配数	单一匹配	多位点匹配	未匹配总数
KcL0	10 857 628 (44.67%)	3 194 429 (13.14%)	7 663 199 (31.53%)	9 588 981 (39.45%)	1 268 647 (5.22%)	13 447 747 (55.33%)
KcL4	11 580 462 (47.22%)	3 282 312 (13.38%)	8 298 150 (33.84%)	9 679 778 (39.47%)	1 900 684 (7.75%)	12 943 600 (52.78%)
KcL8	10 813 523 (46.35%)	3 392 153 (14.54%)	7 421 370 (31.81%)	9 498 268 (40.71%)	1 315 255 (5.64%)	12 515 981 (53.65%)
KcL12	10 374 752 (42.14%)	3 332 784 (13.54%)	7 041 968 (28.60%)	9 146 861 (37.15%)	1 227 891 (4.99%)	14 246 205 (57.86%)
KcL24	11 131 730 (44.15%)	3 334 774 (13.23%)	7 796 956 (30.92%)	9 853 340 (39.08%)	1 278 390 (5.07%)	14 082 025 (55.85%)
KcR0	11 083 380 (45.83%)	3 231 681 (13.36%)	7 851 699 (32.46%)	9 862 696 (40.78%)	1 220 684 (5.05%)	13 102 392 (54.17%)
KcR4	12 185 083 (45.89%)	3 514 698 (13.24%)	8 670 385 (32.65%)	10 809 042 (40.71%)	1 376 041 (5.18%)	14 367 541 (54.11%)
KcR8	11 385 114 (45.22%)	3 292 496 (13.08%)	8 092 618 (32.14%)	10 116 992 (40.19%)	1 268 122 (5.04%)	13 790 298 (54.78%)
KcR12	11 965 929 (45.28%)	3 432 970 (12.99%)	8 532 959 (32.29%)	10 599 629 (40.11%)	1 366 300 (5.17%)	14 457 920 (54.72%)
KcR24	12 023 228 (45.46%)	3 506 585 (13.26%)	8 516 643 (32.20%)	10 656 883 (40.29%)	1 366 345 (5.17%)	14 424 660 (54.54%)

样品KcL0、4、8、12、24表示花花柴叶器官在PEG处理0、4、8、12、24 h时的样品, KcR0、4、8、12、24表示花花柴根器官在PEG处理0、4、8、12、24 h时的样品,图1和2同此;匹配读数、高质量匹配、错配数、单一匹配、多位点匹配、未匹配总数分别表示花花柴样品RNA测序结果所占参考基因组的百分数。

本31.53%, 胁迫处理样本33.84%、31.81%、28.60%和30.92%发生错配; 根部的样本情况与叶器官类似。另一方面, 多位点匹配到基因组的reads数所占比例较小(叶对照样本占5.22%, 胁迫处理样本分别占7.75%、5.64%、4.99%和5.07%), 单一匹配到基因组的reads所占比例较高(叶对照样本占39.45%, 胁迫处理样本分别占39.47%、40.71%、37.15%和39.08%), 根部的样本情况与叶器官类似。

2.2 差异表达基因统计

在生物信息学分析中, 将 $FDR \leq 0.001$ 且差异倍数不低于2倍的基因定义为差异表达基因。本研究统一将基因表达量标准化为RPKM值, 计算 P -value和FDR, 并根据该标准进行差异表达基因的筛选, 与对照组相比, 得到了在不同胁迫处理下上调和下调的基因个数(图1)。干旱处理不同时间差异表达基因数量不同: 相同器官中处理4 h和12 h差异表达的基因数远少于处理8 h和24 h的基因数, 如处理8 h的花花柴叶组织中上调基因644个, 下调基因322个, 而处理4 h的叶器官中其上调表达基因为344个, 下调表达基因仅为211个, 根器官中也是如此。在相同处理时间根和叶差异表达基因数远高于同一器官不同处理时间的差异表达基因数。

2.3 差异表达基因的分布特征

通过对花花柴干旱处理下mRNA-Seq结果分析, 在处理4、8、12和24 h条件下, 花花柴幼苗叶器官均表达的上调基因有122个, 下调基因有54个;

