

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.05.003

引用格式:刘亚男,田浩琦,梁小玉,等.美洲狼尾草种子不同发育时期的转录组分析[J].草地学报,2026,34(5):1584–1596
LIU Ya-nan, TIAN Hao-qi, LIANG Xiao-yu, et al. Transcriptome Analysis of *Pennisetum glaucum* Seeds at Different Developmental Stages[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(5):1584–1596

美洲狼尾草种子不同发育时期的转录组分析

刘亚男¹, 田浩琦¹, 梁小玉¹, 胡远彬¹, 张 靓¹, 冯光燕², 季 杨^{1*}

(1. 四川省畜牧科学研究院, 四川 成都 610066; 2. 四川农业大学草业科技学院, 四川 成都 610000)

摘要:为更好地了解美洲狼尾草(*Pennisetum glaucum* L.)种子发育过程中的基因调控网络,本研究以开花期(F)和灌浆期(S₁, S₂, S₃)的美洲狼尾草籽粒为材料进行转录分析,结果显示, S₁ vs F时期差异表达基因数量最多,为7166个。通路富集分析表明,植物激素信号转导、淀粉生物合成及苯丙烷生物合成在种子发育中具有重要作用,分别有160, 19, 51个差异基因富集到以上途径,它们在种子发育过程中阶段性高表达,其中 *AUX1* 和 *GID1* 在种子发育前期高表达,而乙烯信号通路基因(*ETR*, *EIN2*, *EIN3*)的表达随种子成熟上调。差异表达基因中鉴定到包含 AP2/ERF、bHLH 家族成员在内的 859 个转录因子,其主要参与植物激素信号转导、昼夜节律等与种子发育相关途径。本研究基于不同时期的转录组数据构建了美洲狼尾草种子发育基因表达谱,为进一步探究其分子机制提供参考。

关键词:美洲狼尾草;种子发育;转录组测序;差异表达基因

中图分类号:S543.9

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)05-1584-13

Transcriptome Analysis of *Pennisetum glaucum* Seeds at Different Developmental Stages

LIU Ya-nan¹, TIAN Hao-qi¹, LIANG Xiao-yu¹, HU Yuan-bin¹, ZHANG Jing¹,

FENG Guang-yan², JI Yang^{1*}

(1. Sichuan Animal Science Academy, Chengdu, Sichuan Province 610066, China;

2. College of Grassland Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan Province 610000, China)

Abstract: To better understand the gene regulatory network during seed development in *Pennisetum glaucum*, this study performed transcriptome analysis using seeds at the flowering stage (F) and grain-filling stages (S₁, S₂, S₃). The results revealed the highest number of differentially expressed genes (DEGs) in the S₁ vs F comparison, totaling 7166. Pathway enrichment analysis demonstrated that plant hormone signal transduction, starch biosynthesis, and phenylpropanoid biosynthesis played important roles in seed development, with 160, 19, and 51 DEGs enriched in these pathways, respectively. These genes exhibited stage-specific high expression during seed development; among which, *AUX1* and *GID1* were highly expressed in early seed development, while ethylene signaling genes (*ETR*, *EIN2*, *EIN3*) increased in expression as seeds matured. Among the DEGs, 859 transcription factors (TFs) were identified, including members of AP2/ERF and bHLH families, primarily involved in seed development-related pathways such as plant hormone signaling and circadian rhythm. This study constructed a gene expression profile for *P. glaucum* seeds development based on transcriptome data from different stages, providing a reference for further research of its molecular mechanism.

Key words: *Pennisetum glaucum*; Seed development; Transcriptome sequencing; DEGs

收稿日期:2025-07-31;修回日期:2025-09-12

基金项目:四川省畜牧科学研究院基本科研业务费(SASA202404);四川肉羊创新团队项目(SCCXTD-2024-14-3);宜宾市农业科技创新项目(2024NYHZ013)资助

作者简介:刘亚男(1996-),女,汉族,四川营山人,硕士,畜牧师,主要从事牧草遗传育种研究,E-mail:liuyan0310@163.com;*通信作者 Author for correspondence, E-mail:23271042@qq.com

作为裸子植物和被子植物独有的繁殖结构,种子对物种的存续具有决定性影响,并承担着储存淀粉、蛋白质和脂质等营养物质的关键功能^[1-2]。种子通常由胚、胚乳和种皮组成,其中胚包含了植物发育所需要的基本元素,胚乳蕴含营养物质,而种皮则保护种子免受机械损伤^[3]。种子发育通常包括胚胎形成和成熟两个关键阶段,前者以细胞分裂及扩增为主,而成熟时期则主要表现为营养物质的逐步积累^[4-5]。种子发育主要受到遗传因素影响,同时植物激素、表观遗传修饰等内在生理调控也参与其中,此外,外界环境因子会通过调控基因表达或代谢过程影响种子发育^[6-8]。总体而言,种子发育是一个复杂的生物学过程,其核心在于协同调控组织发育与贮藏物质代谢的动态平衡。目前,已经构建了玉米^[9]、大豆^[10]、小麦^[11]等多个物种的种子发育转录组图谱,并鉴定了一系列的调控和功能基因。例如,锌指调节因子 *GmPLATZ* 直接调控大豆种子大小和粒重^[12]。玉米种子特异性转录因子 *MYB131*、*MYB16* 和 *BZIP109* 可能对胚乳细胞化至关重要,*MYBR81*、*BZIP46* 和 *HB118* 可能在胚乳分化中起关键作用^[9]。

美洲狼尾草(*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br., syn. *Cenchrus americanus* (L.) Morrone) 又名珍珠粟,是一种十分重要的多功能 C₄ 植物,原产于非洲,现广泛栽培于热带、亚热带等地区^[13]。美洲狼尾草植株高大、分蘖能力强,其籽粒米质韧性,籽粒粗蛋白和多种

氨基酸等含量均高于玉米,且抗营养因子含量较低,既可作为饲用植物,也可作为杂粮类谷物^[14-15]。目前,美洲狼尾草种子发育调控网络尚不明确,因此,鉴定美洲狼尾草种子发育调控基因并解析其分子机制对品种改良与新品种选育具有重要意义。

为深入探究美洲狼尾草种子不同发育时期基因的表达情况,鉴定调控籽粒形成及成熟的关键基因,本研究以美洲狼尾草自交系 595755 为试验材料,于种子发育的开花期(F)、灌浆初期(S₁)、灌浆中期(S₂)、灌浆后期(S₃)进行转录组测序。通过构建美洲狼尾草种子在发育中的基因动态表达谱,筛选参与种子发育的候选基因,为深入解析美洲狼尾草种子发育的转录调控机制提供了新的见解。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验供试材料为美洲狼尾草自交系 595755,由四川农业大学草业科技学院提供,于 2024 年 5 月种植于四川省畜牧科学研究院牧草现代种业创新科研基地。所有材料均在自然日光条件下培养,在生长期进行正常田间管理。于开花期(F)、灌浆 7 d(S₁)、灌浆 14 d(S₂)、灌浆 21 d(S₃)取穗部中段小穗或籽粒,各时期样本状态如图 1,每个时期进行 3 次独立生物学重复,所有样品在液氮中速冻并贮存于 -80℃ 冰箱。



图 1 各时期样本采集状态示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sample collection status in each period

1.2 RNA 提取及转录组测序

从样本中提取的总 RNA 用于 RNA-seq 文库构建和测序。采用 Illumina Novaseq 6000 (San Diego, CA, USA) 平台进行转录组测序。原始数据 (raw reads) 通过 fastp^[16] 软件处理后获得 clean reads (原始数据已上传至 GSA 公共数据库 <https://ngdc.cnbc.ac.cn/gsa/>, 登录号 CRA029538), 并统计 Q₂₀、Q₃₀ 和 GC 含量。随后,使用 HISAT2^[17] (2.2.1) 将 clean reads 映射到美洲狼尾草参考基因组 (<http://milletdb.novogene.com/download>, PI537069), 并采用

StringTie^[18] (2.2.3) 进行序列组装。使用 feature-Counts^[19] (2.0.6) 统计每个基因的比对 reads 数,并计算其 FPKM (每千碱基转录本每百万映射读段的片段数) 值。

