作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2021, 47(9): 1639–1653 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04223

利用 WGCNA 鉴定花生主茎生长基因共表达模块

汪 颖 高 芳 刘兆新 赵继浩 赖华江 潘小怡 毕 晨
李向东 杨东清*

山东农业大学农学院 / 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018

摘 要: 以不同主茎高花生品种为材料, 利用转录组测序技术分析茎秆转录组基因表达的异同, 并结合加权基因共表达网络分析(WGCNA), 深入挖掘与主茎生长相关基因, 深入认识花生茎秆形态建成的分子机制。结果表明, 矮秆型 Df216 与高秆型花育 33 号相比较共有 5872 个差异基因; Df216 与中间型山花 108 相比较共有 6662 个差异基因, 这些差异基因涉及细胞壁和次生细胞壁的生物起源及调控过程、苯丙烷生物合成及代谢过程、木质素生物合成过程、纤维素合酶活性等分子功能。WGCNA 鉴定到 5 个与主茎高呈极显著相关的共表达模块。编码咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶、转录因子 ATAF2、WAT1、GDSL 脂肪酶等基因是模块内的核心基因。通过筛选权重值构建核心基因的局部网络发现, Grey60 模块的核心基因 *ADRL3L* 与编码莽草酸香豆酯/奎酸酯 3'-羟化酶、4-香豆酸辅酶 A 连接酶、羟基肉桂酰辅酶 A 莽草酸/奎尼酸羟基肉桂酰转移酶、以及快速碱化因子、锌指蛋白、类 COBRA 蛋白等基因有较高互作网络关系; Brown 模块核心基因 *TZB0A2* 则与编码β-1,4-半乳糖基转移酶、果胶乙酰酯酶、类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、富含亮氨酸重复序列的伸展蛋白等基因有较高互作网络关系。相关模块与核心基因的挖掘以及基因生物学功能和互作网络的解析有助于揭示花生主茎生长的遗传基础。

关键词: 花生; 主茎高; 转录组; 加权基因共表达网络; 核心基因

Identification of gene co-expression modules of peanut main stem growth by WGCNA

WANG Ying, GAO Fang, LIU Zhao-Xin, ZHAO Ji-Hao, LAI Hua-Jiang, PAN Xiao-Yi, BI Chen, LI Xiang-Dong, and YANG Dong-Qing*

College of Agronomy, Shandong Agricultural University / State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, Shandong, China

Abstract: This study was investigated the difference of transcriptome using three different peanut varieties with high main stem by RNA-seq. Transcriptomics combined with weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was used to explore the hub genes related to main stem growth and the molecular mechanisms of morphological formation of peanut stems. Results showed that 5872 differential expressed genes (DEGs) were detected in the Df216 and Huayu 33 comparation group, while 6662 DEGs were detected in the Df216 and Shanhua 108 comparation group. GO analysis suggested that these DEGs were mainly involved in molecular function and biological process, including the primary and secondary cell wall organization and biogenesis, phenylpropanoid biosynthetic and metabolic process, lignin biosynthetic process, and cellulose synthase activity, respectively. There were 33 modules were identified by WGCNA, among which five modules (Grey60, Cyan, Darkolivegreen, Brown, and Blue) were highly significant association with main stem height. According to the connectivity of genes in modules, caffeoyl-CoA

本研究由国家重点研发计划项目"大田经济作物优质丰产的生理基础与调控" (2018YFD1000900), 山东省重大科技创新工程项目(2018YFJH0601-3), 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019ZZ11)和山东省现代农业产业技术体系花生创新团队首席专家专项基金(SDAIT-04-01)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China "Physiological Basis and Agronomic Management for High-quality and High-yield of Field Cash Crops" (2018YFD1000900), the Shandong Key Research and Development Program (2018YFJH0601-3), the Shandong Agricultural Application Technology Innovation Project (SD2019ZZ11), and the Shandong Modern Agricultural Industrial Technology System Peanut Innovation Team Chief Expert Special Fund (SDAIT-04-01).

* 通信作者(Corresponding author): 杨东清, E-mail: chengyang2364@sdau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: 15610413063@163.com

Received (收稿日期): 2020-10-02; Accepted (接受日期): 2021-01-21; Published online (网络出版日期): 2021-02-20.

URL: https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210220.1422.008.html

O-methyltransferase, transcription factor *ATAF2*, WAT1 (*walls are thin1*), and GDSL esterase/lipase were the hub genes, respectively. The results of hub gene networks by weighted values indicated that coumaroylquinate 3'-monooxygenase, 4-coumarate-CoA ligase, shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase, rapid alkalinization factor, *COBRA*-like protein, and zinc finger protein had high connections with *ADRL3L* in the Grey60 module, while β-1,4-galactosyltransferase, LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase, pectin acetylesterase, leucine-rich repeat extensin-like protein had high connections with *TZB0A2* in the Brown module. The identification of co-expression modules and their hub genes, and the analysis of gene function and gene networks of key genes will be helpful for revealing the genetic basis of the main height in peanut.
Keywords: peanut; plant height; transcriptome; weighted gene co-expression network; hub gene

株型是指作物的形态特征及其空间的排列方式, 不同株型显著影响作物的产量形成[1]。花生株型结构由主茎高、侧枝长以及分枝夹角等组成, 其中主茎高是决定株型指数的重要因子之一。当前我国主推花生品种多为直立紧凑型, 其双仁率高, 结果集中, 适宜密植栽培, 但因其主茎较高, 易倒伏, 农业生产中需喷施外源生长调节剂调控株高[2]。因此开展花生株高调控的分子机理研究, 对花生品种选育以及栽培调控具有重要理论参考意义。

