植物学报 *Chinese Bulletin of Botany* 2025, **60** (1): 33–48, www.chinbullbotany.com
doi: 10.11983/CBB24097 cstr: 32102.14.CBB24097

·研究论文·

油莎豆块茎特异性表达基因鉴定及分析

张向歌, 陈晨, 程珊, 李春鑫, 朱雅婧, 许欣然, 王会伟*

河南省农业科学院经济作物研究所, 郑州 450002

摘要 块茎是油莎豆(*Cyperus esculentus*)独特且极其重要的器官, 富含油脂且具有与种子类似的繁殖能力, 研究油莎豆块茎特异性表达基因对于解析其块茎特异性生长发育(尤其是油脂积累)的调控机理具有重要意义。通过对油莎豆主要器官(根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎)进行转录组测序, 全面筛选块茎特异性表达基因, 并分析相关基因的功能。结果表明, 分别以根、叶、分蘖节和匍匐茎为对照, 经过多组比对分析后共鉴定出155个块茎特异性表达基因; GO富集分析显示, 与种子发育、种子油体合成、油脂储存、脱落酸响应、非生物刺激响应和蛋白折叠相关的7个GO条目显著富集, 这些GO条目涉及的基因恰好反映出油莎豆块茎独特的类似种子的发育特性。其中, *CESC_00080*和*CESC_16572*编码油体钙蛋白, *CESC_08636*、*CESC_12549*和*CESC_17828*编码油体蛋白, 均参与植物油体的形成, 而油体形成是植物完成油脂储存的关键步骤, 表明这些油体形成相关基因在块茎中的特异性表达可能是油莎豆在块茎中储存大量油脂的关键所在。此外, 还筛选出8个块茎特异性表达转录因子编码基因, 如*CESC_00448* (编码abscisic acid insensitive 5-like protein ABI5)和*CESC_03736* (编码heat stress transcription factor C), 而在鉴定到的块茎特异性表达基因中发现一些潜在的靶基因, 表明这些转录因子可能调控各自靶基因的特异性表达。综上, 研究结果可为油莎豆块茎发育相关基因调控网络的构建以及块茎特异性基因表达的分子机制解析提供重要参考。

关键词 油莎豆, 块茎, 转录组测序, 特异性表达

张向歌, 陈晨, 程珊, 李春鑫, 朱雅婧, 许欣然, 王会伟 (2025). 油莎豆块茎特异性表达基因鉴定及分析. 植物学报 **60**, 33–48.

植物不同类型的器官具有各自的生物学特性和不同的功能(宋扬等, 2007; 焦勇等, 2019; 陈建琦等, 2023)。例如, 茎叶等绿色器官能够进行光合作用, 具有能量固定、储存和转化的功能(Yamori, 2013; 孙梅等, 2017); 根系是植物吸收水分和营养物质以及感知和适应生物/非生物胁迫的重要器官(Hodge et al., 2009)。这些不同类型器官的形成以及它们的功能差异, 很大程度上取决于其特异性表达基因。在茎叶等绿色器官中主要鉴定到一些光合作用相关的特异性表达基因(陈爱敏, 2012; 李姬霜等, 2023), 如捕光叶绿素*a*/*b*结合蛋白(chlorophyll *a*/*b* binding protein, CAB)基因、核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)基因和丙酮酸正磷酸双激酶(pyruvate orthophosphate double kinase, PPDK)基因等。其中, CAB通过与光系统I和光系统II结合接收光能, 从而同化二氧化碳(Chitnis et al., 1988); Rubisco是光合作用中二氧化碳固定的催化剂, 也是光呼吸途径中关键的加氧酶(Spreitzer, 2003); PPDK是光合反应中的一个叶绿体酶, 催化二氧化碳初级受体生成磷酸烯醇式丙酮酸(王原媛等, 2010)。此外, 在植物根系中也鉴定到许多特异性表达的基因, 如糖基转移酶基因*At1g73160* (Vijaybhaskar et al., 2008)、磷酸盐转运蛋白基因*PHT1* (Mudge et al., 2003; Schünmann et al., 2004)、水分运输相关的水孔蛋白基因*TIP2* (徐登安等, 2015)以及盐胁迫相关的大豆乙醇脱氢酶基因*GmADR1* (Xun et al., 2021)。这些基因在根中特异性表达与根系的物质吸收和胁迫响应密切相关。因此, 研究植物体不同器官中特异性表达基因, 有利于深入理解植物不同器官的特异生理功能并解析其生长发

收稿日期: 2024-06-28; 接受日期: 2024-08-20
基金项目: 河南省重大科技专项(No.211100110100)和河南省重点研发与推广专项(科技攻关) (No.242102110305, No.242102110290)
* 通讯作者。E-mail: whuiweiw@163.com

育特性的调控机理。

油莎豆(*Cyperus esculentus*)又名虎坚果、地下核桃等，是一种特色块茎类油料作物(张学昆，2019; 杨帆和朱文学, 2020)。油莎豆的独特之处在于其地下块茎能储存大量的油脂，而一般根茎类作物(如甘薯(*Dioscorea esculenta*)、木薯(*Manihot esculenta*)和马铃薯(*Solanum tuberosum*))的块根/茎以储存糖类和淀粉为主，几乎不含油脂(闫军等，2016; 宋玉浩等, 2021; 魏云霞等, 2021; 崔鹏等, 2022)。此外，油莎豆属于三倍体物种，自身只能依赖块茎进行无性繁殖(王会伟等, 2023; 张向歌等, 2023)，其块茎相当于繁衍后代的“种子”。由此可见，块茎是油莎豆独特且极其重要的器官，对其特异性表达基因进行鉴定及功能分析，有助于理解油莎豆块茎独特的生长发育特性(尤其是油脂积累)并阐明其关键基因的调控机理。目前，尚未见关于油莎豆块茎特异性表达基因系统性鉴定的报道。本研究对油莎豆植株进行全生育期观察，明确其主要的不同类型器官；在此基础上，通过对不同类型器官的转录组测序，从全基因组水平鉴定油莎豆块茎特异性表达基因并分析其功能，旨在为解析油莎豆块茎特异性生长发育的分子调控机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为圆粒型油莎豆品种豫油莎2号(*Cyperus esculentus* L. cv. ‘Yuyousha No.2’)，由河南省农业科学院经济作物研究所选育，干块茎油脂含量可达32%。

1.2 方法

1.2.1 油莎豆全生育期生长发育观察

挑选大小均匀一致的油莎豆块茎，先用10%次氯酸钠溶液消毒5分钟，随后在人工气候室中进行沙土盆栽种植，生长条件为14小时光照(30°C)/10小时黑暗(28°C)。每5天观察1次生长发育状态：将植株地下部从沙土中取出，观察各器官的变化情况，包括生根发芽、匍匐茎形成、分蘖形成、块茎形成及膨大等，明确油莎豆生长发育特征。

1.2.2 油莎豆不同器官的油脂含量测定

根据油莎豆植株的生长发育情况，选取发育早期和晚期的不同器官(根、叶、匍匐茎、分蘖节和块茎)样品，采用索氏抽提法(魏红等，2004)进行油脂含量测定。每个样品重复3次。

1.2.3 RNA提取与测序

选取发育早期和晚期的不同器官样品(同1.2.2节)，采用RNA提取试剂盒(RNeasy Mini Kit，北京天根生化科技有限公司)提取每个样品的总RNA。利用Nanodrop 2000检测RNA的浓度和纯度，并利用琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性。质检合格后，等量混合相同器官的RNA，并通过Oligo (dT)磁珠富集真核生物mRNA。随后，采用离子打断的方式，将mRNA打断成300 bp左右的短片段，并反转录成cDNA，加接头后进行PCR扩增，以此分别构建根、叶、匍匐茎、分蘖节和块茎不同器官样本的cDNA文库。利用Illumina Novaseq 6000二代测序平台对构建好的文库进行150 bp双末端测序，数据量约为6 GB。

1.2.4 转录组基因鉴定及定量分析

利用Trimmomatic软件(Bolger et al., 2014)对测序原始数据进行过滤，获得纯净的测序读段(clean reads)。统计clean reads的Q20和Q30值，用于评估测序质量。基于油莎豆参考基因组(Zhao et al., 2023)，利用Hisat2 (Kim et al., 2015)软件进行各器官样品clean reads的比对分析，获得比对到参考基因组的匹配测序读段(mapped reads)，统计比对率(mapped ratio)。然后利用Stringtie软件(Pertea et al., 2015)对mapped reads进行全基因组表达基因鉴定，并对鉴定到的基因进行定量分析，每个基因的FPKM (Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped fragments)值代表其表达水平。基于各样品的基因表达矩阵，进行各器官样品间主成分分析(principal component analysis, PCA)，以评估测序数据的适用性。利用百迈客云平台(https://international.biocloud.net/)对所鉴定的基因进行功能注释分析，选择GO (Gene Ontology)、NR (Non-Redundant Protein Sequence)和Swiss-Prot数据库，获得基因的功能注释。

1.2.5 块茎特异性表达基因的鉴定

分别以根、叶、分蘖节和匍匐茎为对照, 对比筛选块茎中高表达、其它器官中低表达或无表达的基因。参考张欢等(2018)的研究方法, 筛选条件设置为块茎中基因表达水平FPKM/其它器官中基因表达水平FPKM≥10, 同时块茎中基因表达水平FPKM≥10且其它器官中基因表达水平FPKM<10。在此条件下, 分别筛选4个比较组(块茎/根、块茎/叶、块茎/匍匐茎和块茎/分蘖节)中的基因, 而4组共同筛选到的基因即为块茎特异性表达基因。

