

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 31 卷 第 11 期 Vol.31 No.11 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 11 期

2011 年 6 月 (半月刊)

目 次

微生物介导的碳氮循环过程对全球气候变化的响应·····	沈菊培, 贺纪正 (2957)
巢湖蓝藻水华形成原因探索及“优势种光合假说”·····	贾晓会, 施定基, 史绵红, 等 (2968)
我国甜菜夜蛾间歇性暴发的非均衡性循环波动·····	文礼章, 张友军, 朱 亮, 等 (2978)
庞泉沟自然保护区华北落叶松林的自组织特征映射网络分类与排序·····	张钦弟, 张金屯, 苏日古嘎, 等 (2990)
上海大莲湖湖滨带湿地的生态修复·····	吴 迪, 岳 峰, 罗祖奎, 等 (2999)
芦芽山典型植被土壤有机碳剖面分布特征及碳储量·····	武小钢, 郭晋平, 杨秀云, 等 (3009)
土壤微生物群落结构对中亚热带三种典型阔叶树种凋落物分解过程的响应·····	张圣喜, 陈法霖, 郑 华 (3020)
中亚热带几种针、阔叶树种凋落物混合分解对土壤微生物群落碳代谢多样性的影响·····	陈法霖, 郑 华, 阳柏苏, 等 (3027)
桂西北喀斯特峰丛洼地表层土壤养分时空分异特征·····	刘淑娟, 张 伟, 王克林, 等 (3036)
重金属 Cd 胁迫对红树蚬的抗氧化酶、消化酶活性和 MDA 含量的影响·····	赖廷和, 何斌源, 范航清, 等 (3044)
海南霸王岭天然次生林边缘效应下木质藤本与树木的关系·····	乌玉娜, 陶建平, 奚为民, 等 (3054)
半干旱黄土丘陵区不同人工植被恢复土壤水分的相对亏缺·····	杨 磊, 卫 伟, 莫保儒, 等 (3060)
季节性干旱对中亚热带人工林显热和潜热通量日变化的影响·····	贺有为, 王秋兵, 温学发, 等 (3069)
新疆古尔班通古特沙漠南缘多枝桉柳光合作用及水分利用的生态适应性·····	王珊珊, 陈 曦, 王 权, 等 (3082)
利用数字图像估测棉花叶面积指数·····	王方永, 王克如, 李少昆, 等 (3090)
野生大豆和栽培大豆光合机构对 NaCl 胁迫的不同响应·····	薛忠财, 高辉远, 柳 洁 (3101)
水磷耦合对小麦次生根特殊根毛形态与结构的影响·····	张 均, 贺德先, 段增强 (3110)
应用物种指示值法解析昆崙山植物群落类型和植物多样性·····	孙志强, 张星耀, 朱彦鹏, 等 (3120)
基于 MSIASM 方法的中国省级行政区体外能代谢分析·····	刘 晔, 耿 涌, 赵恒心 (3133)
不同生态区烟草的叶面腺毛基因表达·····	崔 红, 冀 浩, 杨惠娟, 等 (3143)
B 型烟粉虱对 23 种寄主植物适应度的评估和聚类分析·····	安新城, 郭 强, 胡琼波 (3150)
杀虫剂啉虫脒和毒死蜱对捕食蜘蛛血细胞 DNA 的损伤作用·····	李 锐, 李生才, 刘 佳 (3156)
杀真菌剂咪鲜安对蓼花臂尾轮虫的影响·····	李大命, 陆正和, 封 琦, 等 (3163)
长、短期连续孤雌生殖对蓼花臂尾轮虫生活史和遗传特征的影响·····	葛雅丽, 席貽龙 (3170)
专论与综述	
区域景观格局与地表水环境质量关系研究进展·····	赵 军, 杨 凯, 邵 俊, 等 (3180)
露水对植物的作用效应研究进展·····	叶有华, 彭少麟 (3190)
葡萄座腔菌科研究进展——鉴定, 系统发育学和分子生态学·····	程燕林, 梁 军, 吕 全, 等 (3197)
人工林生产力年龄效应及衰退机理研究进展·····	毛培利, 曹帮华, 田文侠, 等 (3208)
树木年轮在干扰历史重建中的应用·····	封晓辉, 程瑞梅, 肖文发, 等 (3215)
植物中逆境反应相关的 WRKY 转录因子研究进展·····	李 冉, 娄永根 (3223)
研究简报	
三江源地区高寒草原土壤微生物活性和微生物量·····	任佐华, 张于光, 李迪强, 等 (3232)
3 种黑杨无性系水分利用效率差异性分析及相关 <i>ERECTA</i> 基因的克隆与表达·····	郭 鹏, 夏新莉, 尹伟伦 (3239)
猕猴桃园节肢动物群落重建及主要类群的生态位·····	杜 超, 赵惠燕, 高欢欢, 等 (3246)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 298 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-06



封面图说: 盘锦市盘山县水稻田——盘锦市位于辽宁省西南部, 自古就有“鱼米之乡”的美称。这里地处温带大陆半湿润季风气候, 有适宜的温度条件和较长的生长期以供水稻生长发育, 农业以种植水稻为主, 年出口大米达 1 亿多公斤, 是国家级水稻高产创建示范区和重要的水稻产区。

彩图提供: 沈菊培博士 中国科学院生态环境研究中心 E-mail: jpshe@reccs.ac.cn

不同生态区烟草的叶面腺毛基因表达

崔红^{1,*}, 冀浩¹, 杨惠娟¹, 肖炳光², 曾建敏², 邓云龙²

(1. 河南农业大学烟草学院 烟草行业栽培重点实验室, 郑州 450002; 2. 云南省烟草农业科学研究院, 玉溪 653100)