1.3 数据分析和差异基因鉴定

利用 R 包进行相关性和主成分分析 (Principal component analysis, PCA)。使用 R 包 DESeq2 (1.42.0) 进行差异表达分析,以 $P_{adj} \leq 0.05$ 且 $|\log_2(\text{foldchange})| \geq 1$ 为显著差异表达基因筛选阈

值。使用 clusterProfiler^[20](4.8.1)软件进行 DEGs 的 KEGG 通路富集分析,校正后 $P<0.05$ 时为显著富集。利用 iTAK(<http://itak.feilab.net/cgi-bin/itak/index.cgi>)进行转录因子鉴定。

1.4 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)验证

选取 6 个与狼尾草种子发育相关的基因进行验证,选取 *UBC-E2* 作为内参基因,使用 Primer-premier 5.0 设计 PCR 引物(表 1)。

表 1 qRT-PCR 所用引物序列

Table 1 Primer sequence used by qRT-PCR

引物名称 Primer names	上游引物 5'—3' Forward primer(5'—3')	下游引物 5'—3' Reverse primer(5'—3')
q-PMA6G06141	TGGGAGAAGGTGATCGGGAT	CCGGGATGATGTAGACGGTG
q-PMA1G04540	CTGGACGGCAAGTACTTCGT	TGTTGGGCAGCAGGTAGAAG
q-PMA1G06081	GTGAAGAGGTTCCGGTCTGG	TCGTACACCGCGAAGAAGTC
q-PMA2G03448	GGATGTTTCAGCGATGCGTTC	CACCCCTTGCAATCATCACCT
q-PMA7G01306	TCCACGATGCCTCCTCAGTA	GTCAAGCACCACCATCTGGA
q-PMA1G07258	ACGACGACGAGCACATACTC	TTGATCACGGCCTCGACAAA
q-UBC-E2	ACCGCTGACAATCCCTATG	GGGATAGTCTGGCGGAAAATG

2 结果与分析

2.1 转录组测序数据组装及质量评估

构建了来自 F, S₁, S₂, S₃ 时期共 4 个样品的 12 个文库,测序数据如表 2 所示。每个文库获得了

44 637 094~50 678 530 个原始读数,去除接头序列和低质量序列后,每个文库平均 46 224 942 个有效读数,所有文库的 Q₃₀ 大于 93%,GC 含量大于 50%。平均 83.53% 的有效读数被比对到参考基因组,表明样本转录组数据质量较高,可用于后续分析。

表 2 转录组测序数据概述

Table 2 Overview of transcriptome sequencing data

样本名称 Sample	原始读数 Raw reads	有效读数 Clean reads	有效碱基 Clean base/G	错误率 Error rate/%	Q ₂₀ /%	Q ₃₀ /%	GC 含量 GC percent/%
F_1	46276344	45617576	6.84	0.01	99.22	97.64	55.01
F_2	50127076	49428248	7.41	0.01	99.19	97.58	54.24
F_3	47549862	46934734	7.04	0.01	99.20	97.58	54.87
S ₁ _1	50678530	49929052	7.49	0.01	99.23	97.62	54.36
S ₁ _2	45333794	44118142	6.62	0.01	97.92	93.97	54.02
S ₁ _3	45584686	44463378	6.67	0.01	99.19	97.55	54.62
S ₂ _1	44637094	43970256	6.60	0.01	99.16	97.47	55.84
S ₂ _2	47721590	47028736	7.05	0.01	99.18	97.49	55.24
S ₂ _3	46813228	46109070	6.92	0.01	99.18	97.47	55.70
S ₃ _1	46698342	44540494	6.68	0.01	98.53	95.95	56.84
S ₃ _2	47726834	46704858	7.01	0.01	97.73	93.69	55.81
S ₃ _3	47035958	45854762	6.88	0.01	97.70	93.75	55.95

将样本全部基因通过归一化 log₂(FPKM+1) 处理,皮尔逊(Pearson)相关系数显示每个样本 3 个生物学重复之间的相关性良好,任意 2 个重复之间的 R² 均大于 0.90(图 2A)。PCA 结果显示,12 个样本被明确分为 4 组,来自不同发育时期的样本距离较远,而同一发育时期的 3 个生物学重复之间单独聚集(图 2B)。

2.2 美洲狼尾草种子总体基因表达水平分析

每个样本中鉴定的基因数量如图 3A 所示。剔除 FPKM 值小于 1 的基因后,F, S₁, S₂, S₃ 时期分别鉴定到 22 037, 22 222, 22 118, 20 738 个基因。在有效表达(FPKM>1)的基因中,有 17 657 个基因在从开花到种子成熟的四个阶段都表达,而有 902, 691, 423 和 1027 个基因分别在 F, S₁, S₂ 和 S₃ 特异性表达(图 3B)。

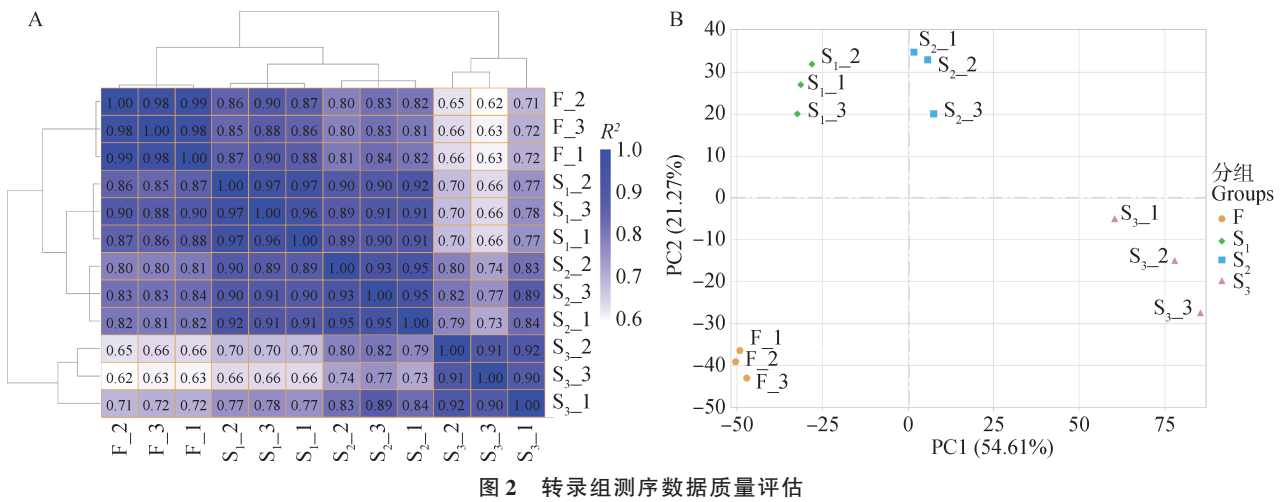


图2 转录组测序数据质量评估

Fig. 2 Quality assessment of transcriptome sequencing data

注:图A为皮尔逊相关系数分析,图B为主成分分析,其中,F_1,F_2,F_3为F时期的3个生物学重复,S_1,S_2,S_3同理

Note: Figure A shows the Pearson correlation coefficient analysis, and figure B is the PCA. Among them, F_1, F_2, and F_3 are three biological replicates of period F, and the same applies to S_1, S_2, and S_3