1.2.6 GO富集分析

基于MF (Molecular Function), 利用topGO (Alexa and Rahnenfuhrer, 2010)软件对鉴定的块茎特异性表达基因进行GO富集分析, 鉴定出这些基因显著富集的GO条目(*P*-value<0.05)。

1.2.7 转录因子预测分析

基于油莎豆参考基因组基因的蛋白质序列, 通过Plant-TFDB网站(http://planttfdb.gao-lab.org/prediction.php)进行油莎豆全基因组的转录因子预测分析, 选择“Best hit in *Arabidopsis thaliana*”, 鉴定出油莎豆中潜在的拟南芥同源转录因子编码基因。在此基础上, 进一步筛选出在油莎豆块茎中特异性表达的转录因子编码基因。

1.2.8 qRT-PCR分析

为了检验转录组测序的准确性, 选择若干个鉴定到的油莎豆块茎特异性表达基因进行qRT-PCR (quantitative real-time PCR)分析。利用Primer 5软件设计qRT-PCR特异性引物, 退火温度为58–60°C, 片段长度为150–300 bp。以*CESC_13967* (*ACTIN*)为内参基因, 引物序列见表1。将上述发育早期和晚期的不同器官样品中提取的RNA反转录成cDNA。利用SYBR Green PCR Master Mix (Takara)体系, 于Bio-Rad CFX96荧光定量PCR仪进行qRT-PCR扩增。以*ACTIN*为参照, 采用$2^{-\Delta\Delta CT}$法(Livak and Schmittgen, 2001)计算基因在不同器官样品中的相对表达水平。

2 结果与分析

2.1 油莎豆的生长发育特性分析

利用沙培对油莎豆生长发育进行全生育期观察。干块茎(图1A)沙土种植后, 10天左右开始发芽(图1B), 随后幼苗逐渐生长(图1C); 25天左右分蘖节处开始产生地下匍匐茎(图1D), 并陆续伸长、分化形成分蘖(图1E), 而新分蘖上也逐渐产生匍匐茎(图1E); 45天左右部分地下匍匐茎顶端开始膨大并形成块茎(图1F), 随后块茎逐渐变大(图1G); 100天左右叶片开始变枯黄(图1H), 油莎豆完成整个生命周期。由此表明, 油莎豆植株的主要器官为根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎。油莎豆被列为新型油料作物, 通过检测以上各器官中的油脂含量, 发现油莎豆早期和晚期的根、叶、分蘖节和匍匐茎中油脂含量均小于1.25%, 而种植100天后块茎中油脂含量可达31.56% (图1I), 表明油莎豆主要在块茎中特异性储存油脂。

2.2 油莎豆不同器官的转录组测序

利用Illumina Novaseq 6000二代测序平台对油莎豆根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎总RNA分别进行转录组测序。各器官样品获得的clean reads在54 318 808–58 869 179之间, 数据量clean bases均达6 GB以上, 并且碱基质量Q20和Q30值均高于93.40% (表2)。

表1 qRT-PCR特异性引物序列

Table 1 Specific primer sequences of qRT-PCR

Gene	Forward primer (5′–3′)	Reverse primer (5′–3′)
CESC_13967	ACTCTGGTGATGGTGTGAGC	CCCTCTCTCCGTCAGGATCT
CESC_00080	CTACCACCTCTCCGTGCTTC	CTACCACCTCTCCGTGCTTC
CESC_17828	GCACCAGAGAGAAGGACAGC	GCACCAGAGAGAAGGACAGC
CESC_00330	GACAAACCATCACCACAGCG	ATCACCAGCATCTTCCCGTC
CESC_18197	GCCACTCCATTCCGATTTGC	GCGTGAAGTTGCCGATGATG
CESC_16081	CGGGTCAACAGAAGAAGGAGC	CGTCGACAGTCTTGTTCTCC
CESC_03736	GGATTCGGTGATCTCGTGGG	CAGCTCTATCAGCCTCGCTT

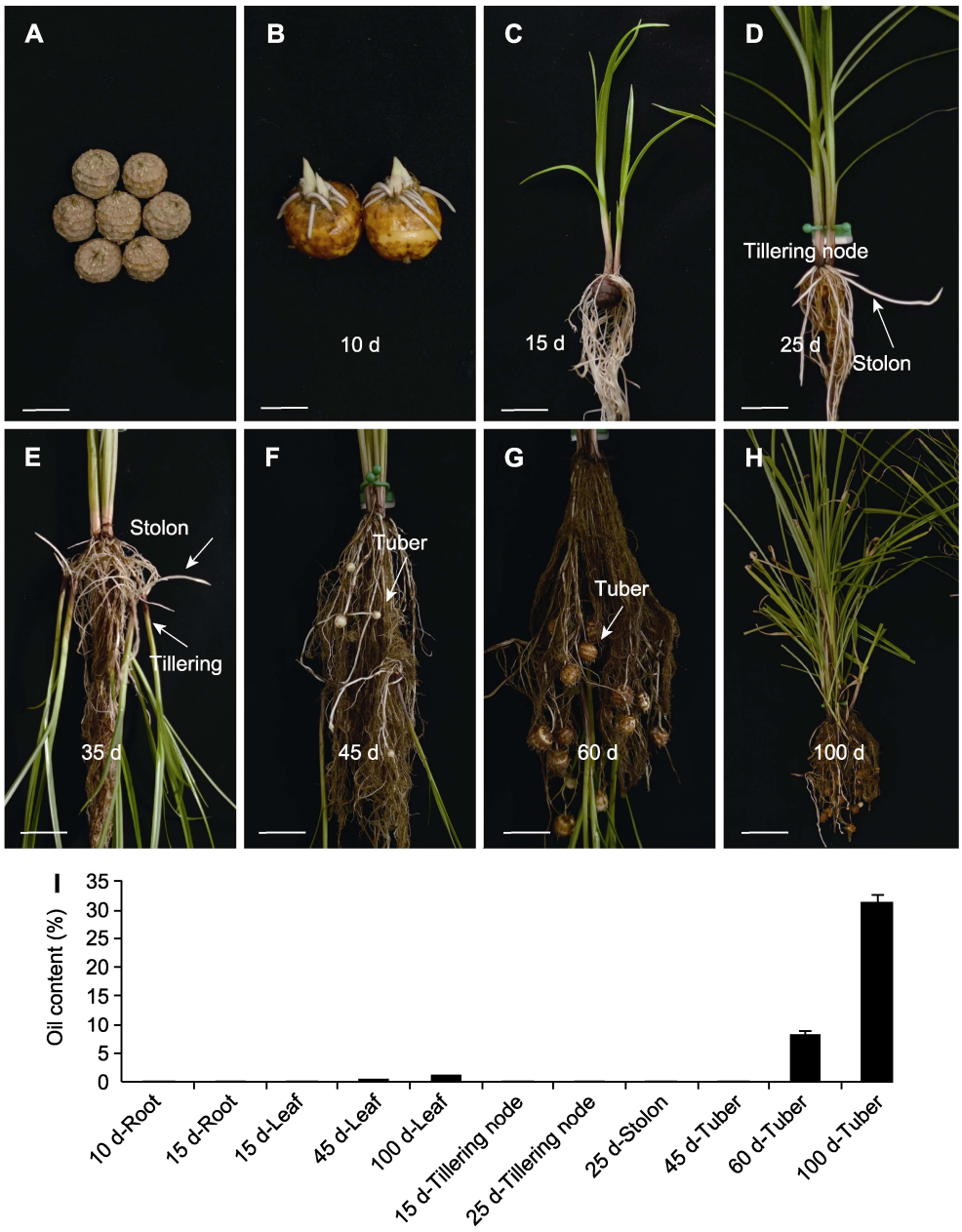


图1 油莎豆全生育期观察

(A) 干块茎(bar=20 mm); **(B)** 块茎发芽(bar=10 mm); **(C)** 幼苗生长(bar=50 mm); **(D)** 匍匐茎形成(bar=30 mm); **(E)** 分蘖形成(bar=25 mm); **(F)** 块茎形成(bar=25 mm); **(G)** 块茎变大(bar=25 mm); **(H)** 叶片枯黄(bar=80 mm); **(I)** 不同器官的油脂含量

Figure 1 Observation of the whole growth period of *Cyperus esculentus*

(A) Dried tuber (bar=20 mm); **(B)** Tuber germination (bar=10 mm); **(C)** Seedling growth (bar=50 mm); **(D)** Stolon formation (bar=30 mm); **(E)** Tillering formation (bar=25 mm); **(F)** Tuber formation (bar=25 mm); **(G)** The enlargement of tubers (bar=25 mm); **(H)** Dry yellow leaves (bar=80 mm); **(I)** The oil content in different organs

以新发布的油莎豆基因组为参考，根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎的比对率mapped ratio在89.66%–90.26%之间，分别鉴定出20 611、19 824、20 461、21 473和21 088个基因(图2A)。另外，各器官样品间基因表达量的PCA分析显示，根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎的基因表达量呈分散状态(图2B)，表明

表2 转录组测序数据统计分析

Table 2 Statistical analysis of transcriptome sequencing data

Samples	Clean reads	Clean bases	Q20 (%)	Q30 (%)	Mapped reads	Mapped ratio (%)
Root	57066812	8330335323	97.86	93.98	51517757	90.26
Leaf	54318808	7949486769	97.59	93.40	48848097	89.92
Tillering node	57497577	8370290261	97.26	93.71	51548858	89.66
Stolon	58790213	8560106850	97.72	93.68	52822328	89.85
Tuber	58869179	8582198623	97.65	94.56	52938611	89.93