前人对小麦、水稻等禾谷类作物株高相关基因如 *Rht*、*SD1*, 以及 *Zip*、*MYB*、*NAC* 等转录因子基因开展了大量研究, 这些基因多与赤霉素、油菜素内酯等植物激素合成代谢和其信号转导相关[3-8]。近年来组学技术和生物信息学迅速发展, 在基因发掘与功能鉴定、作物品种改良、作物抗逆性等方面提供了新思路和新方法[9-12]。Wang 等[13]通过转录组与精细定位联合分析确定了控制油菜株高的新候选基因。马娟等[14]通过转录组与加权基因共表达网络分析(weighted correlation network analysis, WGCNA)结合挖掘了与玉米株高显著相关的核心基因及其互作网络。巨飞燕等[15]利用 WGCNA 筛选与棉花果枝伸长相关的模块发现, JAZ 类基因是控制节间伸长的关键基因。前人利用数量性状定位和全基因组关联分析方法对花生茎高遗传开展了相关研究。Huang 等[16]利用花生重组自交系(recombinant inbred lines, RIL)群体定位了 8 个与主茎高相关的 QTL 位点。Zhang 等[17]检测到 13 个与主茎高显著相关 SNPs。针对花生株型、茎高等方面的研究已有部分报道[18-20], 但关于挖掘主茎生长调控的关键基因及其互作网络的研究还尚缺乏。本研究以高秆型花育 33 号、中间型山花 108 和矮秆型 Df216 为材料, 在茎秆生长期考察不同品种茎秆生长动态差异, 利用转录组测序技术分析不同茎高植株茎秆转录组异同, 并结合 WGCNA 划分基因模块, 深入挖掘与主茎生长相关的基因及调控网络, 以期为花生主茎的生长调控机制研究和花生株型育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2019 年花生生长季在山东省泰安市山东农业大学农学试验农场(36°9′N, 117°9′E)进行。试验地耕层(0~20 cm)土壤含有机质 13.06 g kg^{-1}、全氮 10.70 g kg^{-1}、碱解氮 70.31 mg kg^{-1}、速效磷 42.09 mg kg^{-1}、速效钾 57.50 mg kg^{-1}。供试品种材料为直立高秆品种花育 33 号、直立中间型品种山花 108、矮秆花生 Df216。小区面积为 10.8 m^2 (4.0 m × 2.7 m), 随机排列。播种前施复合肥 750 kg hm^{-2}。于 2019 年 5 月 8 日起垄覆膜穴播方式种植(每个小区起 3 垄, 每垄种植 2 行, 垄面行距 0.3 m), 每穴 2 株, 穴距 16 cm。2019 年 9 月 11 日收获。为与自然条件下的高秆(花育 33 号)、矮秆品种(Df216)做对比, 进一步明确茎秆生长转录组基因表达特点, 选取中间型品种山花 108 设置 2 个外源激素处理: 出苗后 55 d, 以不喷施为对照, 对山花 108 喷施浓度为 150 mg L^{-1} 的多效唑(PP_{333})和 100 mg L^{-1} 的赤霉素(GA_3), 用量均为 100 mL m^{-2}。生长期田间管理同一般高产田。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 *花生株高测定* 花生播种出苗后, 每隔 10 d, 用直尺测定子叶节至主茎生长点的长度, 即为花生主茎高。

1.2.2 *花生茎秆 RNA 的提取、纯化、质检和文库构建及其数据分析* 花生播种后 60 d, 取 3 个品种及分别喷施外源 PP_{333} 和 GA_3 的山花 108 共 5 组材料的茎秆, 每组材料 3 次生物学重复, 共计 15 个样品。剪取植株主茎中部 1 cm 长度茎秆, 液氮中速冻 30 min, −80℃保存, 用于提取茎秆总 RNA, 琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 的完整性及是否存在 DNA 污染; 采用 NanoPhotometer 分光光度计检测 RNA 纯度; 采用 Qubit 2.0 荧光计测量 RNA 浓度; 经 Agilent 2100 电泳质检合格后使用, 合格的 RNA 可用于后续试验。通过 Oligo(dT)磁珠与 mRNA 的 ployA 尾结合, 富集真核生物的 mRNA, 然后将 mRNA 随机打断。

以片段化的 mRNA 为模板, 使用六碱基随机引物, 在 M-MuLV 逆转录酶体系中合成 cDNA 第 1 条链。随后用 RNaseH 降解 RNA 链, 并在 DNA polymerase I 体系下, 以 dNTPs 为原料合成 cDNA 第 2 条链。纯化后的双链 cDNA 经过末端修复、加 A 尾并连接测序接头。用 AMPure XP beads 筛选 200 bp 左右的 cDNA, 进行 PCR 扩增并再次使用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物, 最终获得文库。构建完成后, 使用 Qubit 2.0 荧光计定量。把文库稀释至 1.5 ng μL^{-1} 后, 使用 Agilent 2100 生物分析仪对文库的插入片段进行检测。如果插入片段长度符合预期, 再用实时荧光定量 PCR 对文库有效浓度进行准确定量(文库有效浓度高于 2 nmol L^{-1}), 库检合格后用 Illumina HiSeq 平台进行测序。高通量测序仪得到的图像数据经 CASAVA 碱基识别转化为序列数据(raw reads)。对原始数据进行去除带接头、poly-N 及低质量 reads 后获得高质量 clean reads。并对 Q20、Q30、GC 含量及重复序列水平进行统计; 将 clean reads 用 HISAT2 软件与花生参考基因组(https://peanutbase.org/data/public/Arachis_hypogaea/Tifrunner.gnm1.KYV3/)进行基因比对。

1.3　数据处理与统计

用 DPS7.05 软件对株高数据进行方差分析和显著性检验, 用 Origin2017 绘图。通过 FPKM 方法计算基因的表达量, 随后用 Deseq2 进行差异基因的筛选。筛选条件为两基因之间的 *P*-value < 0.05, Fold change ≤2 或≤0.5 (表达上调或下调)。使用 R 软件语言包 clusterProfiler 进行差异基因 GO 功能分析; WGCNA 包构建基因共表达网络。