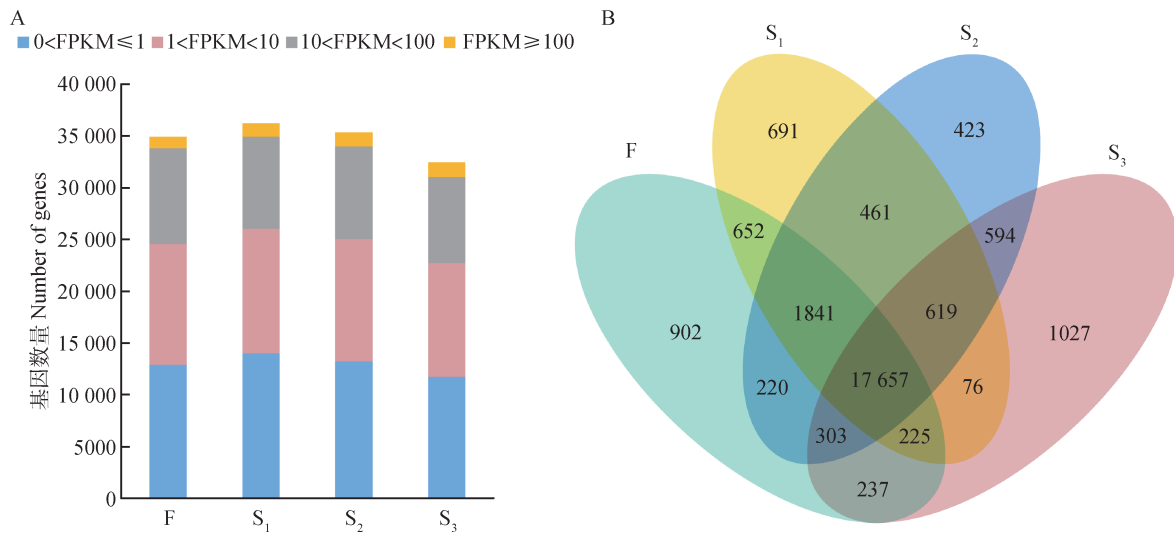


图3 美洲狼尾草种子总体基因表达水平

Fig. 3 The overall gene expression level of *Pennisetum glaucum* seeds

注:图A为基因总体表达水平,图B为总体基因韦恩图

Note: Figure A shows the overall expression level of genes, and figure B shows the Venn diagram of genes

2.3 不同发育时期差异基因鉴定

对不同阶段的基因表达水平进行两两比较(图4A),得到S₁ vs F, S₂ vs S₁和S₃ vs S₂三个比较组。结果表明S₁ vs F比较组中共有7166个差异表达基因,其中3690个基因上调,3476个基因下调。在S₂ vs S₁中共有3833个差异基因,其中2339个基因上调,1494个基因下调。而在S₃ vs S₂中存在6791个差异基因,其中2660个基因上调,4131个基因下调。这些差异基因在美洲狼尾草种子不同发育时期具有阶段性特异表达特征(图4B)。大部分在F时期高表达的基因在灌浆期(S₁, S₂, S₃)表达量降

低,而相邻灌浆期(S₂ vs S₁, S₃ vs S₂)之间的高表达基因存在部分重合。此外,有4204, 1561, 3808个基因仅分别于S₁ vs F, S₂ vs S₁, S₃ vs S₂比较组中呈现差异表达模式。三个比较组中共有601个差异表达基因,暗示了这些基因在美洲狼尾草种子发育过程中的重要性(图4C)。

KEGG通路富集分析发现(图5), S₁与F之间的差异表达基因显著富集到14个通路,包括植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢、苯丙烷生物合成、角质/木栓质/蜡质合成、脂肪酸延长、ABC转运蛋白等, S₂ vs S₁比较组显著富集到9个通路,包括苯丙烷生物合

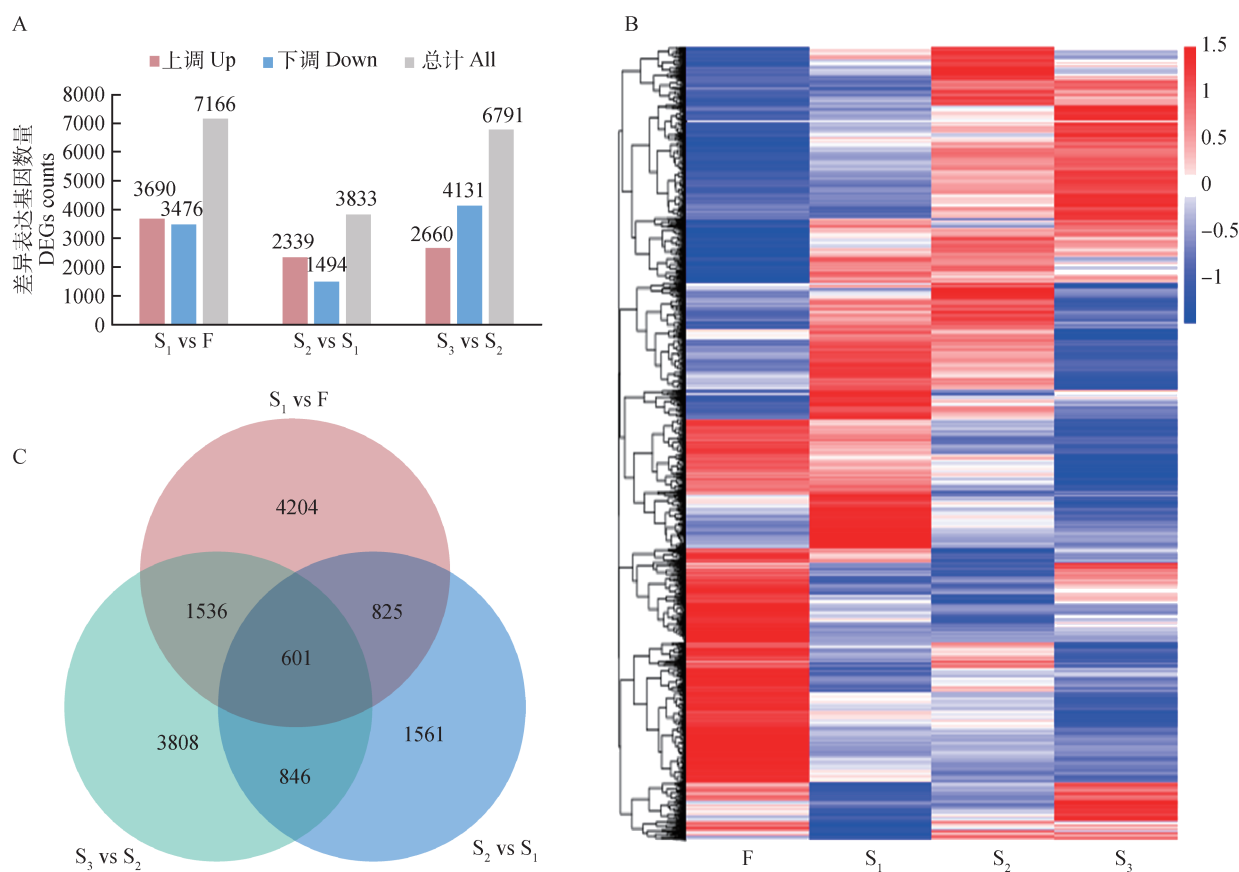


图4 不同发育时期差异表达基因鉴定与分析

Fig. 4 Identification and analysis of DEGs during different developmental stages

注:图A为不同发育时期期间的DEGs数量,图B为DEGs表达量 heatmap,红色代表上调,蓝色代表下调,图C为DEGs韦恩图

Note: Figure A shows the number of DEGs at different developmental stages. Figure B is a heat map of DEGs expression levels, with red representing upregulation and blue representing downregulation. Figure C is a DEGs Venn diagram

成、黄酮类生物合成、泛醌与其他萜类生物合成、氮代谢和谷胱甘肽代谢等通路。S₃ vs S₂的比较中显著富集到7个通路,其中,淀粉和蔗糖代谢、氨基酸的生物合成、糖酵解/糖异生等通路显著富集,植物激素信号转导一般富集,表明以上途径在种子发育过程中起重要作用。随着发育时期递进,相邻阶段差异表达基因显著富集的通路数量逐渐减少,从幼穗开花(F)到籽粒形成初期(S₁)的基因表达变化较大,所涉及的生物学通路差异显著。

2.4 参与植物激素信号转导的差异基因

种子发育受到复杂的植物激素信号调控。据KEGG通路分析,共计160个DEGs被富集到植物激素信号转导通路,其中上调差异基因78个,下调82个,涉及生长素(Auxin, AUX)、脱落酸(Absciscic acid, ABA)、乙烯(Ethylene, ET)等多种激素。这些激素调控相关基因大部分表现出在一个或两个特定时期高表达的模式(图6)。