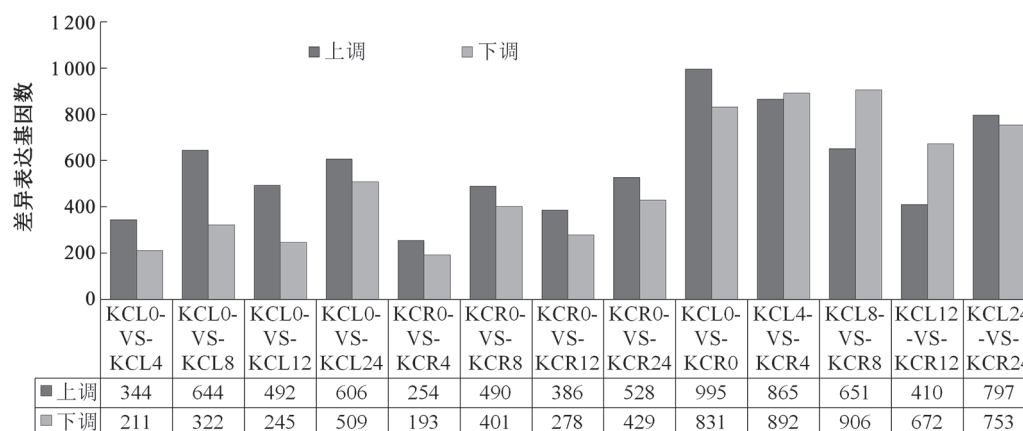
根器官均表达的上调基因有73个, 下调基因有79个(图2), 初步认为这些基因是对干旱胁迫均有响应的基因, 根据分析结果, 可能从中筛选出一些具有研究价值的差异表达基因进行下一步研究。

2.4 耐旱相关基因的筛选

结合表达谱分析结果及相关文献, 对花花柴表达谱中可能与干旱胁迫响应通路相关的基因进行简单统计, 结果如表2所示。其中存在一些其他植物中已经发现的与干旱胁迫调控相关的各类转录因子基因, 主要包括类胡萝卜素双加氧酶 $NCED3$ (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, $NCED$)、 $NAC3$ (NAC domain-containing protein, NAC)等。此外, 还发现了一些在干旱胁迫下表达量差异倍数较为显著基因, 其中包括葡萄糖-1-磷酸腺苷酸转移酶 $GLGL4$ (glucose-1-phosphate adenylyltransferase, $GLGL$)、甲硫氨酸 γ -裂解酶 MGL (methionine gamma-lyase, MGL)、 $\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶 $P5CS1$ ($\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthase, $P5CS1$)、谷氨酸脱羧酶 $DCE1$ (glutamate decarboxylase, DCE)。

2.5 耐旱相关基因qRT-PCR验证

本试验以测序用的RNA反转录合成的cDNA为模板, 用qRT-PCR方法检测筛选出的6个耐旱相关的差异表达基因(表3), 根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算出6个差异表达基因的相对表达量, 并通过与表达谱测序的结果进行对比(图3), 发现这6个基因中除了 $KcP5CS1$ 基因外, 其他5个基因在不同胁迫处理下的表达量



花花柴干旱处理不同时间样品的表达谱比较

图1 PEG处理不同时间点花花柴叶、根器官中差异表达基因统计结果

Fig.1 The statistical result of differentially expressed genes under different treat time using PEG in leaves and roots of *K. caspica*