2　结果与分析

2.1　不同品种材料的表型差异与主茎生长动态差异分析

3 个品种材料茎高、分枝长差异明显(图 1-A)。随播种后天数增加, 各品种及处理的主茎生长均呈 S 型曲线(图 1-B), 播种后 10~30 d, 主茎生长缓慢; 40~70 d, 主茎生长迅速, 80~90 d 趋于最大主茎高。其中播种后 60 d, 山花 108 与 Df216 的主茎高均显著低于花育 33 号, 分别低 22.2%和 66.3%。与山花 108 对照相比, 喷施外源 GA_3 可显著提高主茎长, 而喷施多效唑可显著降低主茎高。

2.2　转录组差异表达基因分析

转录组测序数据结果表明, 矮秆 Df216 与高秆花育 33 号相比共有 5872 个差异基因, 其中上调基因 2753 个, 下调基因 3119 个; Df216 与山花 108 相比共有 6662 个差异基因, 其中上调基因 2996 个, 下调基因 3666 个; 中间型山花 108 与花育 33 号相比共有 3832 个差异基因, 其中上调基因 1673 个, 下调基因 2159 个(图 2-A)。3 个比较组共有的差异转录基因数目为 270 个(图 2-B)。

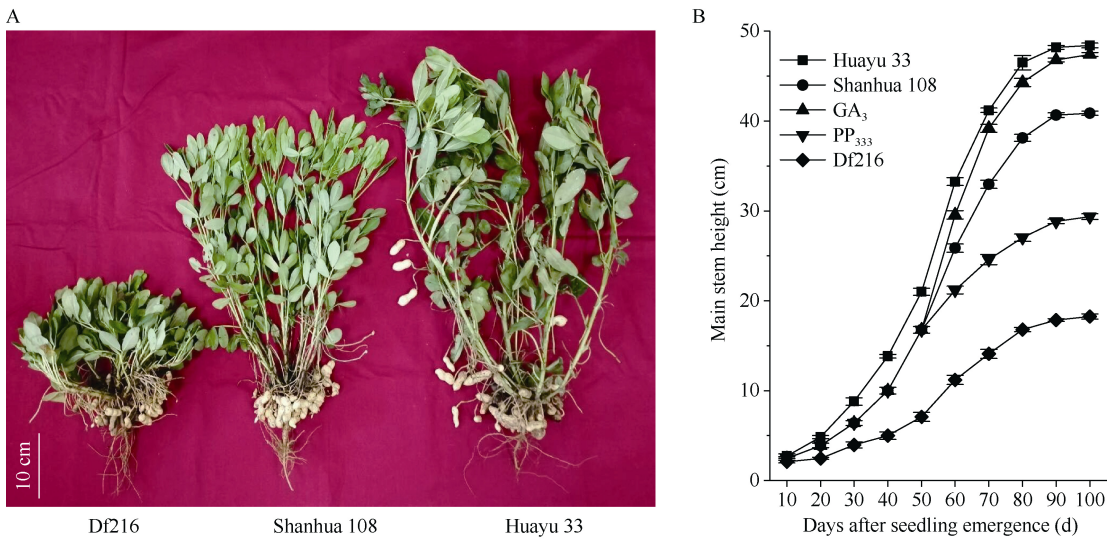


图 1　不同品种花生表型比较与主茎高的动态变化

Fig.1　Phenotypic characterization at 90 days after sowing and changes of main stem height in three cultivars

PP_{333}: 喷施多效唑的山花 108; GA_3: 喷施赤霉素的山花 108。

PP_{333}: Shanhua 108 sprayed with paclobutrazol; GA_3: Shanhua 108 sprayed with gibberellin.

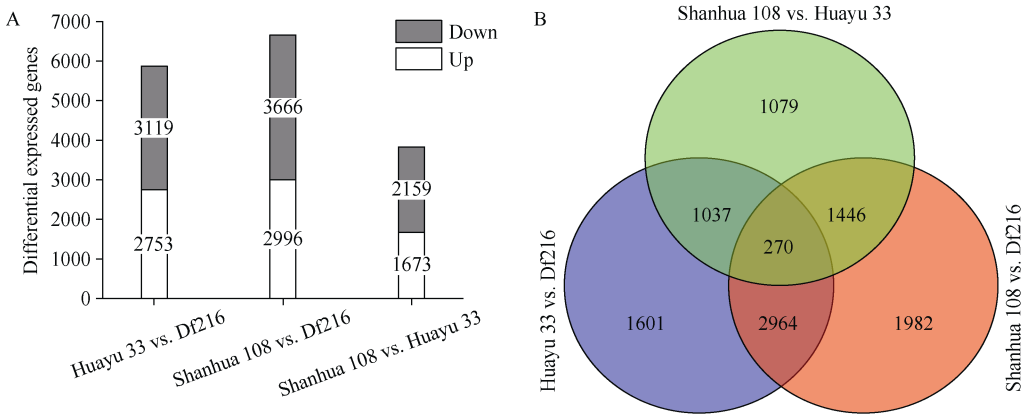


图 2 不同品种花生主茎中差异表达基因比较

Fig. 2 Comparison of differentially expressed genes in three cultivars

2.3 差异表达基因的 GO 分类与富集分析

差异基因 GO 功能注释结果表明, 3 个品种两两比较获得 GO 分类的条目分别有 56、54、52 个(图 3-A); 3 组共有 51 个 GO 分类的条目, 包含生物过程、分子功能、细胞组成各 26、11、14 个(图 3-B)。3 组中, 仅有花育 33 号 vs. Df216 比较组特有 1 个 GO 分类条目(GO: 0007610)。以校正后的 P (P_{adjust})值小于 0.05 为条件, 筛选显著性的 GO 条目, 结果表明花育 33 号 vs. Df216 比较组有 42 个显著富集条目, 特有 2 个显著富集条目; 山花 108 vs. Df216 比较组有 42 个显著富集条目, 特有 7 个显著富集条目; 山花 108 vs.花育 33 号比较组有 31 个显著富集条目, 特有 6 个显著富集条目(图 3-C, D; 表 1)。

3 个比较组共有 20 个显著富集条目, 主要涉及植物细胞壁及次生细胞壁的生物起源(GO:0042546、GO:0009832 和 GO:0009834)、细胞壁及次生细胞壁