在生长素信号通路中(图6A),编码AUX1的2个基因分别在F、S₁时期高表达,而ARF编码基因PMA1G06000则在S₂、S₃时期高表达。编码AUX/IAA的多个同源基因具有不同阶段的表达峰值。此外,我们还鉴定出3个GH3基因,它们均在F至S₂时期表达量较高,在S₃处下调表达。在ABA信号通路中(图6B),PYR/PYL(脱落酸受体)与PP2C基因在种子发育不同阶段差异化表达,暗示它们可能在种子形成的不同阶段发挥作用。编码SnRK2(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)和ABF的基因表达模式类似,大体上分为在S₃处上调和S₃处下调两种表达模式。在CK信号通路中(图6C),编码CRE1和AHP的4个基因主要在F和S₃时期高表达。编码B-ARR的3个同源基因在不同阶段高表达。值得注意的是,A-ARR的多个同源基因具有相似的表达模式,它们在种子发育的前期高表达,在S₃时期表达下调。在GA信号通路过程中(图6D),GID1在F时期表达量最高,随后逐渐下调。两个编码

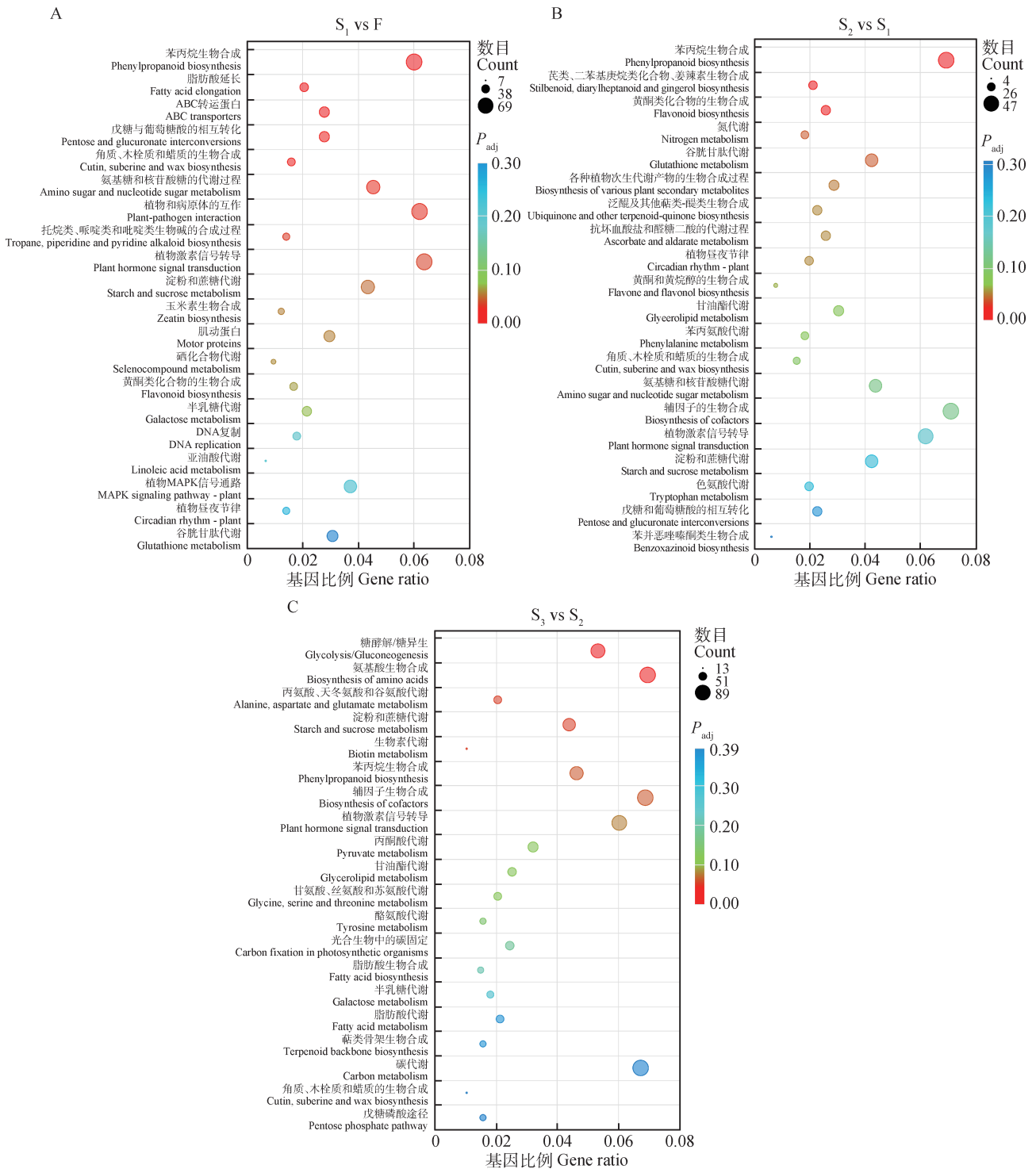


图 5 差异基因 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of DEGs

DELLA 蛋白的基因则分别在 F 和 S_3 时期高表达。此外, 3 个 *PIF* 基因均在种子发育后期上调表达。

值得注意的是, 本试验所鉴定的参与乙烯信号转导通路的基因具有相似的表达模式, 它们在种子发育前期表达量较低, 而在 S_2 或 S_3 处上调, 并在 S_3

时期高表达(图 6E), 从而促进种子的成熟。与 ET 相反的是, 参与茉莉酸(JA)信号转导通路的 *JAR1*、*COI1* 以及 *JAZ* 基因更多地是在种子发育前期高丰度表达, 除编码 *COI1* 的基因之外, 其余基因均在 S_3 时期下调(图 6F)。

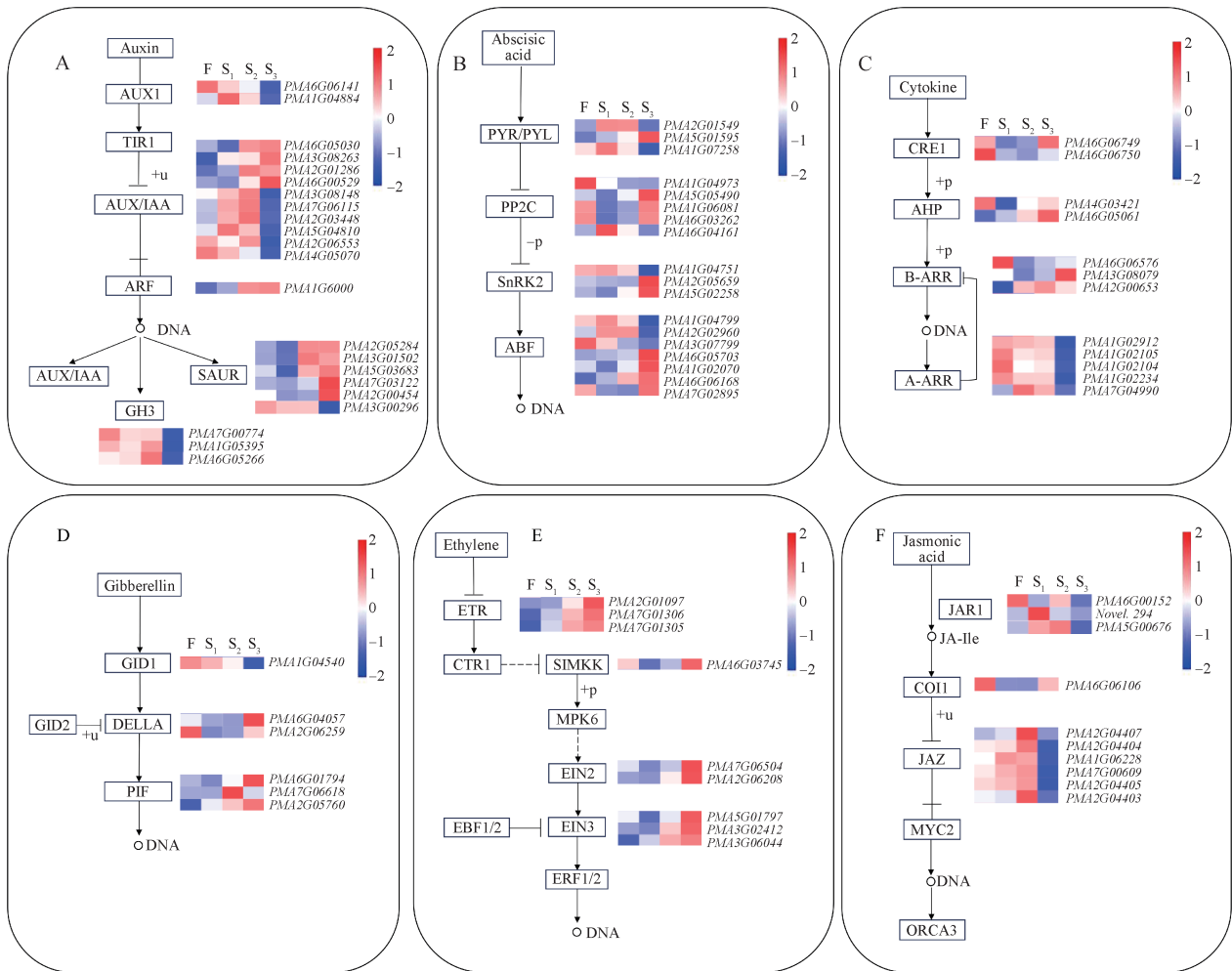


图 6 参与植物激素信号转导通路的 DEGs

Fig. 6 DEGs involved in the plant hormone signal transduction pathway

注:图 A 为生长素信号转导通路;图 B 为脱落酸信号转导通路;图 C 为细胞分裂素信号转导通路;图 D 为赤霉素信号转导通路;图 E 为乙烯信号转导通路;图 F 为茉莉酸信号转导通路