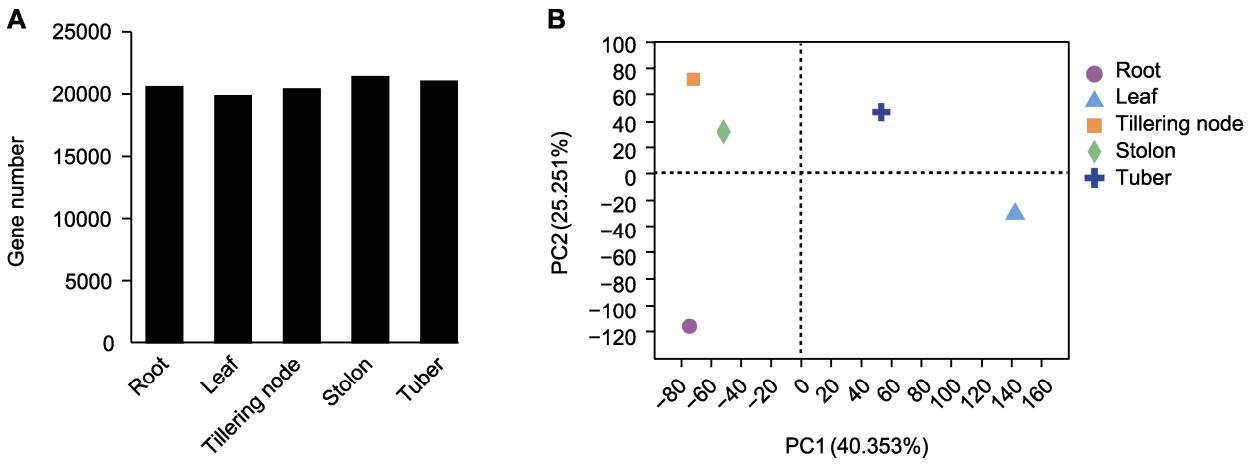


图2 油莎豆不同器官的转录组测序数据分析

(A) 不同器官中表达基因的数目; **(B)** 测序样品间基因表达量的主成分分析(PCA)

Figure 2 Analysis of transcriptome sequencing data of different organs of *Cyperus esculentus*

(A) Number of expressed genes in different organs; **(B)** Principal component analysis (PCA) of gene expression level among sequenced samples

不同器官样品间的基因表达模式明显不同。

2.3 油莎豆块茎特异性表达基因鉴定

分别以根、叶、分蘖节和匍匐茎为参照，在块茎/根组筛选出377个在块茎中高表达、根中低表达的基因(图3)；在块茎/叶组筛选出526个在块茎中高表达、叶中低表达的基因(图3)；在块茎/分蘖节组筛选出274个在块茎中高表达、分蘖节中低表达的基因(图3)；在块茎/匍匐茎组筛选出282个在块茎中高表达、匍匐茎中低表达的基因(图3)。最终，4组共筛选出155个块茎特异性表达基因(图3；表3)，这些基因在块茎中高表达并且在根、叶、匍匐茎和分蘖节中低表达，可能与块茎某些生长发育特性相关。值得注意的是，通过GO、NR和Swiss-Prot数据库的基因功能注释，发现99个基因具有功能注释，适合进行后续分析。

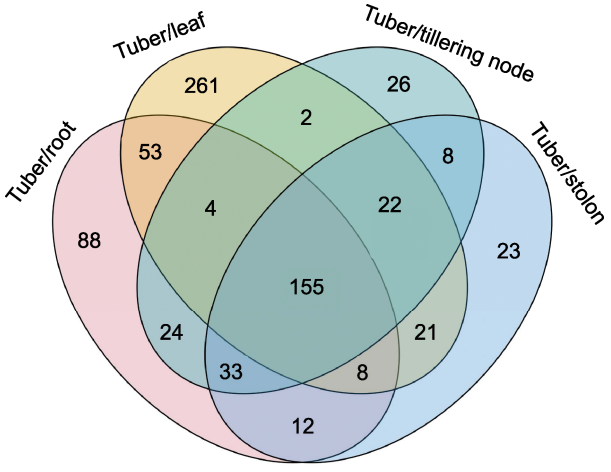


图3 油莎豆块茎特异性表达基因鉴定

Figure 3 Identification of tuber-specific expression genes in *Cyperus esculentus*

表3 油莎豆块茎特异性表达基因的表达水平

Table 3 Expression level of tuber-specific expression genes in *Cyperus esculentus*

Gene	Expression level (FPKM)					Gene	Expression level (FPKM)				
	Tuber	Root	Leaf	Stolon	Tillering node		Tuber	Root	Leaf	Stolon	Tillering node
CESC_17828	34980.30	0.19	0.51	9.23	6.20	*CESC_06642*	449.61	0.00	3.36	0.08	0.04
CESC_14076	24917.54	0.36	0.42	1.24	0.54	*CESC_11684*	424.54	2.11	0.12	2.17	0.94
CESC_08636	23808.18	0.00	2.95	1.11	1.38	*CESC_00836*	424.00	1.18	5.61	0.00	0.57
CESC_16708	20282.53	1.29	4.99	9.63	2.02	*CESC_04812*	394.97	0.00	0.51	0.02	0.52
CESC_14073	15607.24	0.13	0.50	1.73	7.62	*CESC_19053*	392.95	0.00	0.00	0.00	0.00
CESC_10265	8803.59	0.59	4.34	0.64	4.16	*CESC_13856*	384.53	4.48	1.53	3.09	2.19
CESC_13913	6560.83	0.09	0.02	0.06	0.13	*CESC_05739*	373.39	0.11	0.00	0.00	0.00
CESC_13892	6062.31	0.21	0.18	0.49	0.27	*CESC_15162*	373.06	2.23	1.79	1.55	1.20
CESC_14077	5890.09	1.05	0.06	0.51	0.77	*CESC_21269*	357.90	0.00	0.00	0.13	0.03
CESC_00080	4834.92	0.91	0.00	0.03	0.37	*CESC_12660*	335.49	4.32	2.69	4.42	1.52
CESC_12549	4632.55	0.00	0.03	0.00	0.00	*CESC_15141*	309.91	0.34	0.04	0.38	0.06
CESC_00832	3760.05	0.05	0.03	0.00	0.20	*CESC_15826*	293.80	0.44	3.71	1.88	1.94
CESC_15373	3721.68	6.39	6.24	4.11	6.27	*CESC_15198*	269.77	2.29	2.45	5.19	1.98
CESC_10351	3695.94	0.05	0.00	0.60	0.19	*CESC_03736*	268.07	0.77	7.39	3.50	8.35
CESC_18271	3694.18	1.46	1.25	3.06	1.59	*CESC_21099*	239.33	0.00	0.71	0.66	3.22
CESC_21136	3589.62	0.09	0.03	0.00	0.29	*CESC_15700*	239.04	0.00	2.84	0.90	0.37
CESC_07796	3057.85	0.02	0.06	0.19	0.09	*CESC_05388*	226.51	1.01	5.53	6.37	2.14
CESC_15694	2900.48	0.27	0.62	0.61	1.47	*CESC_16081*	208.50	0.00	0.00	0.22	0.38
CESC_03859	1780.16	0.06	0.00	0.26	0.92	*CESC_21299*	202.95	9.12	0.16	9.83	9.53
CESC_15801	1779.19	0.00	0.00	0.00	0.04	*CESC_06038*	197.18	0.08	0.24	0.56	1.48
CESC_19612	1385.35	0.00	0.04	0.17	0.02	*CESC_13442*	192.86	0.00	0.10	0.07	0.02
CESC_08819	1367.03	0.02	0.11	4.98	3.09	*CESC_13439*	187.91	0.00	0.00	0.13	0.25
CESC_18197	1341.87	3.87	0.03	0.28	0.14	*CESC_16862*	182.94	3.01	1.50	3.14	3.01
CESC_08728	1103.89	0.00	0.30	0.05	0.04	*CESC_16946*	174.53	0.28	1.54	4.13	6.34
CESC_17427	906.81	0.49	0.48	0.55	0.98	*CESC_12770*	173.37	0.06	0.04	0.00	0.00
CESC_17492	882.14	0.26	1.39	0.89	1.05	*CESC_01552*	165.58	0.86	0.35	0.29	1.30
CESC_17960	855.95	0.00	0.00	0.13	0.02	*CESC_22280*	164.99	0.01	1.64	3.39	1.20
CESC_08729	799.26	0.00	0.07	0.00	0.01	*CESC_19187*	163.80	0.79	0.54	0.61	0.23
CESC_12402	780.10	0.00	0.15	2.10	0.99	*CESC_06173*	160.18	0.00	0.16	0.03	0.00
CESC_14954	746.41	0.64	0.42	0.10	5.62	*CESC_06081*	156.16	0.12	0.22	1.02	0.41
CESC_08129	744.59	0.06	0.02	0.56	0.14	*CESC_06747*	155.97	0.00	0.00	0.00	0.00
CESC_21264	741.47	0.00	0.08	0.00	0.01	*CESC_12819*	149.97	0.00	0.00	0.00	0.00
CESC_15594	641.08	1.91	1.19	1.34	3.11	*CESC_02836*	146.94	0.08	0.15	2.06	0.23
CESC_23526	629.26	0.00	0.04	0.00	0.00	*CESC_05881*	145.16	0.38	0.79	0.45	0.11
CESC_08481	628.51	0.08	0.00	0.15	0.11	*CESC_02522*	138.38	0.08	0.04	0.04	0.04
CESC_10473	599.12	3.10	0.03	5.20	1.41	*CESC_18879*	122.55	0.02	0.09	2.88	1.18
CESC_00650	581.33	0.21	1.43	0.48	0.66	*CESC_19366*	117.03	2.24	0.67	4.73	3.77
CESC_19809	503.39	3.58	0.51	2.10	3.52	*CESC_09038*	116.42	1.54	0.23	7.88	2.86
CESC_19929	496.40	0.00	0.00	0.00	0.01	*CESC_16522*	115.51	5.22	0.32	6.70	7.14
CESC_02314	487.86	0.01	0.00	0.17	0.11	*CESC_16067*	112.60	0.00	0.01	0.39	0.12
CESC_22878	467.04	0.28	0.21	0.88	3.23	*CESC_21164*	108.78	1.17	0.10	2.93	5.67