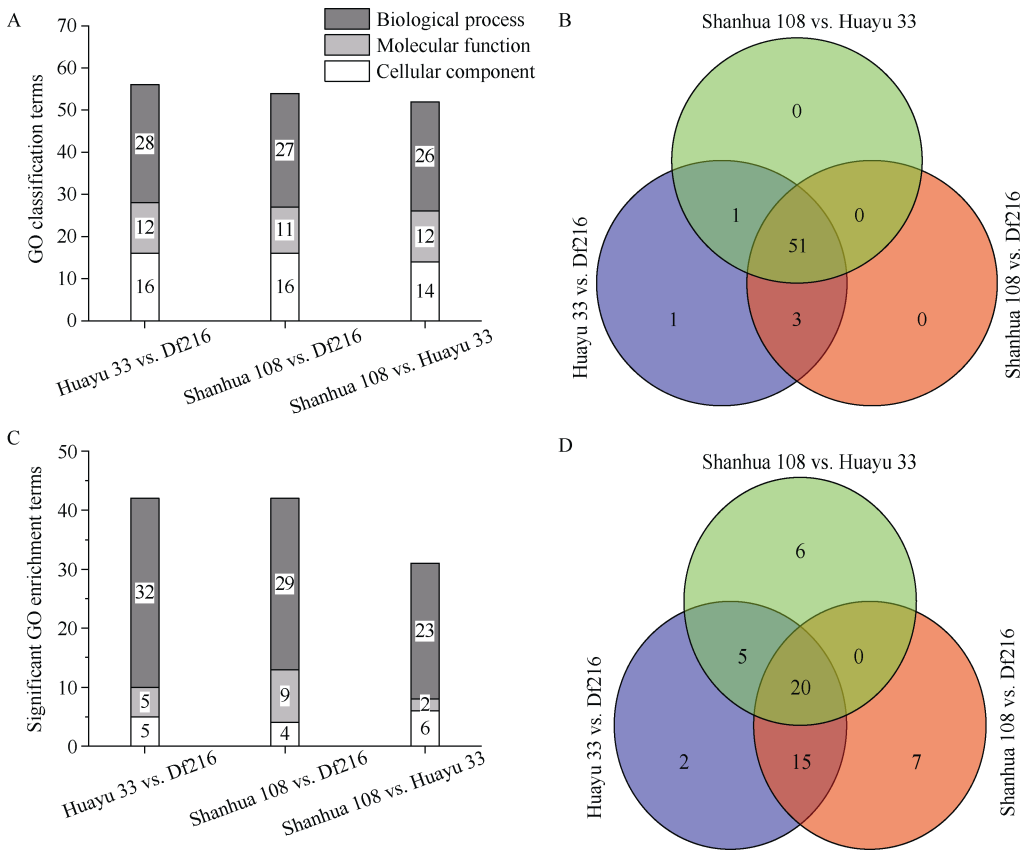


图 3 不同品种花生主茎中差异表达基因比较与 GO 功能分析

Fig. 3 Comparison and GO classification of differentially expressed genes in three cultivars

表 1　不同比较组特有的显著性 GO 富集
Table 1　Significant GO terms in each different comparison groups

比较组 Comparison group	GO 本体类型 GO ontology	GO 条目 GO term	GO 注释 GO annotation	基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value
花育 33 号 vs. Df216	生化过程	GO:0009250	葡聚糖生物合成的过程	50	0.041165
Huayu 33 vs. Df216	Biological process		Glucan biosynthetic process		
	生化过程	GO:0010411	木葡聚糖代谢过程	23	0.018282
	Biological process		Xyloglucan metabolic process		
山花 108 vs. Df216	分子功能	GO:0001046	核心启动子序列特异性 DNA 结合	21	0.003117
Shanhua 108 vs. Df216	Molecular function		Core promoter sequence-specific DNA binding		
	分子功能	GO:0001047	核心启动子整合	21	0.003117
	Molecular function		Core promoter binding		
	分子功能	GO:0016762	木葡聚糖: 木葡糖基转移酶活性	21	0.003117
	Molecular function		Xyloglucan:xyloglucosyl transferase activity		
	分子功能	GO:0015171	氨基酸跨膜转运蛋白活性	47	0.025596
	Molecular function		Amino acid transmembrane transporter activity		
	生化过程	GO:0000271	多糖生物合成的过程	92	0.001366
	Biological process		Polysaccharide biosynthetic process		
	生化过程	GO:0015849	有机酸运输	74	0.003012
	Biological process		Organic acid transport		
	生化过程	GO:0046942	羧酸运输	74	0.003012
	Biological process		Carboxylic acid transport		
山花 108 vs. 花育 33 号	细胞组成	GO:0044421	胞外区部分	34	0.001703
Shanhua 108 vs. Huayu 33	Cellular component		Extracellular region part		
	分子功能	GO:0004185	丝氨酸型羧肽酶活性	16	0.003464
	Molecular function		Serine-type carboxypeptidase activity		
	分子功能	GO:0070008	丝氨酸型外肽酶活性	16	0.00394
	Molecular function		Serine-type exopeptidase activity		
	生化过程	GO:0003333	氨基酸跨膜转运	25	0.001824
	Biological process		Amino acid transmembrane transport		
	生化过程	GO:0007267	细胞间信号传导	13	0.011421
	Biological process		Cell-cell signaling		
	生化过程	GO:0098656	阴离子跨膜转运	39	0.039813
	Biological process		Anion transmembrane transport		

的生物发生调控过程(GO:2000652、GO:1903338)、β-葡聚糖生物合成过程与代谢过程(GO:0051274、GO:0051273)、纤维素生物合成与代谢过程(GO:0030244、GO:0030243)、氨基酸运输(GO:0006865)等过程(表 2)。