摘要: 利用 cDNA 芯片技术, 对同一烟草品种 (*Nicotiana tabacum* L. cv. K326)、不同生态区 (典型的浓香型烟区-河南平顶山, 典型的清香型烟区-云南玉溪)、同一叶位 (中部叶)、相同叶龄 (60 d) 的叶片腺毛基因表达谱进行了比较研究, 共发现有效差异表达基因 445 个。其中, 与光合色素代谢、光合作用以及类萜生物合成相关基因在河南烟叶腺毛中高表达, 与碳水化合物、蛋白质分解代谢过程相关的基因在云南烟叶腺毛中高表达; 防御过程相关基因在两生态区均有高表达。该结果表明, 烟草叶面腺毛的基因表达水平受到生态因素的调控, 生态因素有可能通过影响腺毛的物质代谢和分泌, 从而对烟叶风格形成产生一定的影响。

关键词: 烟草; 腺毛; 基因表达; 芯片; 生态区

Comparative gene expression analysis for leaf trichomes of tobacco grown in two different regions in China

CUI Hong^{1,*}, JI Hao¹, YANG Huijuan¹, XIAO Bingguang², ZENG Jianmin², DENG Yunlong²

1 Key Laboratory for Cultivation of Tobacco Industry, College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

2 Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Science, Yuxi 653100, China

Abstract: Leaf trichomes are a very important morphological feature of tobacco plants and the metabolisms in these cells are associated with leaf quality and plant defense against pathogens and insects. However, effects of growth ecology regions on the gene expression in tobacco leaf trichomes have not been investigated in China. In this report, we characterize gene expression profiles in leaf trichomes of the most commonly commercial tobacco cultivar K326 (*Nicotiana tabacum* L. cv. K326) grown in two main growth areas in China: Pingdingshan county in Henan Province, which is famous for producing strong aroma style leaf tobacco, and Yuxi County in Yunnan Province, which is famous for producing mild aroma style leaf tobacco. Tobacco plants were cultivated according to the farming practice implemented routinely in the two different localities in 2009. To characterize gene expression of leaf trichomes of tobacco growing in different ecological regions, cDNA microarray analysis was performed between trichomes of the same variety. Trichomes were collected from leaves through frozen brush way at the same position (9–11th), at the same development stage (60 d). Total RNA samples were isolated from trichomes and treated with DNase to remove potential contamination of genomic DNA. The first strand cDNA was synthesized with a reverse-transcription. A 2831-EST database was established by trichome cDNA library sequencing in previous research. The 2831 trichome cDNAs were amplified by PCR technology and spotted on glass microscope slides to obtain cDNA chips for hybridization and microarray analysis. Trichome RNA samples from two different areas were prepared for labeling of the cDNA (Cy3 versus Cy5). In the first experiment, samples from Henan was labeled with Cy3 and samples from Yunnan was labeled with Cy5, and in the second experiment, labeling was reversed. Hybridization and microarray analysis were completed by following the protocol provided by Shanghai Boxing Gene Chips, Inc. The results showed that 445 genes were differentially expressed (with ratio values ≥ 2 or ≤ 0.5) between samples in the two areas. We observed that among these genes, the expression levels of 205 ones in samples from Henan Province were higher than in those from Yunnan Province. On the other hand, the expression levels of 240 genes in samples from Yunnan Province were

基金项目: 国家烟草专卖局科技项目 (110200902045); 云南省烟草局科技项目资助 (08A08)

收稿日期: 2010-01-07; **修订日期:** 2011-01-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: cuihong_13@163.com

higher than in those from Hunan Province. Functional analysis and gene clustering of those differentially expressed genes were molecularly characterized. The resulting data showed that genes involved in photosynthesis, carbohydrate biosynthesis, and terpenoid biosynthesis were expressed at higher levels in samples from Henan Province than in samples from Yunnan Province. In contrast, certain genes involved in carbohydrate and protein catabolism were expressed at higher levels in samples from in Yunnan Province than in those from Henan Province. Besides, these data showed that certain genes involved in resistance and defense were differentially expressed in samples from the two regions, likely indicating their different responses to two specific growth environmental circumstances. These observations imply that these differential gene expression profiles are likely associated with leaf aroma and thus are of significance in tobacco agriculture.

Key Words: *Nicotiana tabacum*; tobacco; trichome; cDNA microarray; gene expression; ecological region

烟草叶面腺毛丰富且具有较强的分泌能力。烤烟腺毛分泌物主要成分为西柏烷类化合物,占叶面化学成分 60% 左右^[1]。在调制过程中,西柏烷类化合物降解产生茄酮、茄醇和降茄二酮等多种香味成分,对烟叶香气品质和风味形成具有积极影响^[2]。长期以来,关于烟草腺毛生长发育、分泌及其与烟叶品质关系的研究颇受关注。人们发现,具有分泌型腺毛和非分泌型腺毛的烟草品种之间,在叶面化学成份、风味、烟气质量等方面表现出显著差异^[3]。Severson 等报道,氮供给、水分胁迫、机械伤害、光强和光质以及栽培措施都会对叶面分泌物的含量和组分产生影响^[4]。最近,Harada 等^[5]利用 cDNA 文库随机测序技术研究了重金属对烟草腺毛基因表达谱的影响,发现了镉处理可导致一系列逆境相关基因在烟草腺毛中的优势表达。除了对单因子的关注外,人们试图将整个生态区作为一个综合因素,阐明其对腺毛发育、代谢,以及烟叶品质的影响。Heeman^[6]等曾报道,分别种植在美国北卡 Oxford 和 Tifton 两地区的烟草品种 NC2326,其腺毛分泌物中西柏三烯二醇和蔗糖酯含量相差 3—4 倍,而非腺毛产生的烃类含量差异很小。高致明等曾报道我国云南香料烟腺毛密度远远大于新疆香料烟,烟叶的质量风格也有很大不同^[7]。而从分子水平探讨生态环境对烟草腺毛发育和代谢影响机理的研究,还未见报道。