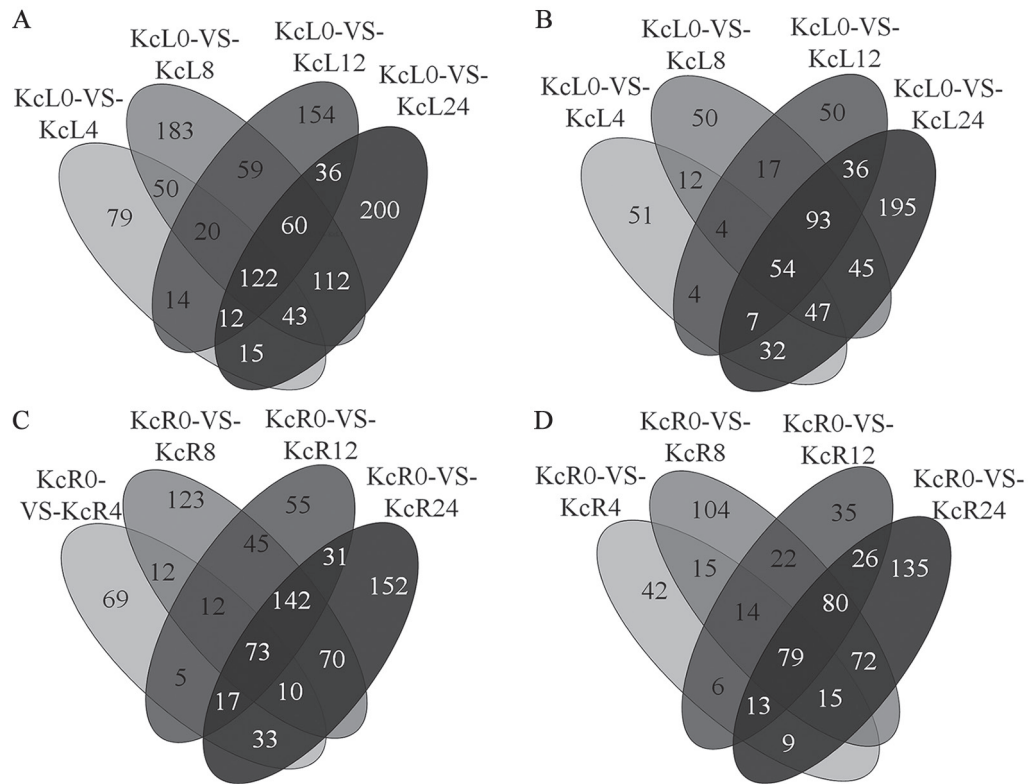


图2 PEG处理不同时间点花柴叶、根器官中差异表达基因分布图

Fig.2 Venn diagram of differentially expressed genes in leaves and roots of *K. caspica* treated with PEG for indicated time

A: 叶器官中PEG处理不同时间点时与对照相比的上调表达基因数; B: 叶器官中PEG处理不同时间点时与对照相比的下调表达基因数; C: 根器官中PEG处理不同时间点时与对照相比的上调表达基因数; D: 根器官中PEG处理不同时间点时与对照相比的下调表达基因数。

变化趋势与表达谱测序结果基本一致。

通过qRT-PCR分析结果可以看出, 这些基因的表达明显受干旱诱导, 且*KcDCE1*、*KcGLGL4*、*KcNCED3*在叶器官中的表达量明显高于根器官, 而*KcMGL*、*KcNAC3*基因在叶和根器官中表达量都较高。

2.6 耐旱相关基因的表达模式分析

通过对mRNA-Seq数据的分析, 对上述筛选出的6个差异表达的耐旱相关基因通过RT-PCR分析

其表达模式。发现这些基因的表达与qRT-PCR结果基本一致, 且大多基因的表达受干旱诱导; *KcNCED3*、*KcDCE1*、*KcGLGL4*、*KcMGL*在叶器官中表达量较高, *KcP5CSI*则在根器官中表达量较高, 但*KcNAC3*基因在叶器官和根器官中的表达量都相对较高(图4)。

3 讨论

干旱胁迫下, 植物通过调节自身的生物学机制来适应和抵抗环境胁迫, 以保证其正常的生命活动。本研究对干旱胁迫下花柴幼苗表达谱测序结果进行了生物信息分析, 分别在花柴成熟叶片和根中获得了一些与耐旱相关的基因, 并利用qRT-PCR和RT-PCR对mRNA-Seq结果和目标基因的表达模式进行了验证。通过对差异表达基因的总体分析, 发现花柴在干旱胁迫下差异表达主要集中在与细胞组分、细胞器、内膜相关的基因, 这与李余良等(2013)高温处理玉米的表达谱结

表3 干旱胁迫应答相关基因

Table 3 Drought stress response-related genes

基因编号	基因名称	功能
AT3G14440	<i>KcNCED3</i>	9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶
AT2G21590	<i>KcGLGL4</i>	葡萄糖-1-磷酸腺苷酸转移酶
AT1G64660	<i>KcMGL</i>	甲硫氨酸 γ -裂解酶
AT2G39800	<i>KcP5CSI</i>	Δ^1 -吡咯喹-5-羧酸合成酶
AT3G29035	<i>KcNAC3</i>	NAC转录因子3
AT5G17330	<i>KcDCE1</i>	谷氨酸脱羧酶1