花育 33 号 vs. Df216 与山花 108 vs. Df216 两比较组共有 15 个显著富集条目(图 3-D), 主要涉及次生细胞壁生物发生(GO:0009833)、苯丙烷生物合成及代谢过程(GO:0009698、GO:0009699)、木质素生物合成过程(GO:0009809)等生物过程; 以及葡萄糖基转移酶活性(GO:0046527)、UDP-糖基转移酶活性(GO:0035251)、纤维素合酶活性(GO:0016759)等分子功能(图 4)。

2.4　细胞壁形成相关基因分析

花育 33 号 vs. Df216 与山花 108 vs. Df216 两比较组富集在次级细胞壁生物发生和调控(GO:0009833 和 GO:1903338)过程、苯丙烷和木质素合成过程(GO:0009699 和 GO:0009809)的差异基因主要编码纤维素合酶(cellulose synthase A, CESA)、COBRA-like 蛋白、MYB 转录因子、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂酸-4-单加氧酶(cinnamate-4-monooxygenase, CYP 73A)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4-coumarate-CoA ligase, 4CL)、肉桂酰辅酶 A 还原酶(cinnamoyl-CoA reductase, CCR)、莽草酸香豆酯/奎酸酯 3’-羟化酶(coumaroyl shikimate/quinate 3’-hydroxylases, C3’H)、咖啡酸 3-O-甲基转移酶(caffeic acid 3-O-methyltransferase, COMT)、阿魏酸 5-羟化酶(ferulate-5-hydroxylase, F5H)、咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(caffeoyl-CoA O-methyltransferase, CcoA OMT)等的基因, 与花育 33 号和山花 108 相比, 这些基因在 Df216 中均显著下调(表 3)。

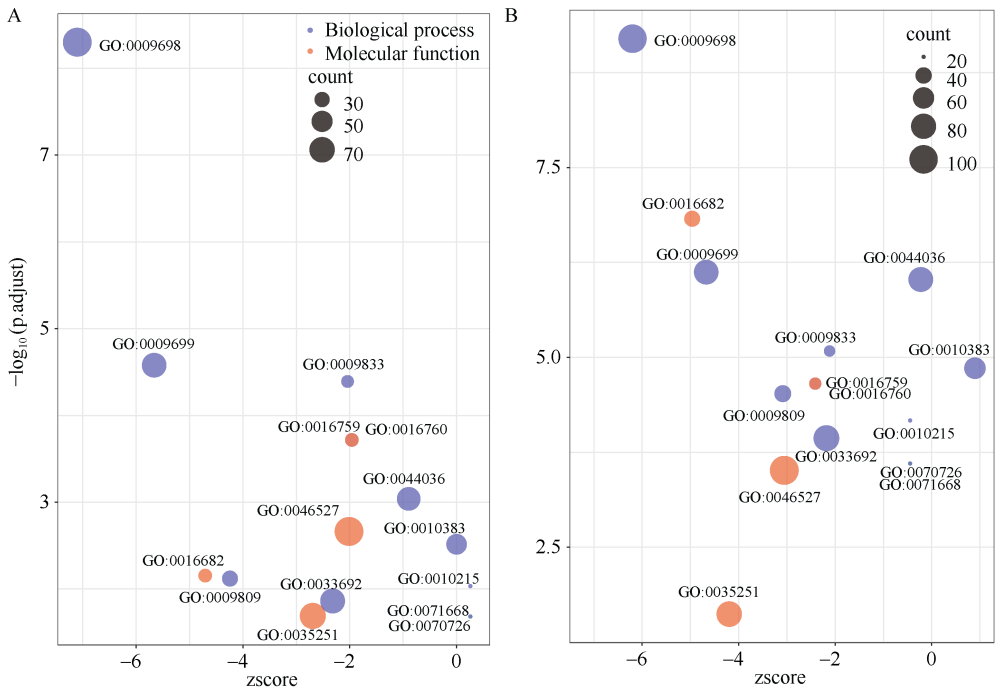


图 4 花育 33 号 vs. Df216 (A)与山花 108 vs. Df216 (B)共有的显著性 GO 条目

Fig. 4 Significant GO terms in Huayu 33 vs. Df216 (A) and Shanhua 108 vs. Df216 (B) groups

表 2 不同品种比较组共有的显著性 GO 富集

Table 2 Significant GO terms among different comparison groups

GO 条目 GO term	GO 注释 GO annotation	花育 33 号 vs. Df216 Huayu 33 vs. Df216		山花 108 vs. Df216 Shanhua 108 vs. Df216		山花 108 vs. 花育 33 号 Shanhua 108 vs. Huayu 33	
		基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value	基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value	基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value
GO:0031225	膜的锚固成分 Anchored component of membrane	98	4.553E-11	89	0.0001002	67	7.96E-08
GO:0005578	蛋白质的细胞外基质 Proteinaceous extracellular matrix	12	0.004731	12	0.036629	13	8.511E-06
GO:0046658	质膜锚定成分 Anchored component of plasma membrane	55	0.0047443	57	0.0664356	52	5.388E-07
GO:2000652	次生细胞壁生物发生的调控 Regulation of secondary cell wall biogenesis	17	9.805E-05	16	0.0016265	10	0.0185837
GO:1903338	细胞壁组织或生物发生的调节 Regulation of cell wall organization or biogenesis	27	2.636E-05	24	0.0033336	18	0.0013154
GO:0051274	葡聚糖生物合成的过程 Beta-glucan biosynthetic process	42	0.0009383	48	0.0002424	29	0.0068829
GO:0051273	葡聚糖代谢过程 Beta-glucan metabolic process	55	2.754E-05	58	0.0001085	41	6.796E-05
GO:0044042	葡聚糖代谢过程 Glucan metabolic process	90	0.0001556	98	0.000349	66	0.0002696
GO:0034637	细胞碳水化合物的生物合成过程 Cellular carbohydrate biosynthetic process	74	0.0463189	97	9.156E-05	58	0.0042563
GO:0030244	纤维素生物合成的过程 Cellulose biosynthetic process	37	0.0003169	43	3.566E-05	24	0.0114207
GO:0030243	纤维素代谢过程 Cellulose metabolic process	48	2.636E-05	51	5.814E-05	36	5.853E-05