我国地域辽阔,生态环境多样。在长期的烟叶生产实践中,形成了以河南、安徽等地为代表的浓香型特色,以及以云南、贵州为代表的清香型特色^[8]。为探讨烟叶香气风格的形成机理,人们在叶片发育规律、物质代谢规律进行了深入研究。而腺毛作为叶面化学物质的主要来源,长期以来并未引起应有的重视。本研究以分别种植在河南平顶山和云南玉溪的栽培品种 K326 为材料,采用芯片技术对河南和云南烟草腺毛基因表达谱的差异进行了比较研究,旨在转录组学水平上探索生态因素对烟草腺毛物质代谢的影响及其与烟叶风格形成的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

选用烟草品种 K326,分别种植于河南平顶山和云南玉溪,按当地常规栽培措施进行管理。选取叶龄为 60d(叶长 2 cm 为第 1 天)的中部叶片(9—11 叶位),参照冻刷法^[9]刷取烟草腺毛组织,液氮中存储备用。

1.2 烟草腺毛 cDNA 芯片的制备和杂交

以 K326 叶面腺毛为材料,构建了烟草腺毛全长 cDNA 文库^[10]。对该文库进行随机测序,得到的 5139 条有效 EST 序列。按照 ≥ 500 bp,90% 的原则归并后,得到 2831 条 Unigene。将对应克隆挑出,以 T3 和 T7 为引物进行 PCR 扩增,纯化后(QIAquick 96 PCR Purification Kit, Qiagen)点制芯片,每个克隆在同一个基片不同位置重复点样 3 次,以烟草 *actin* 基因做阳性对照,人基因做阴性对照,基片质检合格后放 4 °C 保存备用。

采用 RNeasy Plant mini kit (Qiagen, German)试剂盒提取腺毛总 RNA。逆转录标记 cDNA 探针并纯化,在一链合成中掺入荧光标记 dCTP,用 Cy5-dCTP 标记河南烟草腺毛样品,Cy3-dCTP 标记云南烟草腺毛样品,同时进行反标。DNA 纯化后真空抽干,备用。在抽干的探针管中加 6.5 μ L 杂交试剂 I,充分混匀,使探针溶解。再加入 6.5 μ L 杂交试剂 II,置于 95 °C 水浴中变性 2min,将探针加在已预杂交的烟草腺毛基因芯片上,盖

玻片封片,42 ℃ 杂交 18 h。分别用 0.1% xSSC+0.2% SDS,0.1% xSSC 洗涤 10 min,室温晾干。芯片制作和杂交在上海博兴基因芯片公司完成。

1.2.2 检测与分析

芯片用 ScanArray4000 激光扫描仪进行扫描。采用 GenePix Pro 3.0 图像分析软件(Axon Instruments 公司)对芯片图像进行分析,芯片杂交扫描后,用分析软件对芯片所获得的原始信号进行整体校准和数据均一化处理。均一化处理依据以下 2 个原则筛选有效基因点:第一,该基因点的 Cy3、Cy5 信号值皆大于 200,或者其中之一大于 800;第二,该基因点的 Ratio 值在 0.1—10 之间,然后求出 $r = \ln(\text{Ratio})$,再算出全部有效基因点 r 的平均值 R ,试验的均一化系数就等于 R 的倒数即 $\text{EXP}(R)$ 。所有基因点的 Cy3 信号值乘上均一化系数,得出调整后的 Cy3^* ,计算每个基因点在本试验中的表达差异值 $\text{Ratio} = \text{Cy5}/\text{Cy3}^*$, $\text{Ratio} \geq 2.0$ 为上调表达, $\text{Ratio} \leq 0.5$ 为下调表达,由此筛选出差异表达基因。

1.2.3 生物信息学分析

查阅 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)以及 Gene Ontology Database(<http://amigo.geneontology.org/>),WEGO(<http://wego.genomics.org/>)等网站对差异表达基因进行功能解析。

2 结果与分析

2.1 芯片杂交及数据分析

由于气候因素的影响,不同生态区烟苗移栽期各不相同。为保证材料的可比性,在河南和云南典型生态区,分别选择叶龄为 60 d 的 K326 中部叶片为材料收集叶面腺毛。此时,腺毛结构发育成熟,细胞质浓厚,物质代谢旺盛(图 1A),有利于进行腺毛分离和分析。采用冻刷法分别收集两生态区的叶面腺毛提取其总 RNA,图 1B 表明腺毛 RNA 无降解,满足芯片分析的要求。

采用自制的 cDNA 芯片对分别来源于云南和河南的烟草腺毛 RNA 进行杂交试验。为了提高试验数据的准确性,减少系统误差,每个样品 3 次重复点样,并采取正反标的方法进行标记。杂交后两张芯片的均一化系

数分别为 0.8756、1.1907,对正标的所有有效点的 $\ln(\text{ratio})$ 值和反标的所有有效点的 $\ln(1/\text{ratio})$ 进行相关系数分析,相关系数(CORREL)达到 0.901662。芯片正、反标扫描图及相关系数散点图如图 2A、B、C 所示。在正标中,云南玉溪上调的基因有 288 个,河南上调的基因有 279 个。反标试验中,云南玉溪上调的基因有 325 个,河南上调的基因有 281 个。正、反标同时具有的表达差异基因有 445 个,其中河南上调的有 205 个,云南玉溪上调的有 240 个,且正反标中共同差异基因中方向均为一致,一致率(consistence rate, CR)为 100%,说明两次试验的重复性较强(图 2D)。