表3 (续)

Table 3 (continued)

Gene	Expression level (FPKM)					Gene	Expression level (FPKM)				
	Tuber	Root	Leaf	Stolon	Tillering node		Tuber	Root	Leaf	Stolon	Tillering node
CESC_14581	106.85	0.00	0.08	0.00	0.12	*CESC_20039*	28.25	0.08	0.01	0.48	0.42
CESC_00606	106.35	0.05	2.56	0.18	0.65	*CESC_05180*	27.12	0.00	0.52	1.24	0.88
CESC_19685	101.57	0.10	0.08	0.05	0.07	*CESC_08911*	24.85	0.00	0.29	0.00	0.17
CESC_18501	100.73	0.13	0.00	0.06	0.01	*CESC_14442*	24.83	0.02	0.23	0.05	0.49
CESC_13203	98.13	0.06	0.00	2.70	3.72	*CESC_07266*	23.62	0.00	0.00	0.05	0.07
CESC_03998	92.03	1.35	0.80	1.19	0.84	*CESC_16550*	23.51	0.59	2.35	2.13	0.42
CESC_00033	91.70	0.02	0.06	2.20	0.67	*CESC_07944*	22.65	0.26	0.11	0.07	0.73
CESC_08253	90.37	0.12	0.00	0.00	0.00	*CESC_09860*	22.32	0.00	0.00	0.00	0.02
CESC_16780	89.47	3.47	0.56	2.98	2.45	*CESC_21859*	21.75	0.02	0.00	0.00	0.00
CESC_17762	89.08	4.78	0.16	2.53	3.16	*CESC_00937*	21.12	0.00	2.02	0.34	0.04
CESC_01315	87.53	2.04	6.90	0.87	0.70	*CESC_22858*	20.65	0.08	2.06	0.11	0.12
CESC_20841	87.40	1.66	0.24	0.12	3.91	*CESC_07385*	20.53	0.00	0.00	0.09	0.26
CESC_03712	83.29	0.00	0.07	0.03	0.06	*CESC_14874*	20.18	0.00	0.22	1.12	0.16
CESC_07763	77.09	2.08	3.42	5.30	2.33	*CESC_05835*	19.57	0.06	0.00	0.10	0.14
CESC_15211	76.33	0.38	0.03	0.20	0.09	*CESC_07703*	19.26	0.76	0.09	1.76	1.75
CESC_16572	74.95	0.00	0.00	0.00	0.01	*CESC_09861*	18.86	0.65	0.48	0.00	0.05
CESC_00448	70.32	5.66	2.95	5.91	2.01	*CESC_03897*	17.96	0.40	0.61	0.22	0.06
CESC_23041	68.12	0.00	0.02	1.45	1.87	*CESC_00298*	16.93	0.00	0.06	0.04	0.06
CESC_00990	68.06	0.36	0.42	4.76	6.24	*CESC_08232*	16.93	1.39	0.30	0.44	1.59
CESC_12231	67.00	0.94	1.19	5.59	2.33	*CESC_07388*	16.85	0.00	0.07	0.00	0.05
CESC_00330	66.87	0.10	0.03	0.40	0.25	*CESC_21561*	16.68	0.05	0.28	0.81	0.85
CESC_10266	65.28	0.00	0.00	0.05	0.00	*CESC_11936*	16.57	0.00	0.74	0.00	0.20
CESC_18500	59.91	0.00	0.00	0.05	0.02	*CESC_16352*	16.33	0.02	0.21	0.05	0.00
CESC_18904	59.67	0.59	0.05	0.27	0.10	*CESC_04055*	16.19	0.00	0.00	0.00	0.04
CESC_18474	58.76	0.61	0.15	0.00	0.00	*CESC_21332*	16.12	0.01	0.00	0.16	0.10
CESC_15687	58.13	0.72	4.91	1.77	0.88	*CESC_04595*	15.92	0.14	0.00	0.15	1.08
CESC_19611	56.45	0.00	0.05	0.00	0.00	*CESC_08350*	15.26	1.35	0.05	0.13	0.09
CESC_16328	55.34	1.70	0.71	1.67	0.74	*CESC_12816*	14.80	0.02	0.79	0.44	0.16
CESC_03405	55.28	0.20	0.03	0.32	0.27	*CESC_15370*	14.50	0.04	0.93	0.79	1.23
CESC_18761	54.94	0.78	0.12	3.31	1.48	*CESC_19797*	14.45	0.24	0.09	0.76	0.28
CESC_21600	53.08	0.00	0.08	0.00	0.02	*CESC_01169*	14.17	0.00	0.04	0.09	0.04
CESC_16965	52.69	0.35	0.65	0.86	2.69	*CESC_18475*	13.22	0.60	0.11	0.09	0.06
CESC_04051	51.21	0.00	0.04	0.06	0.03	*CESC_18599*	12.86	0.00	0.00	0.00	0.01
CESC_06673	47.23	0.00	0.51	0.02	0.00	*CESC_00742*	11.88	0.58	0.33	0.58	0.21
CESC_05193	40.93	0.00	1.38	0.11	0.04	*CESC_11046*	11.62	0.02	0.34	0.78	0.39
CESC_21100	40.35	0.00	0.00	0.00	0.09	*CESC_01166*	10.25	0.22	0.22	0.43	0.25
CESC_21308	32.28	1.24	1.62	0.57	2.02						

FPKM: 每千个碱基的转录每百万映射读取的片段

FPKM: Fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments

2.4 油莎豆块茎特异性表达基因的GO分析

基于MF对鉴定出的油莎豆块茎特异性表达基因进行GO富集分析，发现7个GO条目显著富集(图4A)，包括GO: 0009628 (非生物刺激响应)、GO: 0009408 (热响应)、GO: 0010344 (种子油体合成)、GO: 0019915 (油脂储存)、GO: 0009737 (脱落酸响应)、GO: 0006457 (蛋白折叠)和GO: 0048316 (种子发育)。这些显著富集的GO条目共包含33个基因(图4B)，而这些基因在油莎豆块茎中的特异性表达很可能与其块茎某些独特的生长发育特性密切相关。在GO: 0010344和GO: 0019915中，*CESC_00080*和*CESC_16572*编码油体钙蛋白(Caleosin)，*CESC_*