(续表 2)

GO 条目 GO term	GO 注释 GO annotation	花育 33 号 vs. Df216 Huayu 33 vs. Df216		山花 108 vs. Df216 Shanhua 108 vs. Df216		山花 108 vs. 花育 33 号 Shanhua 108 vs. Huayu 33	
		基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value	基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value	基因数 Count	校正后的 *P* 值 *P*-value
GO:0009834	次生细胞壁生物发生 Secondary cell wall biogenesis	70	1.901E-22	85	2.361E-31	23	0.0430558
GO:0009832	细胞壁生物起源 Cell wall biogenesis	103	3.631E-17	125	2.642E-24	45	0.016437
GO:0009831	植物型细胞壁修饰或参与多维细胞生长 Plant-type cell wall modification or involved in multidimensional cell growth	13	0.0017006	14	0.0013665	11	0.0007573
GO:0009825	多维细胞生长 Multidimensional cell growth	25	0.0487668	32	0.0017647	23	0.0010804
GO:0009664	细胞壁组织 Cell wall organization	70	1.685E-05	82	2.134E-07	54	5.871E-06
GO:0006865	氨基酸转运 Amino acid transport	40	0.0487668	53	0.0002826	32	0.0077748
GO:0006073	细胞葡聚糖代谢过程 Cellular glucan metabolic process	90	0.0001556	98	0.000349	66	0.0002696

表 3　不同比较组细胞壁形成相关基因

Table 3　Significantly different expressed genes in different comparison groups

基因 Gene	基因功能描述 Gene description	花育 33 号 vs. Df216 Huayu 33 vs. Df216		山花 108 vs. Df216 Shanhua 108 vs. Df216	
		差异倍数 $\log_2$ Fold Change	*P* 值 *P*-value	差异倍数 $\log_2$ Fold Change	*P* 值 *P*-value
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.65D6GP	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−5.494	2.564E-06	−5.076	0.0001548
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.KX036Y	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−6.518	2.591E-16	−3.232	3.313E-05
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.S1R27D	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−6.874	7.371E-08	−1.553	0.000396
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.TQ1ANH	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−2.204	1.035E-07	−6.746	4.079E-27
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.V28JVI	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−2.263	7.811E-07	−6.165	1.262E-05
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VZR30Z	纤维素合酶 A (CESA) Cellulose synthase A (CESA)	−5.455	1.812E-15	−2.666	3.491E-05
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.906G3Q	类 COBRA 蛋白 COBRA-like protein	−2.324	0.0031254	−3.232	3.313E-05
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.D1AFGR	类 COBRA 蛋白 COBRA-like protein	−2.403	2.538E-06	−1.553	0.000396
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.TNUB95	类 COBRA 蛋白 COBRA-like protein	−2.270	0.0011721	−6.746	4.079E-27
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.26LA0S	MYB 转录因子 Transcription factor MYB	−8.816	2.627E-12	−8.747	4.412E-12
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.9732XC	MYB 转录因子 Transcription factor MYB	−1.108	0.0021535	−1.327	0.0001081
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.BEF3I8	MYB 转录因子 Transcription factor MYB	−1.256	0.0003772	−1.329	0.0001474
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.EHBV2Z	MYB 转录因子 Transcription factor MYB	−2.763	0.0008392	−2.469	0.002727
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.I7UCTP	MYB 转录因子 Transcription factor MYB	−2.393	0.0001061	−2.336	0.0009775
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.0B4MFB	苯丙氨酸解氨酶(PAL) Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)	−3.265	6.1E-12	−2.814	1.7409E-11
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.5H4H17	苯丙氨酸解氨酶(PAL) Phenylalanine ammonia-lyase	−2.331	0.003147	−2.474	0.00036061
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.NB2RRK	苯丙氨酸解氨酶(PAL) Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)	−3.255	7.62E-12	−2.839	1.2212E-11
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.V1SQAY	苯丙氨酸解氨酶(PAL) Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)	−2.383	5.57E-11	−1.973	4.7356E-09

(续表 3)

基因 Gene	基因功能描述 Gene description	花育 33 号 vs. Df216 Huayu 33 vs. Df216 差异倍数 $\log_2$ Fold Change	*P* 值 *P*-value	山花 108 vs. Df216 Shanhua 108 vs. Df216 差异倍数 $\log_2$ Fold Change	*P* 值 *P*-value
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.AYA1A5	肉桂酸-4-单加氧酶(CYP73A) Trans-cinnamate 4-monooxygenase (CYP73A)	−1.393	0.000882	−1.173	0.00020608
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.K1LFJJ	肉桂酸-4-单加氧酶(CYP73A) Trans-cinnamate 4-monooxygenase (CYP73A)	−1.766	2.92E-05	−1.497	8.6362E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.SGZ2CH	肉桂酸-4-单加氧酶(CYP73A) Trans-cinnamate 4-monooxygenase (CYP73A)	−2.124	3.62E-28	−1.839	1.1701E-27
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.NC09XL	4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL) 4-coumarate-CoA ligase (4CL)	−2.127	6.10E-13	−1.695	1.9119E-09
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ST1ALI	4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL) 4-coumarate-CoA ligase (4CL)	−2.222	9.10E-18	−1.600	9.8676E-12
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51	肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR) Cinnamoyl-CoA reductase(CCR)	−2.881	2.05E-05	−3.467	4.0937E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.FW0QWP	肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR) Cinnamoyl-CoA reductase (CCR)	−3.016	4.02E-07	−3.442	1.4653E-05
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ULUR0X	肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR) Cinnamoyl-CoA reductase (CCR)	−2.552	9.27E-24	−1.880	3.7164E-13
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.AJ1Q9U	莽草酸香豆酯/奎酸酯 3’-羟化酶(C3’H) Coumaroyl shikimate/quinate 3’-hydroxylases (C3’H)	−1.828	5.243E-12	−1.324	7.724E-08
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.555M2B	咖啡酸 3-O-甲基转移酶(COMT) Caffeic acid 3-O-methyltransferase (COMT)	−1.438	9.47E-05	−1.014	0.00374356
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.GM134S	咖啡酸 3-O-甲基转移酶(COMT) Caffeic acid 3-O-methyltransferase (COMT)	−1.765	7.80E-07	−1.447	8.2856E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.I1E7E1	咖啡酸 3-O-甲基转移酶(COMT) Caffeic acid 3-O-methyltransferase	−2.028	0.005323	−1.957	0.00818603
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.MG688V	阿魏酸 5-羟化酶(F5H) Ferulate-5-hydroxylase (F5H)	−2.550	5.69E-25	−1.689	2.8239E-08
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.PFDI3N	阿魏酸 5-羟化酶(F5H) Ferulate-5-hydroxylase (F5H)	−2.441	1.78E-17	−1.547	2.4651E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ADRL3L	咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT) Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)	−1.873	3.96E-08	−1.438	3.3642E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.QGH881	咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT) Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)	−1.640	3.20E-08	−1.283	7.9012E-06
Arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.WH9NWR	咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT) Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)	−1.493	1.55E-07	−1.258	1.7761E-06