2.2 差异表达基因的功能分类

通过 gene ontology(<http://amigo.geneontology.org/>)对 205 个河南上调基因和 240 个云南上调基因分别进行功能注释,在河南上调基因中,26.2% 为功能未知基因,云南上调基因中,35.2% 为功能未知基因。按照它们所参与的生物过程进行了初步分类(图 3)。结果发现,在差异表达基因中,与代谢、转运、抗逆反应和信号转导过程相关基因占有较大比例,而生长和发育相关基因所占比例甚小。其中,与光合作用、碳代谢、蛋白质代谢、类萜类生物合成、生物碱以及吡啶化合物代谢过程相关的基因,在河南和云南烟草腺毛中的表达水平差异比较明显。

2.3 重要代谢途径分析

从差异表达基因中筛选部分生物学意义较为显著的基因(表 1),对其所在代谢途径进行重点分析。

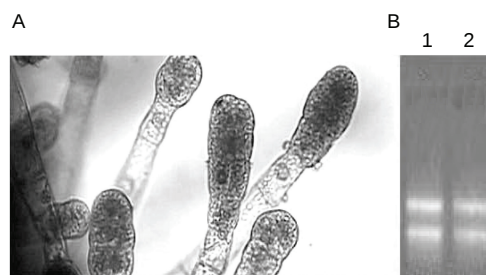


图 1 烟草叶面腺毛

Fig. 1 Leaf trichomes of tobacco

A. 烟草叶面腺毛显微观察($\times 400$); B. 腺毛总 RNA 电泳图;1 河南, 2 云南

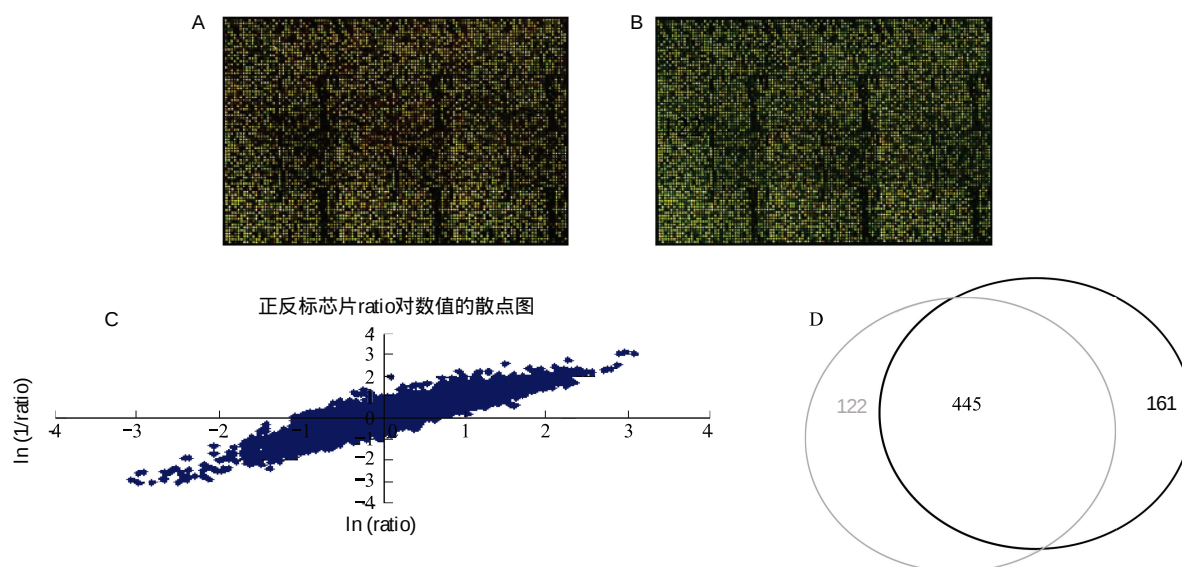


图2 不同生态区烟草腺毛基因差异表达的芯片扫描图及散点图

Fig. 2 Scatterplot of gene expression profiles in tobacco trichome of different ecological regions

A: 芯片扫描图, Cy5 标记河南样品, Cy3 标记云南样品; B: 芯片扫描图, Cy3 标记河南样品, Cy5 标记云南样品; C: 正反标散点图; D: 差异表达基因分布示意图, 正反标中共有 445 个共同差异基因