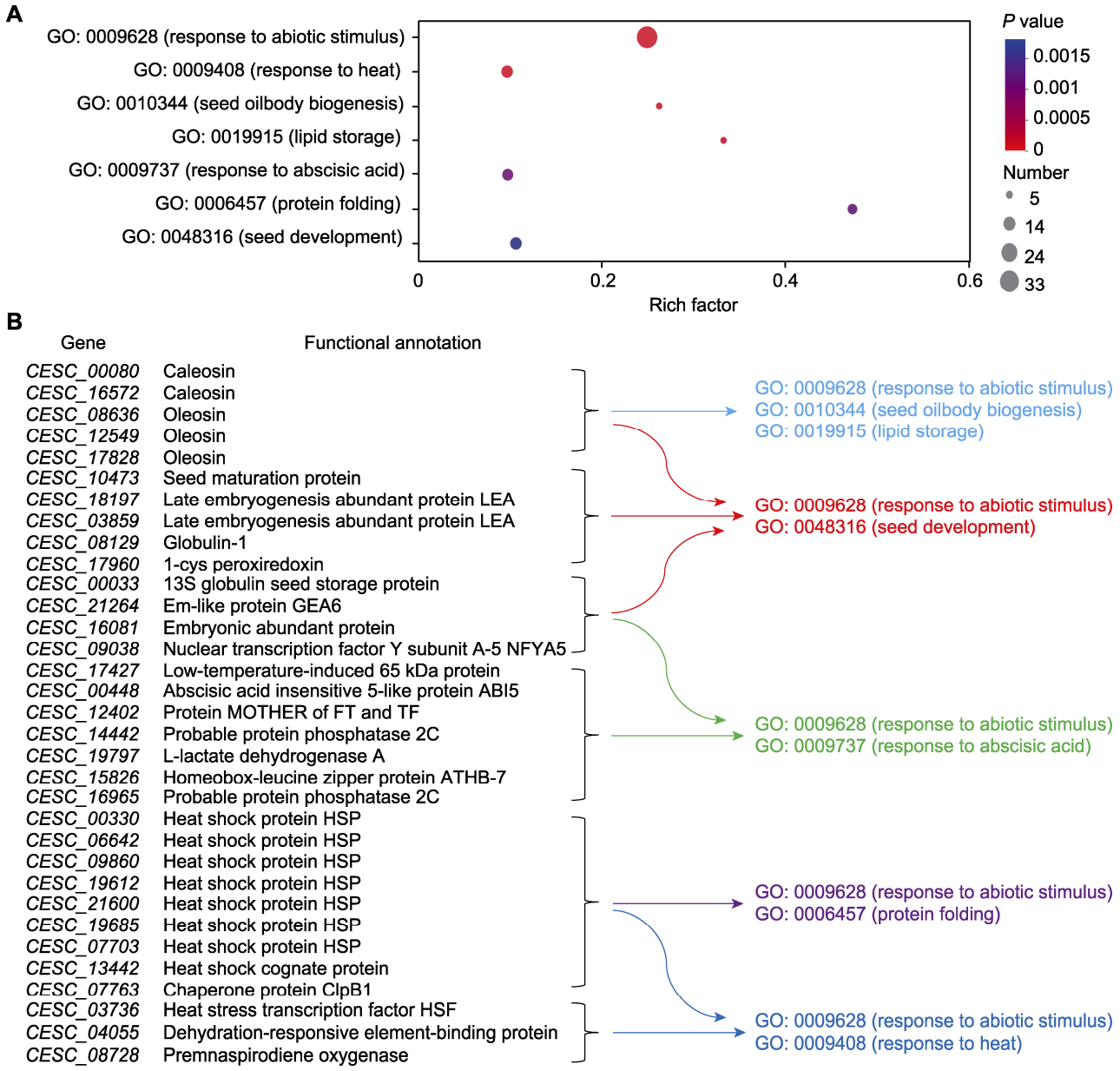


图4 油莎豆块茎特异性表达基因的GO富集分析

(A) 基于分子功能(MF)的GO富集气泡图; **(B)** 显著富集GO条目中所有基因的功能注释

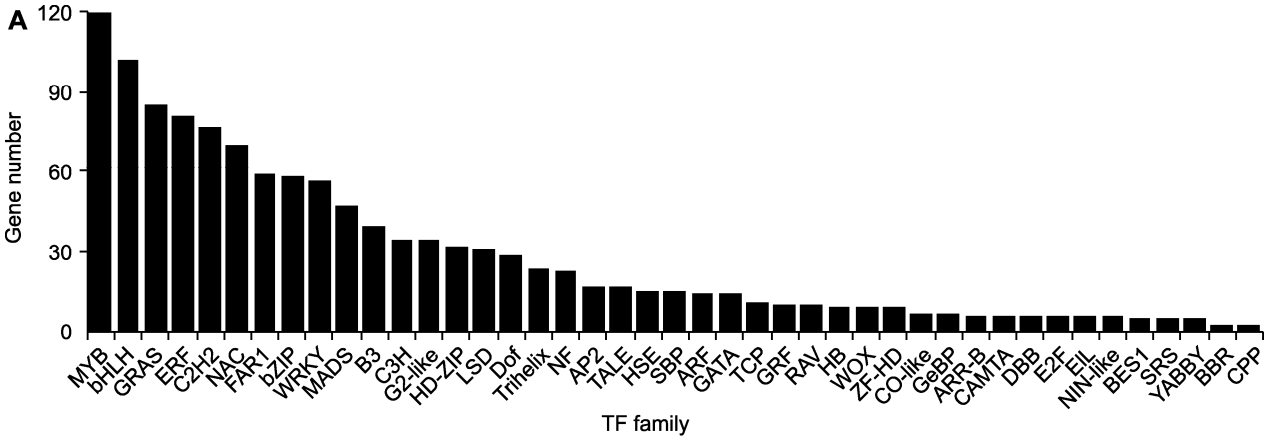
Figure 4 The GO enrichment analysis of tuber-specific expression genes in *Cyperus esculentus*

(A) The bubble diagram of GO enrichment based on molecular function (MF); **(B)** The functional annotation of all genes involved in significantly enriched GO terms

08636、*CESC_12549*和*CESC_17828*编码油体蛋白(Oleosin), 参与植物油体形成及油脂储存, 符合油莎豆仅在块茎中储存大量油脂的特点。在GO: 0048316中, 涉及14个基因(包含以上5个基因), 功能注释显示主要与种子成熟(*CESC_10473*)、蛋白储存(*CESC_08129*和*CESC_00033*)、油脂储存(*CESC_00080*、*CESC_16572* 、 *CESC_08636* 、 *CESC_12549* 和 *CESC_17828*)相关, 表明油莎豆块茎具有与种子(尤其是油料作物种子)类似的发育特征。GO: 0009737涉及的基因主要与脱落酸(abscisic acid, ABA)响应相关, 表明植物激素ABA参与调控油莎豆块茎的特异性发育过程, 如*CESC_00033* (13S globulin seed storage protein)、*CESC_21264* (em-like protein GEA6)、*CESC_16081* (embryonic abundant protein)和*CESC_09038* (nuclear transcription factor Y subunit A-5)可能通过响应ABA参与种子发育进程。另外, GO: 0009408和GO: 0006457主要涉及一些编码热激蛋白(heat shock protein, HSP)的基因, 响应热刺激, 参与蛋白折叠, 可能在油莎豆块茎特异性发育过程中发挥重要作用。

2.5 油莎豆块茎特异性表达转录因子的筛选

转录因子是基因表达的调控因子, 在各种生长发育进程及胁迫应答中发挥重要调控作用。通过油莎豆全基因组水平转录因子的预测分析, 共鉴定出1 333个转录因子编码基因, 隶属于30个转录因子家族, 其中MYB、bHLH、GRAS和ERF等家族转录因子编码基因数目较多(图5A)。对比以上鉴定到的油莎豆块茎特异性表达基因, 筛选出8个块茎特异性表达转录因子编码基因(图5B), 涉及bZIP、ERF、HD-ZIP、HSF和NF转录因子家族。这些转录因子编码基因可能调控其它块茎特异性表达基因, 进而调控油莎豆块茎某些特异性生长发育过程。其中, *CESC_00448* (编码abscisic acid insensitive 5-like protein ABI5)为ABA响应相关转录因子编码基因, 可能调控GO: 0009737(响应ABA)中某些基因的表达; *CESC_03736* (编码



B

TF gene	TF family	Functional annotation
CESC_00448	bZIP	Abscisic acid insensitive 5-like protein ABI5
CESC_08350	bZIP	G-box-binding factor 3 GBF3
CESC_21299	bZIP	Transcription factor HBP-1b
CESC_04055	ERF	Dehydration-responsive element-binding protein 2 DREB2
CESC_05180	ERF	Ethylene-responsive transcription factor 1B ERF1B
CESC_15826	HD-ZIP	Homeobox-leucine zipper protein ATHB-7
CESC_03736	HSF	Heat stress transcription factor HSF
CESC_09038	NF	Nuclear transcription factor Y subunit A-5 NFYA5

图5 油莎豆块茎特异性表达转录因子编码基因的筛选

(A) 油莎豆全基因组水平转录因子(TF)家族的鉴定; **(B)** 块茎特异性表达转录因子编码基因的功能注释

Figure 5 Identification of tuber-specific expression transcription factor genes in *Cyperus esculentus*

(A) Identification of genome-wide level transcription factor (TF) family in *C. esculentus*; **(B)** The functional annotation of tuber-specific expression transcription factor genes

heat stress transcription factor C)是一个热激转录因子编码基因，可能调控GO: 0006457 (蛋白折叠)中某些热激蛋白基因(*HSP*)的表达。

2.6 油莎豆块茎特异性表达基因的qRT-PCR验证

为了验证转录组测序结果中基因表达量的准确性，随机选取6个油莎豆块茎特异性表达基因(*CESC_00080*、*CESC_17828*、*CESC_00330*、*CESC_18197*、*CESC_16081*和*CESC_03736*)进行qRT-PCR验证。结果显示，6个基因在100天块茎和60天块茎中的相对表达量较高，而在其它器官中的相对表达量极低(图6)，与转录组测序分析结果相吻合，表明本研究转录组测序数据及分析结果真实、可靠。