Note: Figure A shows the auxin signal transduction pathway; figure B shows the abscisic acid signal transduction pathway; figure C shows the cytokine signal transduction pathway; figure D shows the gibberellin signal transduction pathway; figure E shows the ethylene signal transduction pathway, and figure F shows the jasmonic acid signal transduction

2.5 种子发育过程中淀粉生物合成差异调控基因

淀粉生物合成是植物种子发育过程中能量储存的核心途径。本试验共鉴定出 19 个参与淀粉生物合成的差异基因,包括 3 个蔗糖合酶基因 (Sucrose synthase, *SUS*)、1 个 UDP 葡萄糖焦磷酸化酶基因 (UDP glucose pyrophosphorylase, *UGPase*)、3 个 ADP 葡萄糖焦磷酸化酶基因 (ADP glucose pyrophosphorylase, *AGPase*)、2 个颗粒结合淀粉合酶基因 (Granule bound starch synthase, *GBSS*)、5 个淀粉合成酶基因 (Starch synthase, *SS*)、3 个淀粉分支酶基因 (Branching enzyme, *BE*) 以及 2 个淀粉脱支酶基因 (Debranching enzyme, *DBE*) (图 7)。

3 个 *SUS* 基因差异表达,其中 *PMA5G01914* 随种子发育阶段表达上调,另外 2 个基因则在 *S₁* 处上调,在 *S₃* 时期下调。编码 *UGPase* 的基因主要在种子发育前期 (*F*、*S₁*) 高表达,在 *S₂*、*S₃* 时期下调。3 个 *AGPase* 基因表现出两种不同模式:*PMA6G03926*、*PMA1G03124* 在 *S₁* 时期表达上调,而 *PMA1G06174* 在 *S₃* 时期表达量最高。2 个 *GBSS* 基因在 *S₁*、*S₂* 时期高表达。编码 *SS* 和 *BE* 的基因大多在种子发育的前三个时期高表达。此外,*DBE* 基因 *PMA7G02742* 在灌浆期表达相较于开花期上调,而 *PMA4G03940* 则表现为在 *S₁* 时期表达量最高。

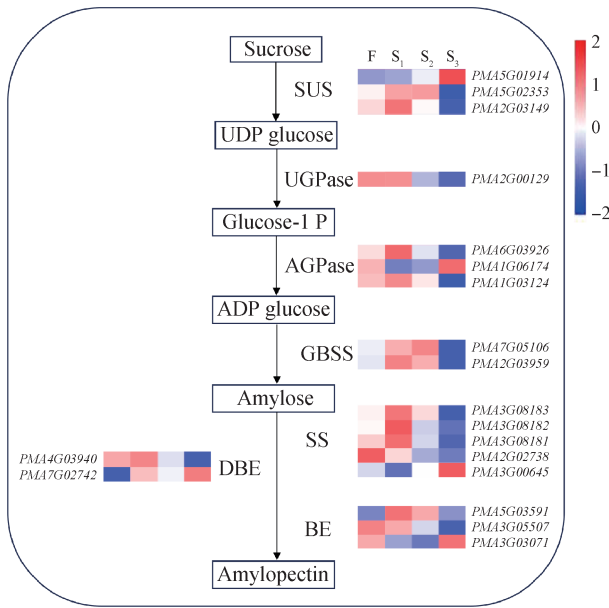


图7 参与淀粉生物合成的差异调控基因

Fig. 7 DEGs involved in starch biosynthesis

2.6 种子发育过程中苯丙烷生物合成差异调控基因

苯丙烷生物合成通路参与种皮形成、抗氧化防御及营养物质积累等过程^[21-23]。编码PAL和C4H的基因具有相似的表达模式,它们均在S₂处表达上调。而编码4CL的基因更多地是在种子发育前三个时期高表达(图8)。在木质素合成途径中,编码CCoAOMT的基因随种子发育表达下调,随后CCR将底物分别还原为松柏醛和芥子醛,其编码基因在种子发育过程中差异表达,PMA7G04834、PMA6G05858随种子成熟表达上调,其他3个基因则在S₁、S₂时期高表达。3个CAD基因中,PMA7G03479随种子发育表达上调,而PMA4G02826、PMA2G00729在S₃时期显著下调。最后,POD和PRDX6催化芥子醇、松柏醇氧化生成木质素单体,其编码基因的表达水平总体分为3种类型,PMA6G04277等4个基因在S₁、S₂时期表达量最高;PMA3G02322等6个基因在前三个时期高表达,在S₃处下调;另一类则在F时期低表达,而在灌浆期表达上调。此外,CHS催化对香豆酰(p-Coumaroyl-CoA)形成查尔酮(Chalcone),其中PMA5G05565和PMA5G05556在S₂、S₃时高表达,而PMA1G01826则是在S₁处表达量最高。2个CHI基因则分别在F和S₃时期高表达,随后经F3H、DFR等系列酶作用下生成花青素、黄酮醇等物质。

2.7 转录因子的鉴定与功能富集分析

本试验在S₁ vs F阶段鉴定出460个转录因子,在S₂ vs S₁阶段鉴定出272个转录因子,S₃ vs S₂中鉴定出462个转录因子。去除重复后,3个阶段差异表达的转录因子共计859个,其中排名前三的分别为AP2/ERF家族97个、bHLH家族70个、MYB家族66个。

KEGG通路富集发现(图9A),差异表达的转录因子显著富集在植物激素信号转导、植物昼夜节律、MAPK信号级联通路以及植物与病原体互作4条通路。表达量热图显示(图9B),S₁与S₂时期的高表达基因重合度较高,相对于二者,F和S₃时期的高表达基因基本不重合,表明相比于开花期,种子在灌浆时期的基因表达模式与功能调控可能更为相似。

2.8 基因表达验证

为验证转录组测序结果的准确性,随机挑选6个基因进行qRT-PCR表达量验证。结果表明,除PMA6G06141在S₃时期表达升高外,差异表达基因通过qRT-PCR获得的表达模式与RNA-seq数据整体趋势一致。

3 讨论

3.1 差异基因总体表达动态

种子发育和养分积累的过程取决于大量基因的表达和调控。本研究筛选出美洲狼尾草自交系595755的4个不同发育时期的差异基因,其中,S₁ vs F差异基因数最多,S₂ vs S₁差异基因最少,表达量热图表明开花时期基因表达模式差异大于不同灌浆时期之间的差异(图4B),同时显著富集的KEGG通路也随着种子发育而减少,表明种子发育前期所激活的生物学通路与后期具有较低的相似性,生殖生长早期(幼穗发育至籽粒起始)的分子调控网络较之籽粒成熟的后期过程(灌浆阶段)呈现出更为显著的动态重编程,转录因子的表达(图9B)也证实了这一点。在对花生、苦荞的研究中同样发现,种子发育后期的基因表达模式的相似度明显高于发育初期^[24-25]。