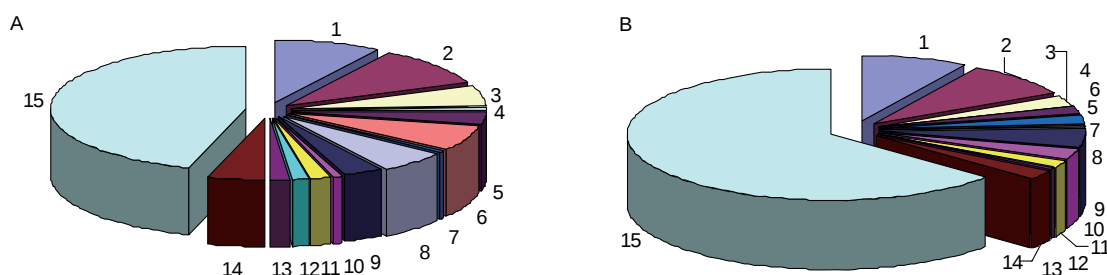


图3 差异基因的功能分类

Fig. 3 Gene Ontology classifications of differentially expressed trichome genes

A: 河南烟叶腺毛中高表达基因功能分类; B: 河南烟叶腺毛中高表达基因功能分类; 1: 逆境响应 (a: 8.8.7%, b: 9.2%), 2: 转运 (a: 10.2%, b: 8.8%), 3: 信号转导 (a: 5.4%, b: 2.9%), 4: 生长 (a: 1%, b: 0), 5: 发育 (a: 2.9%, b: 1.7%), 6: 光合作用 (a: 6.8%, b: 0), 7: 细胞壁大分子分解过程 (a: 0.5%, b: 2.1%), 8: 碳水化合物合成代谢 (a: 5.4%, b: 0.4%), 9: 碳水化合物分解代谢 (a: 3.4%, b: 4.6%), 10: 蛋白质降解 (a: 1%, b: 2.9%), 11: 脂质体合成代谢 (a: 1.5%, b: 1.7%), 12: 类萜化合物合成代谢 (a: 1.5%, b: 0), 13: 烟碱代谢 (a: 1.5% b: 0.4%), 14: 吡啶生物碱代谢 (a: 4.9%, b: 2.5%), 15: 其它 (包括功能未知) (a: 45.2%, b: 62.8%)

光合作用与初生代谢在两生态区叶片腺毛差异表达的基因中,与光合色素代谢相关基因多在河南生态区高表达,如叶绿体色素结合蛋白(017E09、050C05)、叶绿体核糖体蛋白(048A07)、光照诱导叶绿素荧光蛋白(061B09)、叶绿体噻唑生物合成蛋白(001A08)等;克隆序列 002A06 编码叶绿体前体 b6-f 复杂色素铁硫 2 亚基基因序列,054C10 编码叶绿体前体 DAG 蛋白,二者被认为与叶绿体的早期分化和形态建成有关^[11],且都在云南腺毛中高表达。差异基因中 14 个与光合作用相关基因,包括 8 个光反应相关和 6 个暗反应相关,皆在河南烟区腺毛中高表达。如编码光系统 II 蛋白(035H03)、ATP 酶相关(007D07)、碳固定相关(043E09, 023H11)等基因。初生代谢基因在差异基因中所占比例较大。虽然,在两生态区高表达的基因中,与碳代谢相关的基因数目相当,但是碳水化合物合成代谢相关基因多在河南腺毛中高表达,碳水化合物分解代谢基因则在云南腺毛中高表达;而且,蛋白质分解代谢相关基因在云南腺毛中比例也较高。依此推测,在叶龄 60 d

时,河南烟区烟草中部叶片腺毛叶绿体中光合作用和物质合成更为旺盛,而云南烟区中部叶片叶面腺毛中物质分解比较活跃。

表 1 部分腺毛差异表达基因
Table 1 Partial differentially expressed trichome genes

克隆号 Clone ID	比值 Ratio		基因登录号 Accession No.	功能描述 Function Description	E
	Y/H	H/Y			
叶绿体发育和叶绿素生物合成 Chloroplast development and chlorophyll biosynthesis					
017E09	0.461	2.219	gi 100801744 emb CAK24966.1	叶绿素 a/b 结合蛋白	9×10 ⁻⁵⁴
029B08	0.449	2.276	gi 110377766 gb ABG7341.1	叶绿体色素结合蛋白 CP29	6×10 ⁻⁹⁰
061B09	0.316	2.770	gi 114149950 gb ABI51594.1	光诱导叶绿素荧光蛋白	6×10 ⁻⁶²
002A06	3.449	0.402	gi 401249 sp Q02585	叶绿体前体蛋白	3×10 ⁻¹⁹
054C10	2.574	0.469	gi 6014904 sp Q38732	叶绿体前体 DAG	3×10 ⁻⁵⁹
光合作用和碳代谢 Photosynthesis and carbon metabolism					
007D07	0.071	14.110	gi 1421799 gb AAB03873.1	F1-ATP 酶 α 亚基	4×10 ⁻²⁰
035H03	0.190	5.457	gi 50250357 emb CAF28621	PSII 10KDa 磷蛋白	1×10 ⁻¹⁹
043E09	0.361	2.720	gi 4585576 gb AAD25541.1 AF134051_1	果糖-1,6-二磷酸前体	5×10 ⁻⁶⁹
023H11	0.182	6.550	gi 112408794 gb ABI179501	二磷酸核酮糖羧化/加氧酶大亚基	8×10 ⁻²⁰
类萜代谢 Terpene metabolism					
007E02	0.322	3.520	gi 15224494 ref NP_1813701	PRA1 家族蛋白	3×10 ⁻⁵⁵
043B12	0.416	2.492	gi 46487040 gb AY528645.1	类萜环化酶	6×10 ⁻³⁶
020B07	0.250	4.662	gi 1545805 dbj BAA10929.1	细胞色素 P450	1×10 ⁻²⁴
逆境响应 Stress response					
001D05	0.245	4.787	gi 170337 gb AAA34119.1	水杨酸诱导抗性蛋白	6×10 ⁻³¹
050C03	0.234	5.226	gi 115455579 ref NP_001051390.1	冷适应蛋白	1×10 ⁻⁵⁴
009C04	6.074	0.252	gi 1773291 gb AAC14577.1	热激蛋白 Le-HSP17.6	1×10 ⁻⁷⁶
002H12	7.920	0.146	gi 121663827 dbj BAF44533.1	几丁质酶 IV	3×10 ⁻⁴²

类萜代谢 次生代谢基因在差异基因中所占比例较小。类萜代谢、生物碱代谢以及吡啶化合物代谢过程相关基因多在河南高表达。克隆号分别为 043B12、007E02、020B07 的 3 个序列,都与萜类生物合成相关,它们在河南的表达量都显著高于云南。043B12 与萜类合成酶家族蛋白高度同源,这类蛋白的共同特点是都包含 10—12 个反向平行的特定的结构域;007E02 与异戊二烯基受体家族蛋白相匹配,具有异戊烯基转移酶活性。至于这两个多肽具体编码哪一类萜类化合物合成相关的酶类,还有待进一步研究。克隆 020B07 与烟草 P450 脱氢酶基因 *CYP71D16* 高度同源,该酶在腺毛中特异表达,参与二萜物质——西柏烷类化合物的合成^[12]。西柏烷类化合物是烟草腺毛分泌物的重要成分,该序列在河南腺毛中的高达,表明河南烟叶腺毛中萜类代谢和物质分泌比较旺盛。