3 讨论

随着高通量测序技术的发展和测序成本的降低，通过不同组织/器官转录组测序鉴定植物中各组织/器官特异性表达基因成为一种便捷手段。许多植物中不同组

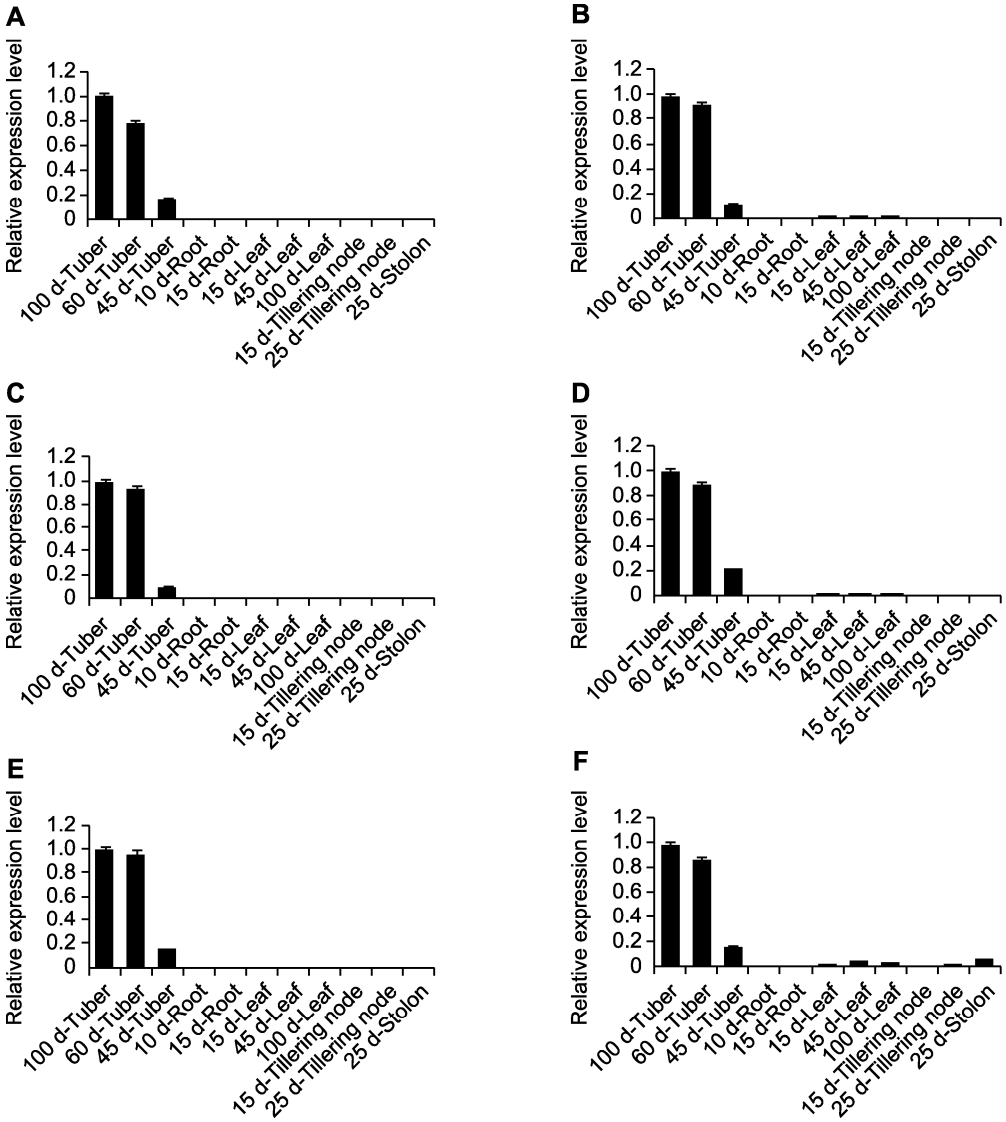


图6 油莎豆不同器官中块茎特异性表达基因的qRT-PCR分析
(A) *CESC_00080*; **(B)** *CESC_17828*; **(C)** *CESC_00330*; **(D)** *CESC_18197*; **(E)** *CESC_16081*; **(F)** *CESC_03736*

Figure 6 qRT-PCR analysis of tuber-specific expression genes in different organs of *Cyperus esculentus*
(A) *CESC_00080*; **(B)** *CESC_17828*; **(C)** *CESC_00330*; **(D)** *CESC_18197*; **(E)** *CESC_16081*; **(F)** *CESC_03736*

织/器官特异性表达基因得到快速、有效的鉴定(张欢等, 2018; 李远超等, 2023; 薛冬等, 2023), 为深入解析其组织/器官特异生理功能奠定了基础。油莎豆是目前唯一利用块茎储存大量油脂的新型油料作物, 并且自身除块茎外其它器官的油脂含量均较低, 因而富含油脂是油莎豆块茎独特的生长发育特性。本研究利用高通量测序技术对油莎豆的主要器官(根、叶、分蘖节、匍匐茎和块茎)进行转录组测序分析, 鉴定到155个块茎特异性表达基因。GO分析发现2个油脂相关的GO条目(GO: 0010344和GO: 0019915)显著富集, 涉及5个油体形成相关基因(编码油体钙蛋白的*CESC_00080*和*CESC_16572*以及编码油体蛋白的*CESC_08636*、*CESC_12549*和*CESC_17828*)。植物油脂主要以甘油三酯(triacylglycerol, TAG)形式储存, 而完成油脂储存主要包括以下几个过程: (1) 细胞质或线粒体中, 脂肪酸(fatty acid, FA)合成所需的碳供体产生; (2) 质体中FA的合成; (3) 游离的FA被运输到内质网进行TAG组装; (4) TAG被油体蛋白、油体钙蛋白和油体固醇蛋白(steroleosin)等多种蛋白包裹形成油体并以油体形式储存(周丹等, 2012; 范世航等, 2021)。因此, 油体的形成是植物完成油脂储存的关键步骤, 而油体形成相关基因*Oleosin*、*Caleosin*和*Steroleosin*的大量表达对油脂储存非常重要。常见油料作物大豆(*Glycine max*)、落花生(*Arachis hypogaea*)和油菜(*Brassica napus*)的种子中*Oleosin*和*Caleosin*基因的表达水平极高(Clevenger et al., 2016; Yang et al., 2019; Jia et al., 2022), 而非油料作物马铃薯和甘薯块茎/根中*Oleosin*和*Caleosin*基因的表达水平极低(Cai et al., 2022; Liu et al., 2023), 甘薯基因组中甚至出现*Oleosin*基因缺失的情况。由此表明, 油莎豆中*Oleosin*基因(C*ESC_08636*、*CESC_12549*和*CESC_17828*)及*Caleosin*基因(*CESC_00080*和*CESC_16572*)在块茎中的特异性高表达是其块茎能够储存大量油脂的关键所在。

GO富集分析发现, 种子发育相关的GO条目(GO: 0048316)也显著富集, 涉及的基因主要包括种子成熟相关基因*CESC_10473* (编码seed maturation protein)、蛋白储存相关基因*CESC_08129* (编码Globulin-1)和*CESC_00033* (编码13S globulin seed storage protein)、油脂储存相关基因(*CESC_00080*、*CESC_16572*、*CESC_08636*、*CESC_12549*和*CESC_17828*)。同时, ABA响应相关的GO条目(GO: 0009737)也显著富集, 涉及的基因主要包括物质储藏相关基因*CESC_00033* (编码13S globulin seed storage protein)、*CESC_21264* (编码em-like protein GEA6)以及ABA信号途径组分基因*CESC_14442* (编码protein phosphatase 2C)和*CESC_16965* (编码protein phosphatase 2C), 而ABA正是调控种子发育(如物质储藏过程)的关键植物激素(宋松泉等, 2023)。此外, 鉴定到7个热激蛋白基因(*CESC_00330*、*CESC_06642*、*CESC_09860*、*CESC_19612*、*CESC_21600*、*CESC_19685*和*CESC_07703*)和1个脱水响应基因(*CESC_04055*)为油莎豆块茎特异性表达基因, 而研究表明热激蛋白参与种子耐脱水性的获得(Smolikova et al., 2021; 宋松泉等, 2022)。综上, 本研究鉴定的油莎豆块茎特异性表达基因能有效对应油莎豆块茎独特的发育特性。

一般而言, 组织/器官特异性基因的表达与基因启动子调控元件或转录因子的选择性结合有关(李濯雪和陈信波, 2015)。实际上, 对于整个植株而言, 基因启动子中的顺式作用元件不具有组织/器官特异性, 因而基因的特异性表达可能源自组织/器官中特异性物质(信号)的诱导或者特异性表达转录因子的调控。本研究鉴定到8个油莎豆块茎特异性表达转录因子编码基因, 包括*CESC_00448* (编码ABA响应因子ABI5)、*CESC_03736* (编码热激转录因子HSF)、*CESC_21299* (编码bZIP转录因子HBP-1b)、*CESC_08350* (编码G-box结合蛋白GBF3)、*CESC_04055* (编码脱水响应转录因子DREB2)、*CESC_05180* (编码乙烯响应因子ERF1B)、*CESC_15826* (编码HD-ZIP转录因子ATHB-7)和*CESC_09038* (编码核转录因子NFYA5)。ABI5是ABA信号途径的核心成员, 能够调控*LEA*基因的表达, 参与调控种子的成熟过程(Alonso et al., 2009; Collin et al., 2021; 宋松泉等, 2023), 而本研究也鉴定到一些块茎特异性表达的*LEA*基因(*CESC_18197*和*CESC_03859*)。热激转录因子能够调控热激蛋白基因(*HSP*)的表达(Qu et al., 2013), 且HSP与种子成熟过程中耐脱水性的获得密切相关(Wehmeyer and Vierling, 2000), 而本研究也鉴定到一些块茎特异性表达的*HSP*基因(*CESC_00330*、*CESC_06642*、*CESC_09860*、*CESC_19612*、*CESC_21600*、

*CESC_19685*和*CESC_07703*)。HBP-1b调控组蛋白编码基因的表达, 进而可能对其它植物的基因表达产生广泛的调控作用(Mikami et al., 1994; 李占杰和秦源, 2021)。因此, 这些块茎特异性表达的转录因子编码基因可能调控各自靶基因的特异性表达, 进而启动其它块茎特异性基因表达。其余几个特异性表达转录因子的调控功能在其它植物中也均有相关报道。GBF3、ATHB-7和NFYA5影响许多干旱胁迫响应基因的表达, 进而参与调控植物的耐旱性(Söderman et al., 1996; Li et al., 2008; Ramegowda et al., 2017); ERF1B在冷胁迫反应中发挥关键的调节作用(Wang et al., 2021); DREB2在干旱、低温和高盐等非生物胁迫下调节一系列下游应答基因, 是植物适应逆境胁迫的重要调节因子(刘坤等, 2022; Izadi-Darbandi et al., 2023)。这些抗逆相关的转录因子的编码基因在油莎豆块茎中特异性表达, 可能与地下块茎时常抵抗土壤中干旱、低温和高盐等非生物逆境密切相关。

作者贡献声明

张向歌: 数据分析和论文初稿撰写; 陈晨和程珊: 实验材料种植、样品采集和数据整理; 李春鑫和朱雅婧: 实验技术指导和协助数据分析; 许欣然和王会伟: 实验方案设计和论文修改。

参考文献

Alexa A, Rahnenfuhrer J (2010). topGO: enrichment analysis for gene ontology. R Package Version 2.0. 2010.

Alonso R, Oñate-Sánchez L, Weltmeier F, Ehlert A, Diaz I, Dietrich K, Vicente-Carbajosa J, Dröge-Laser W (2009). A pivotal role of the basic leucine zipper transcription factor bZIP53 in the regulation of *Arabidopsis* seed maturation gene expression based on heterodimerization and protein complex formation. *Plant Cell* **21**, 1747–1761.

Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* **30**, 2114–2120.

Cai ZQ, Cai ZP, Huang JL, Wang AQ, Ntambiyukuri A, Chen BM, Zheng GH, Li HF, Huang YM, Zhan J, Xiao D, He LF (2022). Transcriptomic analysis of tuberous root in two sweet potato varieties reveals the important genes and regulatory pathways in tuberous root development. *BMC Genomics* **23**, 473.

Chen AM (2012). Research progress on stem/leaf-specific promoters in rice. *Mod Agric Sci Technol* (17), 16–17, 19. (in Chinese)
陈爱敏 (2012). 水稻茎叶特异性启动子研究进展. 现代农业科技 (17), 16–17, 19.

Chen JQ, Zhao MZ, Wang Y, Zhang MP (2023). Research progress on tissue specific promoters in plant. *North Hortic* (19), 128–134. (in Chinese)
陈建琦, 赵明珠, 王义, 张美萍 (2023). 植物中组织特异性启动子的研究进展. 北方园艺 (19), 128–134.

Chitnis PR, Morishige DT, Nechushtai R, Thornber JP (1988). Assembly of the barley light-harvesting chlorophyll *a*/*b* proteins in barley etiochloroplasts involves processing of the precursor on thylakoids. *Plant Mol Biol* **11**, 95–107.

Clevenger J, Chu Y, Scheffler B, Ozias-Akins P (2016). A developmental transcriptome map for allotetraploid *Arachis hypogaea*. *Front Plant Sci* **7**, 1446.

Collin A, Daszkowska-Golec A, Szarejko I (2021). Updates on the role of ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5) and ABSCISIC ACID-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTORs (ABFs) in ABA signaling in different developmental stages in plants. *Cells* **10**, 1996.

Cui P, Zhao YR, Yao ZP, Pang LJ, Lu GQ (2022). Starch physicochemical properties and expression levels of anabolism key genes in sweetpotato under low temperature. *Sci Agric Sin* **55**, 3831–3840. (in Chinese)
崔鹏, 赵逸人, 姚志鹏, 庞林江, 陆国权 (2022). 低温对甘薯淀粉理化特性及代谢关键基因表达量的影响. 中国农业科学 **55**, 3831–3840.

Fan SH, Liu N, Hua W (2021). Research advances in the biosynthesis and regulation of lipid in oil crops. *Chin J Oil Crop Sci* **43**, 361–375. (in Chinese)
范世航, 刘念, 华玮 (2021). 油料作物油脂合成调控研究进展. 中国油料作物学报 **43**, 361–375.

Hodge A, Berta G, Doussan C, Merchan F, Crespi M (2009). Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil* **321**, 153–187.

Izadi-Darbandi A, Alameldin H, Namjoo N, Ahmad K (2023). Introducing sorghum *DREB2* gene in maize (*Zea mays* L.) to improve drought and salinity tolerance. *Biotechnol Appl Biochem* **4**, 1480–1488.

Jia Y, Yao M, He X, Xiong XH, Guan M, Liu ZS, Guan CY, Qian LW (2022). Transcriptome and regional association analyses reveal the effects of oleosin genes on the accumulation of oil content in *Brassica napus*. *Plants* **11**, 3140.

Jiao Y, Liu XQ, Jiang HY, Chen RM (2019). Research advances of plant tissue specific promoters. *J Agric Sci Technol* **21**, 18–28. (in Chinese)
焦勇, 柳小庆, 江海洋, 陈茹梅 (2019). 植物组织特异性启动子研究进展. 中国农业科技导报 **21**, 18–28.

Kim D, Langmead B, Salzberg SL (2015). HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nat Methods* **12**, 357–360.

Li JS, Xue X, Xu J, Wu B (2023). Cloning and activity comparison of eight green tissue-specific promoters. *Mol Plant Breed*, 1–13 [2024-05-25]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230524.1143.006.html. (in Chinese)
李姬霜, 薛旭, 徐静, 吴斌 (2023). 八个绿色组织特异性启动子的克隆及活性比较. 分子植物育种, 1–13 [2024-05-25]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230524.1143.006.html.

Li WX, Oono Y, Zhu JH, He XJ, Wu JM, Iida K, Lu XY, Cui XP, Jin HL, Zhu JK (2008). The *Arabidopsis* NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and post-transcriptionally to promote drought resistance. *Plant Cell* **20**, 2238–2251.

Li YC, Li K, Wang LN, Chen X, Li YZ, Wang WQ (2023). Cloning and identification of root tissue-specific promoter from cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). *J South Agric* **54**, 1925–1932. (in Chinese)
李远超, 李可, 王连南, 陈新, 李有志, 王文泉 (2023). 木薯根组织特异性启动子的克隆及鉴定. 南方农业学报 **54**, 1925–1932.

Li ZJ, Qin Y (2021). Chromatin accessibility and the gene expression regulation in plants. *Chin Bull Bot* **56**, 664–675. (in Chinese)
李占杰, 秦源 (2021). 染色质可及性与植物基因表达调控. 植物学报 **56**, 664–675.

Li ZX, Chen XB (2015). Research advances in plant tissue specific promoters and related *cis*-acting elements. *J Biol* **32**(6), 91–95. (in Chinese)
李濯雪, 陈信波 (2015). 植物组织特异性启动子及相关顺式作用元件研究进展. 生物学杂志 **32**(6), 91–95.

Liu K, Li GJ, Yang Q (2022). Research progress in DREB/CBF transcription factor involved in responses in plant to abiotic stress. *Biotechnol Bull* **38**(5), 201–214. (in Chinese)
刘坤, 李国婧, 杨杞 (2022). 参与植物非生物逆境响应的DREB/CBF转录因子研究进展. 生物技术通报 **38**(5), 201–214.

Liu YH, Li YM, Liu Z, Wang L, Lin-Wang K, Zhu JY, Bi ZZ, Sun C, Zhang JL, Bai JP (2023). Integrative analysis of metabolome and transcriptome reveals a dynamic regulatory network of potato tuber pigmentation. *iScience* **26**, 105903.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* **25**, 402–408.

Mikami K, Sakamoto A, Iwabuchi M (1994). The HBP-1 family of wheat basic/leucine zipper proteins interacts with overlapping *cis*-acting hexamer motifs of plant histone genes. *J Biol Chem* **269**, 9974–9985.

Mudge SR, Smith FW, Richardson AE (2003). Root-specific and phosphate-regulated expression of phytase under the control of a phosphate transporter promoter enables *Arabidopsis* to grow on phytate as a sole P source. *Plant Sci* **165**, 871–878.

Pertea M, Pertea GM, Antonescu CM, Chang TC, Mendell JT, Salzberg SL (2015). StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. *Nat Biotechnol* **33**, 290–295.

Qu AL, Ding YF, Jiang Q, Zhu C (2013). Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochem Biophys Res Commun* **432**, 203–207.

Ramegowda V, Gill US, Sivalingam PN, Gupta A, Gupta C, Govind G, Nataraja KN, Pereira A, Udayakumar M, Mysore KS, Senthil-Kumar M (2017). GBF3 transcription factor imparts drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep* **7**, 9148.

Schünmann PHD, Richardson AE, Smith FW, Delhaize E (2004). Characterization of promoter expression patterns derived from the *Pht1* phosphate transporter genes of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J Exp Bot* **55**, 855–865.

Smolikova G, Leonova T, Vashurina N, Frolov A, Medvedev S (2021). Desiccation tolerance as the basis of long-term seed viability. *Int J Mol Sci* **22**, 101.

Söderman E, Mattsson J, Engström P (1996). The *Arabidopsis* homeobox gene *ATHB-7* is induced by water deficit and by abscisic acid. *Plant J* **10**, 375–381.

Song SQ, Liu J, Tang CF, Cheng HY, Wang WQ, Zhang Q, Zhang WH, Gao JD (2022). Research progress on the physiology and its molecular mechanism of seed desiccation tolerance. *Sci Agric Sin* **55**, 1047–1063. (in Chinese)
宋松泉, 刘军, 唐翠芳, 程红焱, 王伟青, 张琪, 张文虎, 高家东 (2022). 种子耐脱水性的生理及分子机制研究进展. 中国农业科学 **55**, 1047–1063.

Song SQ, Tang CF, Lei HP, Fei ST, Chen HB (2023). Research progress on seed development regulated by ABA. *Guihaia* **43**, 1553–1567. (in Chinese)

宋松泉，唐翠芳，雷华平，费思恬，陈海波 (2023). ABA调控种子发育的研究进展. 广西植物 **43**, 1553–1567.

Song Y, Zhou JH, Zhang YQ (2007). Research on plant tissue-specific promoters. *Biotechnol Bull* (6), 21–24. (in Chinese)
宋扬，周军会，张永强 (2007). 植物组织特异性启动子研究. 生物技术通报 (6), 21–24.

Song YH, Shi WL, Zhang J, Ding ZY, Peng HX, Jiang CY, Ma QQ, Li ZJ, Zhao Y, Tang DB, Zhang K, Wang JC, Liu X (2021). Development and application of an efficient method for the amylose/amylopectin ratio determination in potato tubers. *Acta Hortic Sin* **48**, 600–608. (in Chinese)
宋玉浩，史伟玲，张娇，丁振宇，彭洪娴，蒋春燕，马秋芹，李芝静，赵勇，唐道彬，张凯，王季春，刘勋 (2021). 马铃薯块茎淀粉组分高效检测体系的建立及应用. 园艺学报 **48**, 600–608.

Spreitzer RJ (2003). Role of the small subunit in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Arch Biochem Biophys* **414**, 141–149.