2.5 花生基因共表达网络的构建及其与株高相关模块分析

过滤低表达基因后，共有35,669个基因用于构建加权基因共表达网络。根据基因的表达量进行聚类分析，检验是否有离群样品，结果表明，15个样品聚分为3类，高秆花育33号为一类、喷施 PP_{333}和GA_3处理的样品和山花108未喷施处理聚为一类、矮秆 Df216为一类(图5-A)。之后利用 pickSoftThreshold 函数计算选择合适的加权系数 β。β 的选取标准即满足相关系数的平方接近0.85，同时还需要保证一定的基因连接度(图5-B)。β 值取16来构建共表达网络。

利用 blockwiseModules 构建网络，其中最小模块大小(minModuleSize)为30，mergeCutHeight=0.25 合并相似性为0.75的模块，其他参数按照默认设置，结果如图6-A 所示。不同模块用不同颜色表示，共获得33个模块(Grey 模块表示未分配到任何模块的基因)，不同模块间包含基因数差异较大。其中，Turquoise 模块包含基因个数最多，为14,163个；Darkolivegreen 模块包含基因个数最少，为50个(图6-B)。通过共表达网络与株高进行关联，鉴定到与株高极显著正相关的模块 Grey60 (0.79)，其次为

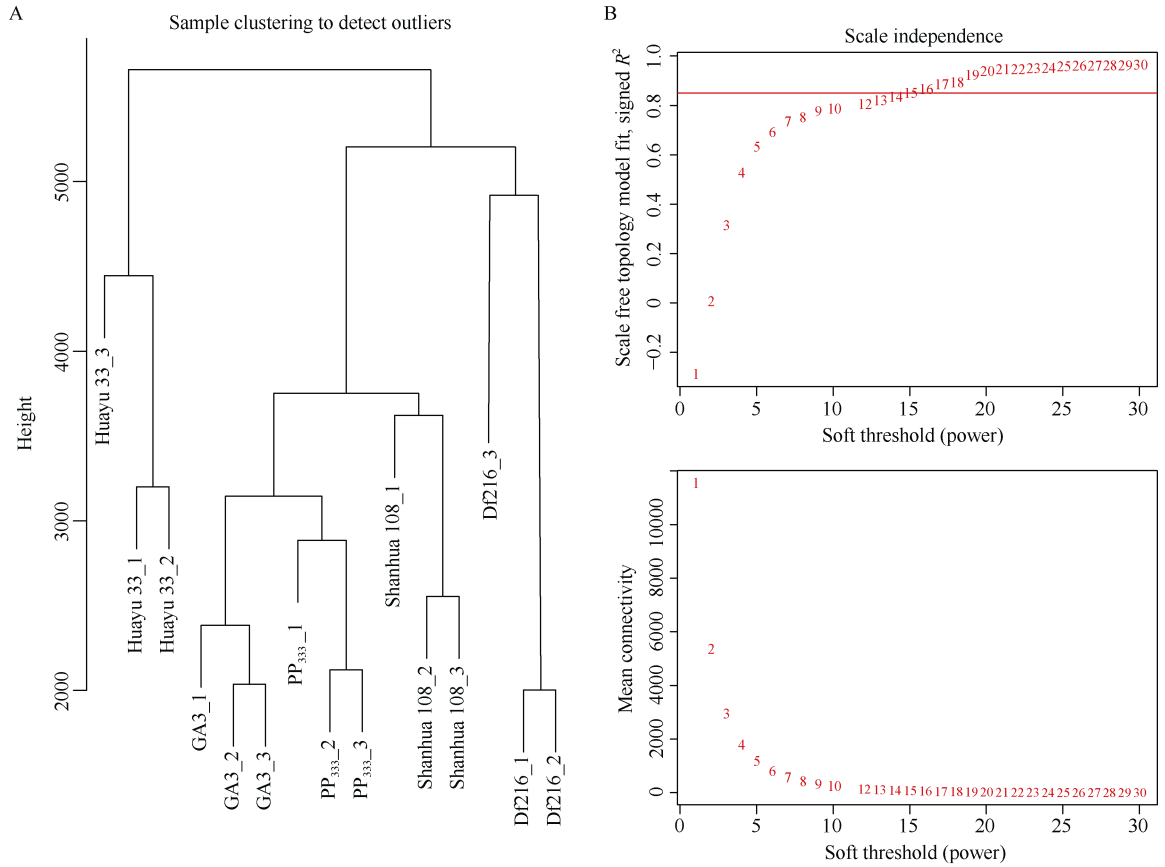
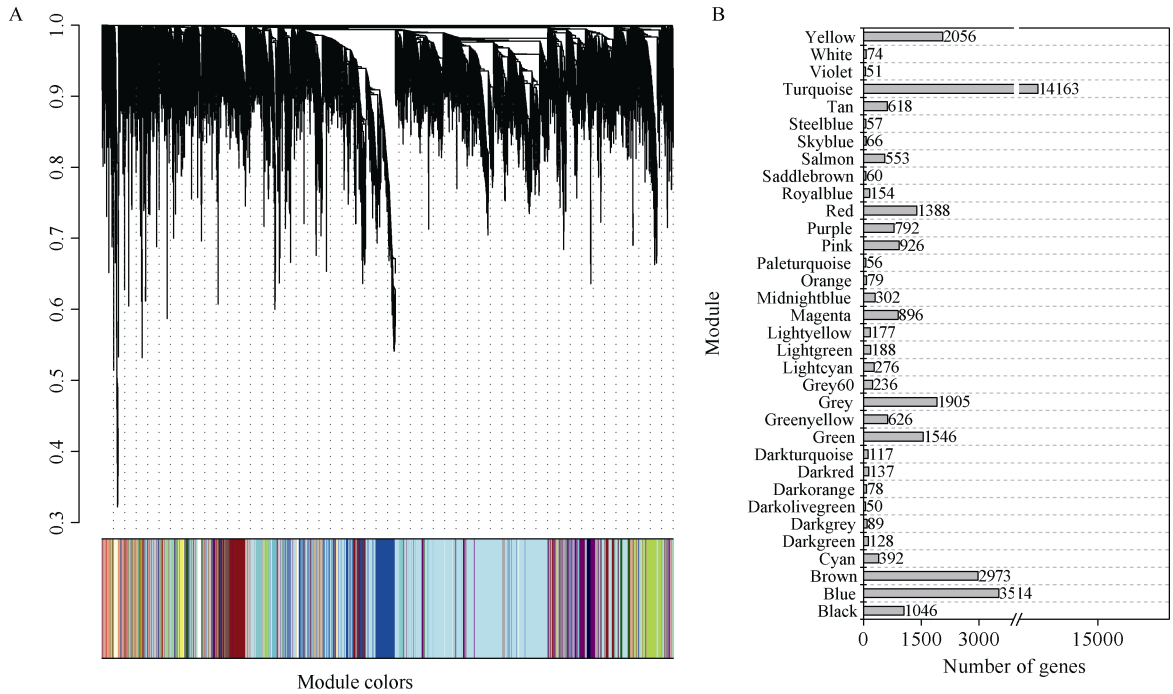