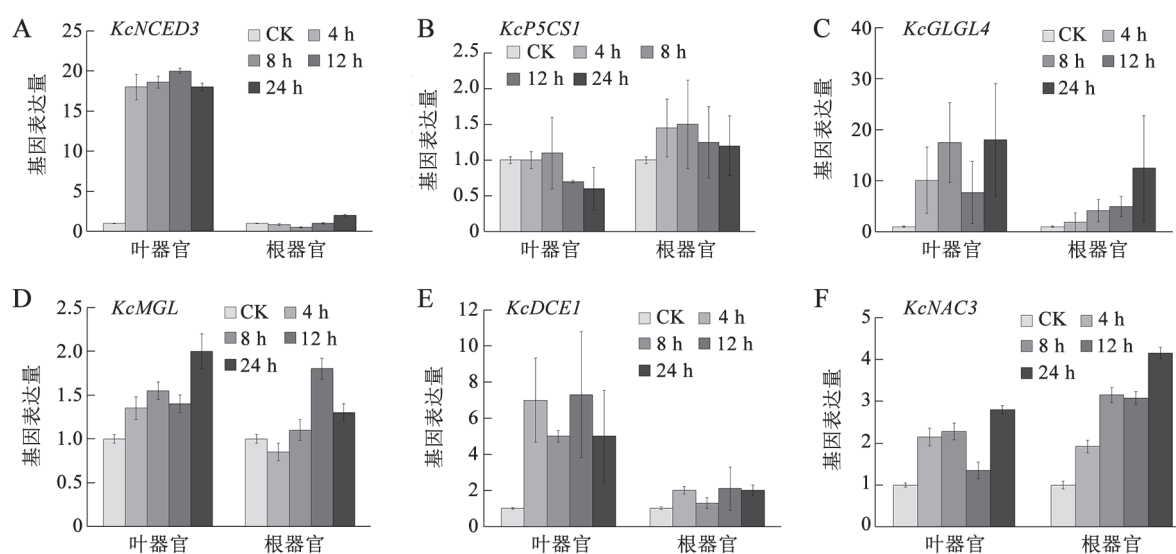


图3 六个差异表达基因的qRT-PCR验证结果

Fig.3 The result of 6 DEGs using quantitative real-time PCR

CK为对照,其余依次为20% PEG溶液处理4、8、12和24 h后的花花柴叶和根。

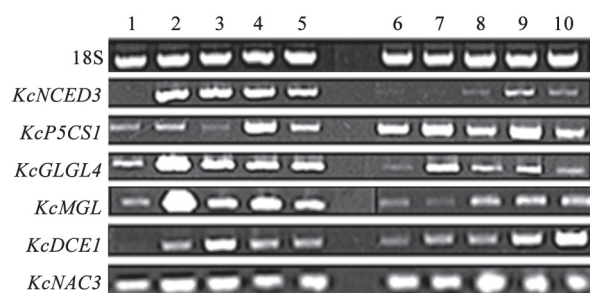


图4 耐旱相关基因的RT-PCR扩增结果

Fig.4 The RT-PCR product of drought stress response-related genes

1~5和6~10泳道分别为PEG处理0、4、8、12和24 h时叶器官和根器官的基因表达情况。

果一致。可能是由于花花柴长期生活在沙漠等高温、干旱地区,在自然条件下干旱常伴随高温同时出现,当遇到干旱胁迫时出现的应激反应。通过对差异表达基因分析,发现具有催化和结合活性、与转录调控相关的基因最为活跃,这可能是植物长期适应环境所致,体内一些代谢过程逐渐达到平衡,部分基因开始转录,合成植物生长所需的蛋白,这与陆海峰(2006)研究结果基本一致。生物过程方面,主要涉及应激反应、代谢过程、发育过程。

植物受到干旱等胁迫时,会引起包括转录水

平在内的一系列调控基因的表达,这类基因大多是调控因子。在花花柴干旱胁迫的表达谱分析中主要有*KcNAC3*和*KcNCED3*。NAC转录因子是植物体内特有的一类转录因子,它不仅参与调控植物的生长发育,而且在植物的抗逆反应中也具有重要的调控作用,如玉米的*ZmSNAC1*基因能显著增强转基因拟南芥的脱水耐性(Nakashima等2012),玉米的*ZmSNAC55*基因在拟南芥中超表达也可以提高其抗旱性(Mao等2016)。Liu等(2013a)将花生*AhNAC3*基因在烟草中超表达,发现转基因植株表现出超氧化物歧化酶(SOD)、 $\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5SC)、晚期胚胎发生丰富蛋白(late-embryogenesis-abundant protein, LEA)早期反应等4个功能基因上调,表明*AhNAC3*是通过增强超氧化物的清除和促进各种保护分子的积聚来提高耐旱性的脱水诱导转录因子。Pascual等(2015)对南欧海松*PpNAC2*和*PpNAC3*基因的研究发现这2个基因包含应激反应和植物激素调节等顺式作用元件,通过参与调控茉莉酸信号转导途径来提高植物的抗逆性。Jiang等(2014)对玫瑰*RhNAC3*基因的研究表明,NAC3转录因子主要是通过调控渗透调节相关基因来提高玫瑰花瓣的脱水耐受性。上述研究发现,植物的NAC转录因子具有多种功能,在植物生长发育、逆境胁迫应答和激素信号转导等过程中都具有重