Sun M, Tian K, Zhang Y, Wang H, Guan DX, Yue HT (2017). Research on leaf functional traits and their environmental adaptation. *Plant Sci J* **35**, 940–949. (in Chinese)
孙梅，田昆，张赟，王行，管东旭，岳海涛 (2017). 植物叶片功能性状及其环境适应研究. 植物科学学报 **35**, 940–949.

Vijaybhaskar V, Subbiah V, Kaur J, Vijayakumari P, Siddiqi I (2008). Identification of a root-specific glycosyltransferase from *Arabidopsis* and characterization of its promoter. *J Biosci* **33**, 185–193.

Wang HW, Zhu SX, Zhang XY, Wang Y, Yang TG, Zhang XG, Wang SF, Li CX (2023). Genome size, ploidy and phylogeny of *Cyperus esculentus* L. *J Henan Agric Sci* **52**, 34–41. (in Chinese)
王会伟，朱世新，张新友，王艳，杨铁钢，张向歌，王树峰，李春鑫 (2023). 油莎豆基因组大小、倍性和系统发育分析. 河南农业科学 **52**, 34–41.

Wang YC, Jiang HY, Mao ZL, Liu WJ, Jiang SH, Xu HF, Su MY, Zhang J, Wang N, Zhang ZY, Chen XS (2021). Ethylene increases the cold tolerance of apple via the MdERF1B-MdCIbHLH1 regulatory module. *Plant J* **106**, 379–393.

Wang YY, Bai YF, Zhang DY (2010). Application of plants pyruvate orthophosphate dikinase in genetic engineering. *J Shanxi Agric Sci* **38**(8), 88–91. (in Chinese)
王原媛，白云凤，张定宇 (2010). 植物PPDK基因在基因工程中的应用. 山西农业科学 **38**(8), 88–91.

Wehmeyer N, Vierling E (2000). The expression of small heat shock proteins in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance. *Plant Physiol* **122**, 1099–1108.

Wei H, Zhong HJ, Wang H (2004). Improvement on determination of crude oil by soxhlet extraction. *China Oils Fats* **29**, 52–54. (in Chinese)
魏红，钟红舰，汪红 (2004). 索氏抽提法测定粗脂肪含量的改进. 中国油脂 **29**, 52–54.

Wei YX, Wang J, Li T, Liu LJ, Huang J, Zheng YQ (2021). Potassium application improved the agronomic properties and starch components of cassava. *Chin J Trop Crops* **42**, 102–109. (in Chinese)
魏云霞，王娟，李天，刘丽娟，黄洁，郑永清 (2021). 施钾改善木薯农艺性状及淀粉组分. 热带作物学报 **42**, 102–109.

Xu DA, Zhao CQ, Zhang CH, Chen J (2015). Expression patterns of a root-specific barley aquaporin gene *HvTIP2;1* and promoter. *China Biotechnol* **35**(7), 15–21. (in Chinese)
徐登安，赵纯钦，张赤红，陈静 (2015). 大麦水孔蛋白基因*HvTIP2;1*及其启动子的表达特性分析. 中国生物工程杂志 **35**(7), 15–21.

Xue D, Yan Q, Hu YQ, Zhou YY, Wei YW, Yuan XX, Wang XJ, Chen X (2023). Genome-scale mining of root-preferential genes from soybean and characterization of their promoter activity. *Plant Physiol J* **59**, 55–66. (in Chinese)
薛冬，闫强，胡亚群，周琰琰，韦雅雯，袁星星，王学军，陈新 (2023). 大豆根系特异表达基因全基因组水平挖掘及其启动子活性鉴定. 植物生理学报 **59**, 55–66.

Xun HW, Zhang X, Yu JM, Pang JS, Wang SC, Liu B, Dong YS, Jiang LL, Guo DQ (2021). Analysis of expression characteristics of soybean leaf and root tissue-specific promoters in *Arabidopsis* and soybean. *Transgenic Res* **30**, 799–810.

Yamori W (2013). Improving photosynthesis to increase food and fuel production by biotechnological strategies in crops. *J Plant Biochem Physiol* **1**, 1000113.

Yan J, Du J, Li C, Chen B, Shen YH (2016). Main components analysis of *Cyperus esculentus* in Jingbian, Shaanxi. *China Oils Fats* **41**(3), 85–88. (in Chinese)
闫军，杜静，李聪，陈邦，申烨华 (2016). 陕西靖边油莎豆主要成分分析. 中国油脂 **41**(3), 85–88.

Yang F, Zhu WX (2020). Research status and prospect of *Cyperus esculentus*. *Cereals Oils* **33**(7), 4–6. (in Chinese)
杨帆，朱文学 (2020). 油莎豆研究现状及展望. 粮食与油脂 **33**(7), 4–6.

Yang SN, Miao L, He JB, Zhang K, Li Y, Gai JY (2019). Dynamic transcriptome changes related to oil accumula-

tion in developing soybean seeds. *Int J Mol Sci* **20**, 2202.

Zhang H, Yang YJ, Li DL, Song JK, Ma CH, Wang R (2018). RNA-Seq analysis of the tissue-specific expressed genes of *Pyrus betulaefolia* in root, stem and leaf. *Acta Hortic Sin* **45**, 1881–1894. (in Chinese)

张欢，杨英杰，李鼎立，宋健坤，马春晖，王然 (2018). 杜梨根茎叶特异表达基因的RNA-Seq分析. 园艺学报 **45**, 1881–1894.

Zhang XG, Song WX, Zhu YJ, Yu MQ, Song WX, Wang SF, Li JZ, Wang HW (2023). Content changes of endogenous hormones in *Cyperus esculentus* tuber during germination. *Seed* **42**(8), 45–49. (in Chinese)

张向歌，宋万献，朱雅婧，于美琴，宋雯栩，王树峰，李居政，王会伟 (2023). 油莎豆茎豆萌发过程中内源激素含量的变化. 种子 **42**(8), 45–49.

Zhang XK (2019). R & D progress report of *Cyperus esculentus* industry in China. *China Rural Sci Technol* (4), 67–69. (in Chinese)

张学昆 (2019). 我国油莎豆产业研发进展报告. 中国农村科技 (4), 67–69.

Zhao XQ, Yi LX, Ren YF, Li J, Ren W, Hou ZH, Su SF, Wang JG, Zhang YY, Dong Q, Yang XD, Cheng YC, Lu ZY (2023). Chromosome-scale genome assembly of the yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*). *Genome Biol Evol* **15**, evad027.

Zhou D, Zhao JZ, Bai Y, Zhang Q, Jing W, Zhang WH (2012). Research advance in triacylglycerol synthesis, metabolism, and regulation in plants. *J Nanjing Agric Univ* **35**(5), 77–86. (in Chinese)

周丹，赵江哲，柏杨，张群，井文，章文华 (2012). 植物油脂合成代谢及调控的研究进展. 南京农业大学学报 **35**(5), 77–86.

Identification and Analysis of Tuber-specific Expression Genes in *Cyperus esculentus*

Xiangge Zhang, Chen Chen, Shan Cheng, Chunxin Li, Yajing Zhu, Xinran Xu, Huiwei Wang*

Industrial Crop Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China

Abstract Tuber is a unique and extremely important organ of *Cyperus esculentus*, which is rich in oil and has the reproduction ability similar to seed. It is of great significance to study the specific expression genes in the tubers of *C. esculentus* for analyzing the regulation mechanism of tuber-specific growth and development (especially oil accumulation). Through transcriptome sequencing of the main organs (root, leaf, tillering node, stolon and tuber) of *C. esculentus*, the genes specifically expressed in tubers were comprehensively screened and the functions of related genes were analyzed. The results showed that a total of 155 tuber-specific expression genes were identified after multiple sets of comparative analysis by taking root, leaf, tillering node and stolon as reference, respectively. GO enrichment analysis showed that 7 GO terms including seed development, seed oilbody biogenesis, oil storage, abscisic acid response, response to abiotic stimulus and protein folding were significantly enriched, and some of the genes involved in these GO terms just reflected the unique development characteristics similar to seed of *C. esculentus* tubers. Among them, *CESC_00080* and *CESC_16572* encode caleosin, and meanwhile, *CESC_08636*, *CESC_12549* and *CESC_17828* encode oleosin, all of which are involved in the formation of plant oil bodies. Since oil body formation is a key step for plants to complete oil storage, it is indicated that the specific expression of these oil body formation-related genes in tubers may be the key to the storage of large amounts of oil in the tubers of *C. esculentus.* In addition, this study also screened eight tuber-specific expression transcription factor genes, such as *CESC_00448* (abscisic acid insensitive 5-like protein ABI5) and *CESC_03736* (heat stress transcription factor C), some of whose potential target genes were found in identified tuber-specific expression genes, indicating that these transcription factor genes may regulate the specific expression of their respective target genes. In summary, the results of this study can provide an important reference for the construction of gene regulatory networks related to tuber development of *C. esculentus* and the molecular mechanism analysis of tuber-specific gene expression.

Key words *Cyperus esculentus*, tuber, transcriptome sequencing, specific expression

Zhang XG, Chen C, Cheng S, Li CX, Zhu YJ, Xu XR, Wang HW (2025). Identification and analysis of tuber-specific expression genes in *Cyperus esculentus*. *Chin Bull Bot* **60**, 33–48.

---

* Author for correspondence. E-mail: whuiweiw@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)

通讯作者简介

王会伟, 博士, 研究员, 河南省优秀专家, 享受国务院特殊津贴专家。河南省农业科学院经济作物研究所副所长, 油莎豆学科技术带头人。主要从事油莎豆种质资源鉴定、评价和创制, 关键性状形成机制解析, 品种遗传改良等研究。