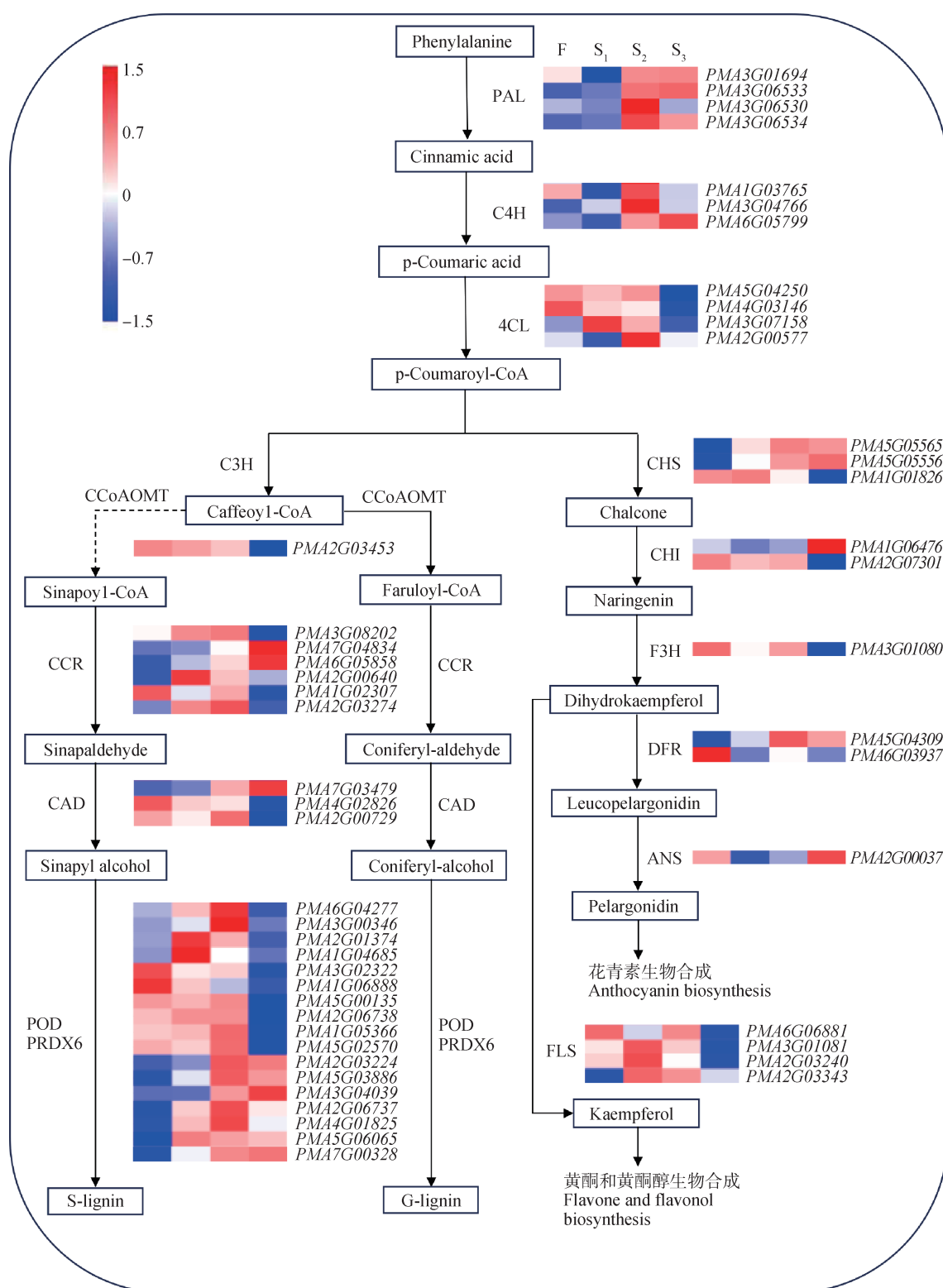


图 8 参与苯丙烷生物合成的差异表达基因

Fig. 8 DEGs involved in the biosynthesis of phenylpropanoids

3.2 参与种子发育的植物激素信号

多种植物激素的相互作用参与调控种子发育^[26-27]。本试验在美洲狼尾草中鉴定出多个参与生长素信号转导的差异基因,它们主要在种子发育前

中期高表达,这与该阶段细胞快速分裂和扩张、促进种子增大相一致^[25]。此外,ARF2同源基因表达量随发育上升,研究表明ARF缺陷突变体种子大小和重量显著增加^[28]。脱落酸在种子成熟过程中积累,

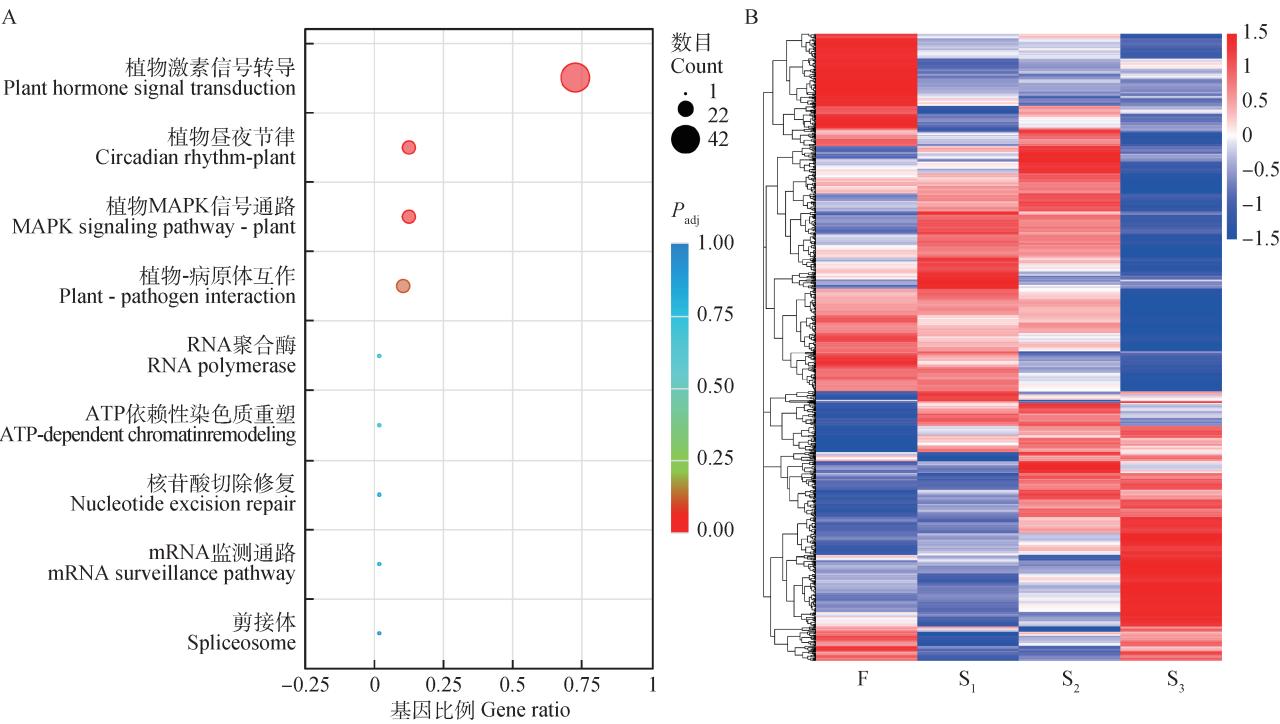


图 9 转录因子表达量热图与功能富集分析

Fig. 9 Functional enrichment analysis and a TF expression heat map

注:图 A 为转录因子 KEGG 通路富集分析;图 B 为转录因子表达量热图
Note: Figure A shows the enrichment analysis of the KEGG pathway of TFs; figure B is a heat map of the expression levels of TFs