要作用。NCED转录因子在植物的抗逆反应中也具有重要的调控作用,在苹果(Xia等2014)、烟草(Pedrosa等2017)等多种植物中的研究发现,NCED在植物体内以基因家族的形式存在,并且其表达量的变化与ABA含量的变化有直接的关系。NCED是ABA生物合成过程中的关键酶,因此,NCED转录因子主要是通过提高植物体内的ABA表达水平来增强其耐旱性。

此外,一些LEA相关基因的表达也受干旱的诱导。LEA蛋白是在种子成熟和发育阶段大量积累的一系列蛋白质,其广泛存在于高等植物中,且受发育阶段、ABA和脱水信号的调节,与植物的抗逆性密切相关。在花花柴干旱胁迫的表达谱分析中发现了*KcMGL*,该基因的表达明显受干旱诱导,该结论与Liu等(2013b)关于玉米ZmLEA3的研究结果报道一致。邹郁陶等(2015)对玉米胚胎发生后期丰富蛋白基因*MGL3*的启动子序列pMGL3进行了研究,发现pMGL3启动子含有ABRE、MBS、ARE、富含TC重复区等顺式作用元件。这些元件的响应逆境应答机制已有较多研究报道,如ABRE元件与干旱胁迫和ABA诱导(Hundertmark和Hinch 2008)、高盐胁迫(Li等2014)相关,MBS元件与干旱等多种非生物逆境胁迫(Gallo-Ebert等2013)有关,ARE元件与厌氧应答(Jiang等2013)相关。*P5CS1*被认为也具有耐旱性功能,李鸿雁和李大红(2014)将拟南芥的*P5CS1*基因在羽衣甘蓝中表达,发现可以增强其耐旱性。因此,通过上述研究表明,*MGL*基因的启动子存在多种与非生物逆境胁迫应答相关的调控元件,在干旱、高盐、低温等逆境胁迫和ABA等激素诱导下,驱动下游基因表达,从而提高植物的抗逆性。

参考文献(References)

- Gallo-Ebert C, Donigan M, Liu HY, et al (2013). The yeast anaerobic response element AR1b regulates aerobic antifungal drug-dependent sterol gene expression. *J Biol Chem*, 288 (49): 35466–35477
- Hundertmark M, Hinch DK (2008). LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 9: 118
- Jiang X, Zhang C, Lü P, et al (2014). RhNAC3, a stress-associated NAC transcription factor, has a role in dehydration tolerance through regulating osmotic stress-related genes in rose petals. *Plant Biotechnol J*, 12: 38–48
- Jiang Y, Xia B, Liang L, et al (2013). Molecular and analysis of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*LrPAL2*) from *Lycoris radiata*. *Mol Biol Rep*, 40: 2293–2300
- Li HY, Li DH (2014). Expression of *AtP5CS1* gene enhanced drought tolerance of transgenic *Brassica oleracea* plants. *Plant Physiol J*, 50 (7): 1009–1013 (in Chinese with English abstract) [李鸿雁, 李大红(2014). 转拟南芥*P5CS1*基因增强羽衣甘蓝的耐旱性. 植物生理学报, 50 (7): 1009–1013]
- Li PC, Yu SW, Shen J, et al (2014). The transcriptional response of apple alcohol acyltransferase (MdAAT2) to salicylic acid and ethylene is mediated through two apple MYB TFs in transgenic tobacco. *Plant Mol Biol*, 85 (6): 627–638
- Li PP (2014). Gene expression profile of maize seedling under PEG stress (dissertation). Shihezi, Xinjiang: Shehezi University (in Chinese with English abstract) [李培培(2014). 干旱胁迫对玉米幼苗表达谱影响(学位论文). 新疆石河子: 石河子大学]
- Li YL, Liu JH, Zheng JR, et al (2013). Gene expression profile of sweet corn ears under heat stress. *Acta Agron Sin*, 39 (2): 269–279 (in Chinese with English abstract) [李余良, 刘建华, 郑锦荣等(2013). 高温胁迫下甜玉米雌穗发育基因差异表达谱分析. 作物学报, 39 (2): 269–279]
- Liu X, Liu S, Wu JL, et al (2013a). Overexpression of *Arachis hypogaea NAC3* in tobacco enhances dehydration and drought tolerance by increasing superoxide scavenging. *Plant Physiol Biochem*, 70 (1): 354–359
- Liu Y, Wang L, Xing X, et al (2013b). ZmLEA3, a multifunctional group 3 LEA protein from maize (*Zea mays* L.), is involved in biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Physiol*, 54 (6): 944–959
- Lu HF (2006). Gene expression profile of maize under water deficit (dissertation). Nanning: Guangxi University (in Chinese with English abstract) [陆海峰(2006). 缺水胁迫下玉米基因表达谱分析(学位论文). 南宁: 广西大学]
- Pascual MB, Cánovas FM, Ávila C (2015). The NAC transcription factor family in maritime pine (*Pinus pinaster*): molecular regulation of two genes involved in stress responses. *BMC Plant Biol*, 15: 254
- Mao HD, Yu LJ, Han R, et al (2016). ZmNAC55, a maize stress-responsive NAC transcription factor, confers drought resistance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem*, 105: 55–66
- Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, et al (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta*, 1819 (7): 97–103
- Pedrosa AM, Cidade LC, Martins CPS, et al (2017). Effect of overexpression of citrus 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3 (*CsNCED3*) on the physiological response to