抗逆 在河南和云南烟草腺毛差异表达的基因中,有相当一部分编码植物防御过程相关蛋白。水杨酸/草花叶病毒诱导系统抗性反应蛋白(001D05)在河南表达显著上调,与河南烟区病毒病猖獗不无关联;几丁质酶类基因在云南生态区表达普遍较高(如:016F06、003A03、002H12),表明云南烟叶所面临的真菌病威胁更为严峻。另外,还发现一些编码与温度、光、激素、水分等胁迫相关的蛋白在两生态区差异表达。如寒冷适应蛋白 WCOR413 类似蛋白(050C03)在河南高表达,class II 热激蛋白(009C04)在云南高表达,这与各自所处的病源环境密切相关。

3 讨论

河南烟区和云南烟区在光、热条件、年降雨量、土壤类型和地形地貌等方面都存在较大差异,导致同一品种烟叶在两地区具有迥异的风格特色。河南烟叶和云南烟叶是我国两大特色烟叶——浓香型风格和清香型风格的典型代表,而对其风格形成的机理仍知之甚少。本文对两生态区相同品种、相同叶位、相同发叶龄叶片

腺毛基因表达的比较研究,有助于理解生态环境对腺毛发育及物质代谢的影响,及其与烟叶风格形成之间的内在联系。

叶龄 60 d 的中部叶片处于生理成熟期,叶面腺毛已发育完成,物质代谢和分泌旺盛。此时,河南和云南烟区叶面腺毛中基因的表达差异主要集中在光合作用和初生代谢方面。在河南烟区,烟草叶面腺毛中光合色素合成、电子传递、碳固定等光合作用相关基因表达异常活跃。这可能与此时河南烟区 7 月中上旬强光、高热、少雨,而云南烟区此时相对低温、多雨的气候特征有关。叶绿体前体发育相关基因在云南的高表达,推测与腺毛的二次发育有关^[13],这有待于形态结构学方面的研究予以证实。腺毛通常作为一种特化的防御器官,在许多植物种类中,其光合作用功能业已退化,如薄荷的分泌腺毛中叶绿体发育停滞在白色体阶段^[14],薄荷腺毛 cDNA 测序中,与光合色素和光合作用相关序列完全缺失^[15]。烟草腺毛中叶绿体数目繁多,其结构和叶绿素含量受到腺毛发育过程^[16]、水分胁迫^[17]以及肥料^[18]等因素的影响。Harada 等在对镉胁迫对烟草腺毛基因表达的影响研究中,发现了大量的光合作用相关序列,初生代谢在腺毛种极其活跃^[6]。在对烟草腺毛 cDNA 文库测序中所获得的最大的 contig 与 RuBisCO 编码序列高度同源。

在无叶绿体的薄荷腺毛即可以进行正常的类萜物质合成和分泌的情况下,关于烟草腺毛光合作用的意义引起了兴趣。人们推测,烟草腺毛分泌物生物合成和分泌过程所需的前体物质和能源,部分或全部由自身的光合作用提供。研究发现,光合作用和初生代谢活跃的河南腺毛中,萜类代谢合成相关的基因的表达量都显著高于云南,说明河南烟叶腺毛的萜类代谢较为活跃。这一结果与河南烟叶化学成分中,二萜化合物-西柏烷类化合物及其降解产物-茄酮含量普遍较高相符^[19]。由此推测,河南的生态条件有利于烟草腺毛结构发育、光合色素合成,以及光合作用的进行,从而为次生代谢提供了充足的前体物质和能量,有利于类萜化合物的合成和分泌,导致两生态区烟草叶面化学成分的差异,从而对烟叶风格产生一定影响。当然,这还需要在两生态区烟叶腺毛组织结构、生理生化等方面的比较研究中加以证实。

关于烟叶腺毛在抵御生物、非生物侵袭方面的重要作用已得到公认。在河南和云南差异表达的基因中,相当一部分涉及植物的防御过程。这些基因的表达强弱主要与所处的特殊病原环境有关。气候因素、物理刺激、病原微生物种类和数量等差异,会诱发烟草腺毛不同的抗病、抗逆机制,并在转录水平上得以体现。总之,生态条件作为综合的影响因素,对烟草叶面腺毛的影响是及其复杂的。除上所述,两生态区差异表达的基因还涉及到烟草生物过程的许多方面。要完全解析这些差异,目前仍存在很多困难。尤其是与烟草相关的序列信息和功能注释还很缺乏,影响了分析的深度和广度。当然,随着烟草基因组测序及全基因组芯片的开发和应用,对烟草腺毛的基因表达规律及其对环境因子的响应模式将会逐渐清晰,对腺毛发育和物质代谢的有效调控也终将实现。

References:

- [1] Roberts D L, Rowland R L. Macrocyclic diterpenes α and β -4, 8, 13-duvatriene-1, 3-diols from tobacco. *Journal of Organic Chemistry*, 1962, 27: 398-392.
- [2] Shi H Z, Liu G S. Tobacco Flavor. Beijing: China Agricultural Press, 1998: 144-166.
- [3] Weeks W W, Sisson V A, Chaplin J F. Differences in aroma, chemistry, solubilities, and smoking quality of cured flue-cured tobaccos with aglandular and glandular trichomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(10): 1911-1916.
- [4] Severson R F, Johnson A W, Jackson D M. Cuticular constituents of tobacco: factors affecting their production and their role in insect and disease resistance and smoke quality. *Recent advances in Tobacco Science*, 1985, 11: 105-174.
- [5] Heemann V, Brümmer U, Paulsen C, Seehofer F. Composition of the leaf surface gum of some *Nicotiana* species and *Nicotiana tabacum* cultivars. *Phytochemistry*, 1983, 22(1): 133-135.
- [6] Harada E, Kim J A, Meyer A J, Hell R, Clemens S, Choi Y E. Expression profiling of tobacco leaf trichomes identifies gene for biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Physiology*, 2010, 51(10): 1627-1637.
- [7] Gao Z M, Liu G S, Fu Y P, Zhang G X. A study on the glandular trichomes and their secretory cells in the leaves of aromatic tobacco plants. *Journal of Henan Agricultural University*, 1996, 30(4): 329-332, 346-346.

- [8] Tang Y J. Formation and development of tobacco with characteristic. Chinese Tobacco Science, 2004, 25(1): 10-13.
- [9] Wagner G J, Wang E, Shepherd R W. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. Annals of Botany, 2004, 93(1): 3-11.
- [10] Cui H, Ji H, Zhang H, Chen L. Construction of Full-length cDNA library from trichomes of *Nicotina tabacum*. Journal of Xiamen University (Natural Sciences Edition), 2006, 45(6): 859-862.
- [11] Chatterjee M, Sparvoli S, Edmunds C, Garosi P, Findlay K, Martin C. DAG, a gene required for chloroplast differentiation and palisade development in *Antirrhinum majus*. The EMBO Journal, 1996, 15(16): 4194-4207.
- [12] Wang E, Wang R, DeParasis J, Loughrin J H, Gan S, Wagner G J. Suppression of a P450 hydroxylase gene in plant trichome glands enhances natural-product-based aphid resistance. Nature Biotechnology, 2001, 19(4): 371-374.
- [13] Shi X D, Yang H L, Gao Z M, Duan Z Q, Sun J H, Liu G S. Observation of trichomes on developing flue-cured tobacco leaf by scan electronic microscope. Journal of Henan Agricultural University, 2005, 39(2): 155-157.
- [14] Yan X X, Hu Z H. Ultrastructure of the secretion of peltate glandular hairs in *Mentha haplocalyx*brig. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 1998, 18(2): 256-261.
- [15] Lange B M, Wildung M R, Stauber E J, Sanchea C, Pouchnik D, Croteau R. Probing essential oil biosynthesis and secretion by functional evaluation of expressed sequence tags from mint glandular trichomes. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2000, 97(6): 2934-2939.
- [16] Cui H, Zhang H, Weng M L, Liang Z M, Ji H. Morphological research on chloroplast of tobacco trichome during development. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2008, 28(8): 1592-1595.
- [17] Zhang H, Zhao B D, Ji H, Liang Z M, Wen M L, Yang T X, Cui H. Effects of water stress on ultrastructure of tobacco leaf trichome. Acta Tabacaria Sinica, 2008, 14(5): 45-47.
- [18] Liang Z M, Ji H, Zhang H, Weng M L, Cui H. Morphology and structure of chloroplast in flue-cured tobacco trichomes after applying aertilizer. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(2): 291-295.
- [19] Zhou J H, Wang Y, Shao Y, Yang H Q, Li Y P, Zhu L S. The comparison on the content of chromoplast pigments and volatile aromatic materials of flue-cured tobacco from domestic and abroad. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences Edition), 2005, 31(2): 128-132.

参考文献:

- [2] 史宏志, 刘国顺. 烟草香味学. 北京: 中国农业出版社, 1998, 144-166.
- [7] 高致明, 刘国顺, 符云鹏, 张国显. 香料烟叶片腺毛及分泌细胞的研究. 河南农业大学学报, 1996, 30(4): 329-332, 346-346.
- [8] 唐远驹. 试论特色烟叶的形成和开发. 中国烟草科学, 2004, 25(1): 10-13.
- [10] 崔红, 冀浩, 张华, 陈亮. 烟草腺毛全长 cDNA 文库的构建. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(6): 859-862.
- [13] 时向东, 杨会丽, 高致明, 段增强, 孙金花, 刘国顺. 烤烟叶片腺毛发育过程的扫描电镜观察. 河南农业大学学报, 2005, 39(2): 155-157.
- [14] 阎先喜, 胡正海. 薄荷盾状腺毛分泌过程的超微结构研究. 西北植物学报, 1998, 18(2): 256-261.
- [16] 崔红 张华, 翁梦苓, 梁志敏, 冀浩. 烟草腺毛发育过程中叶绿体形态学研究. 西北植物学报, 2008, 28(8): 1592-1595.
- [17] 张华, 赵百东, 冀浩, 梁志敏, 翁梦苓, 杨天旭, 崔红. 水分胁迫对烤烟腺毛超微结构的影响. 中国烟草学报, 2008, 14(5): 45-47.
- [18] 梁志敏, 冀浩, 张华, 翁梦苓, 崔红. 施肥对烟草腺毛叶绿体形态结构的影响. 西北植物学报, 2009, 29(2): 291-295.
- [19] 周冀衡, 王勇, 邵岩, 杨虹琦, 李永平, 朱列书. 产烟国部分烟区烤烟质体色素及主要挥发性香气物质含量的比较. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2005, 31(2): 128-132.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 11 June, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Responses of microbes-mediated carbon and nitrogen cycles to global climate change	SHEN Jupei, HE Jizheng (2957)
Formation of cyanobacterial blooms in Lake Chaohu and the photosynthesis of dominant species hypothesis	JIA Xiaohui, SHI Dingji, SHI Mianhong, et al (2968)
Unbalanced cyclical fluctuation pattern of intermittent outbreaks of beet armyworm <i>Spodoptera exigua</i> (Hübner) in China	WEN Lizhang, ZHANG Youjun, ZHU Liang, et al (2978)
Self-organizing feature map classification and ordination of <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest in Pangquangou Nature Reserve	ZHANG Qindi, ZHANG Jintun, Suriguga, et al (2990)
Ecological effects of lakeside wetlands restoration in Dalian Lake, Shanghai	WU Di, YUE Feng, LUO Zukui, et al (2999)
Soil organic carbon storage and profile inventory in the different vegetation types of Luya Mountain	WU Xiaogang, GUO Jinping, YANG Xiuyun, et al (3009)
Response of soil microbial community structure to the leaf litter decomposition of three typical broadleaf species in mid-subtropical area, southern China	ZHANG Shengxi, CHEN Falin, ZHENG Hua (3020)
The decomposition of coniferous and broadleaf mixed litters significantly changes the carbon metabolism diversity of soil microbial communities in subtropical area, southern China	CHEN Falin, ZHENG Hua, YANG Bosu, et al (3027)
Spatiotemporal heterogeneity of topsoil nutrients in Karst Peak-Cluster depression area of Northwest Guangxi, China	LIU Shujuan, ZHANG Wei, WANG Kelin, et al (3036)
Effects of cadmium stress on the activities of antioxidant enzymes, digestive enzymes and the membrane lipid peroxidation of the mangrove mud clam <i>Geloina coaxans</i> (Gmelin)	LAI Tinghe, HE Binyuan, FAN Hangqing, et al (3044)
The edge effects on tree-liana relationship in a secondary natural forest in Bawangling Nature Reserve, Hainan Island, China	WU Yuna, TAO Jianping, XI Weimin, et al (3054)
Soilwater deficit under different artificial vegetation restoration in the semi-arid hilly region of the Loess Plateau	YANG Lei, WEI Wei, MO Baoru, et al (3060)
The diurnal trends of sensible and latent heat fluxes of a subtropical evergreen coniferous plantation subjected to seasonal drought	HE Youwei, WANG Qiubing, WEN Xuefa, et al (3069)
Ecological adaptability of photosynthesis and water use for <i>Tamarix ramosissima</i> in the southern periphery of Gurbantungut Desert, Xinjiang	WANG Shanshan, CHEN Xi, WANG Quan, et al (3082)
Estimation of leaf area index of cotton using digital Imaging	WANG Fangyong, WANG Keru, LI Shaokun, et al (3090)
Different response of photosynthetic apparatus between wild soybean (<i>Glycine soja</i>) and cultivated soybean (<i>Glycine max</i>) to NaCl stress	XUE Zhongcai, GAO Huiyuan, LIU Jie (3101)
Effects of water and phosphorus supply on morphology and structure of special root hairs on nodal roots of wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	ZHANG Jun, HE Dexian, DUAN Zengqiang (3110)
Applications of species indicator for analyzing plant community types and their biodiversity at Kunyushan National Forest Reserve	SUN Zhiqiang, ZHANG Xingyao, ZHU Yanpeng, et al (3120)
Societal metabolism for chinese provinces based on multi-scale integrated analysis of societal metabolism (MSIASM)	LIU Ye, GENG Yong, ZHAO Hengxin (3133)
Comparative gene expression analysis for leaf trichomes of tobacco grown in two different regions in China	CUI Hong, JI Hao, YANG Huijuan, et al (3143)
Performance evaluation of B biotype whitefly, <i>Bemisia tabaci</i> on 23 host plants	AN Xincheng, GUO Qiang, HU Qiongbo (3150)
Studies of hemocytes DNA damage by two pesticides acetamiprid and chlorpyrifos in predaceous spiders of <i>Pardosa astrigera</i> Koch	LI Rui, LI Shengcai, LIU Jia, (3156)
Effects of the fungicide prochloraz on the rotifer <i>Brachionus calyciflorus</i>	LI Daming, LU Zhenghe, FENG Qi, et al (3163)
Effects of long- and short-term successive parthenogenesis on life history and genetics characteristics of <i>Brachionus calyciflorus</i>	GE Yali, XI Yilong (3170)
Review and Monograph	
Review of the relationship between regional landscape pattern and surface water quality	ZHAO Jun, YANG Kai, TAI Jun, et al (3180)
Review of dew action effect on plants	YE Youhua, PENG Shaolin (3190)
Advances in Botryosphaeriaceae: identification, phylogeny and molecular ecology	CHENG Yanlin, LIANG Jun, LÜ Quan, et al (3197)
Advances in research on the mechanisms of age-related productivity decline of planted forests	MAO Peili, CAO Banghua, TIAN Wenxia, et al (3208)
The application of tree-ring on forest disturbance history reconstruction	FENG Xiaohui, CHENG Ruimei, XIAO Wenfa, et al (3215)
Research advances on stress responsive WRKY transcription factors in plants	LI Ran, LOU Yonggen (3223)
Scientific Note	
The soil microbial activities and microbial biomass in Sanjiangyuan Alpine grassland	REN Zuohua, ZHANG Yuguang, LI Diqiang, et al (3232)
The differences of water use efficiency (WUE) among three <i>Populus deltoids</i> clones, and the cloning and characterization of related gene, <i>PdERECTA</i>	GUO Peng, XIA Xinli, YIN Weilun (3239)
Arthropod community reestablishment and niche of the main groups in kiwifruit orchards	DU Chao, ZHAO Huiyan, GAO Huanhuan, et al (3246)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 11 期 (2011 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 11 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元