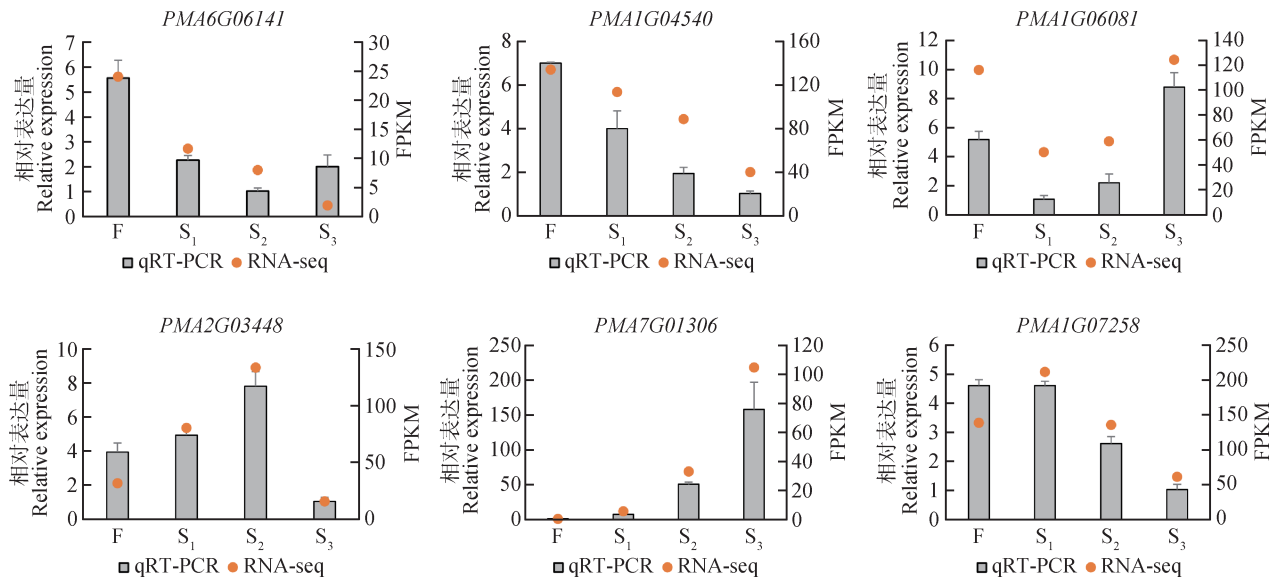


图 10 差异表达基因 qRT-PCR 验证

Fig. 10 Validation of DEGs by qRT-PCR

调控种子发育、休眠与发芽^[29-30]。拟南芥 SnRK2 的三重突变体在种子发育过程中表现出明显的生长缺陷^[31],其同源基因在美洲狼尾草灌浆末期表达模式分化(下调或上调),前者可能参与前期 ABA 信号激活,后者可能与种子成熟和休眠的建立相关,其下游靶标 ABF 基因的表达与其相似。乙烯信号

参与种子成熟调控。在拟南芥中,乙烯可能通过 EIN3-ERF95-FER1 通路促进种子铁元素储存^[32]。过表达 *MHZ7/OsEIN2* 增加了转基因水稻粒长^[33]。本试验中参与 ET 信号转导的差异基因均在灌浆中后期高表达,这与该阶段是种子干物质快速积累的关键时期相一致,在种子成熟期高表达的 ET 信号

通路基因可能反映了种子成熟相关的生理变化。研究表明,茉莉酸参与调节小穗发育和种子大小^[34-35]。与对苦荞^[25]的研究类似,美洲狼尾草种子中参与JA信号转导的差异基因在开花和籽粒灌浆前期高表达,暗示JA可能作用于种子发育的早期调控网络。

3.3 美洲狼尾草种子发育中淀粉和次生代谢物的合成

淀粉生物合成是决定种子发育和作物产量的关键过程,直接影响储藏物质的积累。美洲狼尾草籽粒淀粉含量高达70%^[36]。本试验发现淀粉合成通路关键酶受到差异调控,编码SUS、UGPase、AGPase的同源基因主要在种子发育前期高表达,研究表明AGPase、SUS等酶活性直接影响籽粒灌浆^[37-38],其早期高表达可能满足种子发育初期启动淀粉合成的需求,为后续积累奠定基础。参与直链淀粉合成的GBSS的两个同源基因在灌浆中期高表达,表明它们可能作为该途径的限速酶,调控籽粒淀粉合成与积累^[39]。此外,参与支链淀粉转化的SS、BE、DBE同源基因在种子发育期间均差异表达,这可能是为了满足种子发育不同阶段的调控需求。研究表明,同种酶的不同亚型具有特定的生物学功能^[40]。

本研究发现苯丙烷生物合成通路关键酶PAL、4CL的多个同源基因在籽粒灌浆中期上调并持续高表达,可能为木质素和类黄酮等下游分支提供前体^[41]。在木质素单体合成中,CCR、CAD以及POD/PRDX6基因均在种子发育过程中差异表达,总体而言,它们在灌浆期表达上调,影响木质素积累。种皮木质化可增强种子机械强度,并调节种皮渗透性进而影响种子休眠^[42-43]。由于木质素和类黄酮生物合成均源自苯丙氨酸代谢途径,两者共同受到上游合成代谢调控^[44]。本试验鉴定出13个类黄酮合成酶编码基因,它们受上游基因调控,在美洲狼尾草种子发育不同阶段特异性表达,协同调控类黄酮、花青素等次生代谢物生成。

3.4 美洲狼尾草种子发育中潜在的协同调控

在C₄植物中,光合碳固定依赖于一系列关键酶的协同作用,其中,磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(Phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPCase)、NADP苹果酸酶(NADP-Malic enzyme, NADP-ME)、NAD苹果

酸酶(NAD-Malic enzyme, NAD-ME)以及丙酮酸磷酸二激酶(Pyruvate orthophosphate dikinase, PPDK)构成了其生物反应核心^[45]。作为C₄植物,美洲狼尾草高效的光合碳同化能力是其生物量积累的基础。本研究发现,PEPCase、NADP-ME在美洲狼尾草种子发育过程中持续表达,这暗示着C₄途径酶为其种子发育提供充足的碳骨架和能量。

在种子发育过程中,碳固定产物的分配方向直接影响种子质量。一方面,光合碳需要用于合成淀粉等储存物质;另一方面,部分碳流会进入苯丙烷途径,用于种皮木质化和防御物质合成。对水稻的研究发现,生长素通过IAA-OsARF18-OsARF2信号级联调控蔗糖转运子OsSUT1的表达,从而调节蔗糖从“源”(叶片)到“库”(种子)的分配过程,进而影响淀粉合成与籽粒灌浆^[46]。这表明本研究中鉴定的ARF等TFs同样可能通过响应植物激素信号转导从而调控下游代谢途径基因,其中,淀粉合成基因偏向在种子发育早期及中期高表达,而苯丙烷通路DEGs则更多地发育中、后期高表达,这种时序上的分配平衡可能分别满足种子发育的能量储存和结构保护需求,并受到转录调控网络和代谢反馈调节的共同影响,其机制有待进一步的深入研究。

4 结论

本研究对美洲狼尾草种子发育的4个阶段进行转录组测序分析,相邻阶段的3个比较组共筛选出13 381个DEGs,其中S₁ vs F时期DEGs数量最多,显著富集的通路数目也最多。KEGG富集分析表明,植物激素信号转导、淀粉生物合成以及苯丙烷生物合成在种子发育中具有重要作用,分别有160, 19, 51个差异基因富集到以上途径。此外,筛选出859个TFs,它们主要参与植物激素信号转导、植物昼夜节律、MAPK信号级联等与种子发育密切相关的途径。研究结果为进一步剖析美洲狼尾草种子发育的调控网络提供了新的见解。

参考文献

- [1] XUE L J, ZHANG J J, XUE H W, et al. Genome-wide analysis of the complex transcriptional networks of rice developing seeds [J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31081
- [2] CAO Y W, HAN Z G, ZHANG Z Y, et al. UDP-glucosyltransferase 71C4 controls the flux of phenylpropanoid metabolism to