- drought stress in transgenic tobacco. *Genet Mol Res*, 16 (1): gmr16019292
- Qin XQ, Zeevaart JAD (1999). The 9-*cis*-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (26): 15354–15361
- Wang YQ, Shi XJ, Li ZJ (2017). An evaluation on heat tolerance of a desert plant *Karelinia caspica* seedlings. *Bio-technol Bull*, 33 (4): 157–163 (in Chinese with English abstract) [王彦芹, 石新建, 李志军(2017). 沙漠植物花花柴幼苗对高温耐受性评价. *生物技术通报*, 33 (4): 157–163]
- Xia H, Wu S, Ma FW (2014). Cloning and expression of two 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase genes during fruit development and under stress conditions from *Malus*. *Mol Biol Rep*, 41 (10): 6795–6802
- Zou YT, Liu X, Mu W, et al (2015). Cloning and functional validation of late embryogenesis abundant protein gene promoter from maize. *Acta Bot Boreal*, 35 (4): 653–661 (in Chinese with English abstract) [邹郁陶, 刘鑫, 牟巍等 (2015). 玉米胚胎发生后期丰富蛋白基因的启动子克隆与功能验证. *西北植物学报*, 35 (4): 653–661]

Analysis of expression profile in *Karelinia caspica* seedling under drought stress based on mRNA-Seq

WANG Yan-Qin^{1,2}, SHEN Li-Li^{1,3}, LUO Lai-Xin³, LI Jian-Qiang³, LI Zhi-Jun^{1,2,*}

¹The Xinjiang Production and Construction Corps Tarim Basin Key Laboratory of Biological Resources Protection, Alar, Xinjiang 843300, China

²College of Life Sciences, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China

³The Seed Pathology Laboratory of China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: In this study, the gene expression profile of *Karelinia caspica* seedling was used for analysis under treatment with 20% PEG at 0, 4, 8, 12, and 24 h through mRNA-Seq technology. The results indicated that there were 122 genes up-regulated and 54 genes down-regulated expression in the leaves, and 73 genes up-regulated and 79 genes down-regulated expression in the roots of *Karelinia caspica* seedling under different time treatments. And then, 6 genes with differential expression were tested by qRT-PCR and RT-PCR. The result showed that the expression pattern of these 6 genes were as same as the mRNA-Seq. It was inferred that these genes might be related with drought stress in *Karelinia caspica*. This research provides a basis for the exploration and application of drought related genes from *Karelinia caspica*.

Key words: desert plant; *Karelinia caspica*; drought stress; mRNA-Seq; drought-related genes

Received 2018-01-16 Accepted 2018-04-17

This work was supported by Xinjiang Production and Construction Corps Scientific and Technological Project (2012BB045) and the National Natural Science Foundation of China (31460071 and 31660085).

*Corresponding author (lizhijun0202@126.com).