- shape cotton seed development [J]. *Plant Communications*, 2024, 5(8):100938
- [3] LOCASCIO A, ROIG-VILLANOVA I, BERNARDI J, et al. Current perspectives on the hormonal control of seed development in *Arabidopsis* and maize: a focus on auxin [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5:412
- [4] ZHANG K L, CAO W Z, BASKIN J M, et al. Seed development in *Paeonia ostii* (Paeoniaceae), with particular reference to embryogeny [J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):603
- [5] VERMA S, ATTULURI V P S, ROBERT H S. Transcriptional control of *Arabidopsis* seed development [J]. *Planta*, 2022, 255(4):90
- [6] GOMEZ M D, CORED I, BARRO-TRASTOY D, et al. DELLA proteins positively regulate seed size in *Arabidopsis* [J]. *Development (Cambridge, England)*, 2023, 150 (15): dev201853
- [7] JIANG H, KÖHLER C. Evolution, function, and regulation of genomic imprinting in plant seed development [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(13):4713-4722
- [8] MEGA R, KIM J S, TANAKA H, et al. Metabolic and transcriptomic profiling during wheat seed development under progressive drought conditions [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13 (1):15001-15014
- [9] YI F, GU W, CHEN J, et al. High temporal-resolution transcriptome landscape of early maize seed development [J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(5):974-992
- [10] ZHANG H Y, HU Z B, YANG Y M, et al. Transcriptome profiling reveals the spatial-temporal dynamics of gene expression essential for soybean seed development [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1):453
- [11] XIANG D Q, QUILICHINI T D, LIU Z Y, et al. The transcriptional landscape of polyploid wheats and their diploid ancestors during embryogenesis and grain development [J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(12):2888-2911
- [12] HU Y, LIU Y, LU L, et al. Global analysis of seed transcriptomes reveals a novel PLATZ regulator for seed size and weight control in soybean [J]. *New Phytologist*, 2023, 240(6): 2436-2454
- [13] YAN H D, SUN M, ZHANG Z R, et al. Pangenomic analysis identifies structural variation associated with heat tolerance in pearl millet [J]. *Nature Genetics*, 2023, 55(3):507-518
- [14] 丁成龙, 白淑娟, 顾洪如, 等. 珍珠粟在畜禽饲料中的应用研究进展 [J]. *畜牧兽医学杂志*, 2000, 6(19):14-16
- DING C L, BAI S J, GU H R, et al. Utilization of grain pearl millet in diets of livestock and poultry [J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2000, 6(19):14-16
- [15] 罗李旋, 周涛, 徐倩, 等. 美洲狼尾草 GATA 转录因子家族生物信息学分析 [J]. *草地学报*, 2023, 33(2):391-400
- LUO L X, ZHOU T, XU Q, et al. Bioinformatics analysis of GATA family of *Pennisetum glaucum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2025, 33(2):391-400
- [16] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2018, 34(17):i884-i890
- [17] KIM D, LANGMEAD B, SALZBERG S L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements [J]. *Nature Methods*, 2015, 12(4):357-360
- [18] PERTEA M, PERTEA G M, ANTONESCU C M, et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(3): 290-295
- [19] LIAO Y, SMYTH G K, SHI W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2014, 30(7):923-930
- [20] WU T Z, HU E Q, XU S B, et al. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data [J]. *Innovation (Cambridge (Mass))*, 2021, 2(3):100141
- [21] LIU L, LONG C, HAO X R, et al. Identification of key genes involved in lignin and flavonoid accumulation during *Tilia tuan* seed maturation [J]. *Plant Cell Reports*, 2024, 43(8):205
- [22] LYU S Y, ZHU Z H, YU X Y, et al. Phenylpropanoid metabolites mediate antiviral defense and vector resistance in rice infected with RRSV, RGSV, and SRBSDV [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2025, 48(8):6170-6184
- [23] ZHOU R N, WANG S, LI J, et al. Transcriptional and metabolomic analyses reveal that *GmESR1* increases soybean seed protein content through the phenylpropanoid biosynthesis pathway [J/OL]. *Plant, Cell & Environment*, doi: 10.1111/pce.15250, 2024-11-01/2025-7-30
- [24] 孙志辉, 鲁清, 李海芬, 等. 花生种子不同发育阶段的转录因子调控网络鉴定 [J/OL]. *中国油料作物学报*, <https://doi.org/10.19802/j.issn.1007-9084.2024266>, 2025-01-13/2025-07-30
- SUN Z H, LU Q, LI H F, et al. Identification of regulatory networks of transcription factors at different seed developmental stages in peanut [J/OL]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, <https://doi.org/10.19802/j.issn.1007-9084.2024266>, 2025-01-13/2025-07-30
- [25] HUANG J, DENG J, SHI T X, et al. Global transcriptome analysis and identification of genes involved in nutrients accumulation during seed development of rice Tartary buckwheat (*Fagopyrum Tararicum*) [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 11792-11805
- [26] LI N, XU R, LI Y. Molecular networks of seed size control in plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2019, 70:435-463
- [27] YAO Y J, XIONG E H, QU X L, et al. WGCNA and transcriptome profiling reveal hub genes for key development stage seed size/oil content between wild and cultivated soybean [J]. *BMC Genomics*, 2023, 24(1):494
- [28] SCHRUFF M C, SPIELMAN M, TIWARI S, et al. The *AUXIN RESPONSE FACTOR 2* gene of *Arabidopsis* links auxin signalling, cell division, and the size of seeds and other organs [J]. *Development (Cambridge, England)*, 2006, 133 (2):251-261

- [29] YOSHIDA T, CHRISTMANN A, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, et al. Revisiting the basal role of ABA-roles outside of stress[J]. Trends in Plant Science, 2019, 24(7): 625-635
- [30] GUPTA K, WANI S H, RAZZAQ A, et al. Absciscic acid: role in fruit development and ripening[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 817500
- [31] NAKASHIMA K, FUJITA Y, KANAMORI N, et al. Three *Arabidopsis* SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy[J]. Plant Cell Physiology, 2009, 50(7): 1345-1363
- [32] ZHAO H, YIN C C, MA B, et al. Ethylene signaling in rice and *Arabidopsis*: New regulators and mechanisms[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(1): 102-125
- [33] MA B, HE S J, DUAN K X, et al. Identification of rice ethylene-response mutants and characterization of *MHZ7/OsEIN2* in distinct ethylene response and yield trait regulation[J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1830-1848
- [34] CAI Q, YUAN Z, CHEN M J, et al. Jasmonic acid regulates spikelet development in rice[J]. Nature Communications, 2014, 5(1): 3476-3488
- [35] HU S, YANG H T, GAO H, et al. Control of seed size by jasmonate[J]. Science China Life Sciences, 2021, 64(8): 1215-1226
- [36] PUNIA S, KUMAR M, SIROHA A K, et al. Pearl millet grain as an emerging source of starch: A review on its structure, physicochemical properties, functionalization, and industrial applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 260: 117776
- [37] XU Y J, GU D J, QING H, et al. Changes in carbohydrate accumulation and activities of enzymes involved in starch synthesis in maize kernels at different positions on an ear during grain filling[J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(2): 297-307
- [38] LI S X, SHI Z G, ZHU Q R, et al. Transcriptome sequencing and differential expression analysis of seed starch accumulation in Chinese chestnut *Metaxenia*[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 617
- [39] DENG J, ZHAO J L, HUANG J, et al. Comparative proteomic analyses of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) seeds at three stages of development[J]. Functional & Integrative Genomics, 2022, 22(6): 1449-1458
- [40] 王涛, 胡社伟, 张宇, 等. 玉米籽粒淀粉生物合成及调控因素研究进展[J]. 生物技术通报, 2025, 41(3): 1-13
- WANG T, HU S W, ZHANG Y, et al. Research progress in starch biosynthesis and regulatory factors in maize kernel[J]. Biotechnology Bulletin, 2025, 41(3): 1-13
- [41] LIU X, HE Z, YIN Y L, et al. Transcriptome sequencing and analysis during seed growth and development in *Euryale ferox* Salisb[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 343
- [42] VANHOLME R, DEMEDTS B, MORREEL K, et al. Lignin biosynthesis and structure[J]. Plant Physiology, 2010, 153(3): 895-905
- [43] MACGREGOR D R, KENDALL S L, FLORANCE H, et al. Seed production temperature regulation of primary dormancy occurs through control of seed coat phenylpropanoid metabolism[J]. New Phytologist, 2015, 205(2): 642-652
- [44] DING Y R, YU S Z, WANG J, et al. Comparative transcriptomic analysis of seed coats with high and low lignin contents reveals lignin and flavonoid biosynthesis in *Brassica napus*[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 246
- [45] SCHLÜTER U, WEBER A P M. Regulation and evolution of C₄ photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Biology, 2020, 71: 183-215
- [46] ZHAO Z G, WANG C L, YU X W, et al. Auxin regulates source-sink carbohydrate partitioning and reproductive organ development in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(36): e2121671119

(责任编辑 付 宸)