图 5　样品基因聚类分析及不同品种比较组软阈值 β 的确定

Fig.5　Genes cluster and soft threshold β of different varieties comparison groups



(图 6)

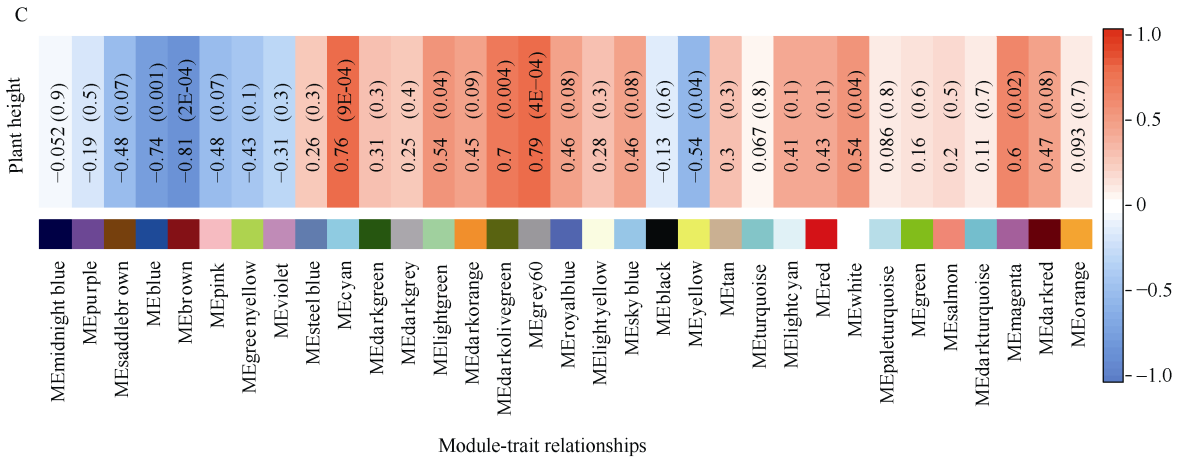


图 6 基因聚类树和模块构建及其与茎高相关性

Fig. 6 Gene cluster dendrogram and module and its high relationships with plant stem height

表 4 模块核心基因及其功能描述

Table 4 Description of hub genes in the modules

模块 Module	核心基因 Hub gene	基因功能描述 Gene description
Black	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Q5T5LU*	NADH 脱氢酶 NADH dehydrogenase
Blue	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Z11ITV*	功能未知 Uncharacterized
Brown	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.TZB0A2*	GDSL 酯酶/脂肪酶 GDSL esterase/lipase
Cyan	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.X47CQ0*	转录因子 ATAF2 ATAF2 transcription factor
Darkgreen	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.A6Q8V1*	功能未知 Uncharacterized
Darkgrey	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.1KSV8R*	4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL) 4-coumarate-CoA ligase (4CL)
Darkolivegreen	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.5B5NV8*	薄壁蛋白 *WALLS ARE THIN1* (WAT1)
Darkorange	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.6255L4*	纤维素合酶 A Cellulose synthase A
Darkred	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.LML9QV*	果糖二磷酸醛缩酶 Fructose-bisphosphate aldolase
Darkturquoise	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.SHEQ35*	质膜 ATP 酶 4 Plasma membrane ATPase 4
Green	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.MF538D*	光系统 I 亚基 XI Photosystem I subunit XI
Greenyellow	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.9WC044*	网格蛋白组装蛋白 Clathrin assembly protein
Grey60	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ADRL3L*	咖啡酰辅酶 A Caffeoyl-CoA O-methyltransferase
Lightcyan	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.FY9BZZ*	晚期胚胎富集蛋白, Lea 5 Late embryogenesis abundant protein, Lea 5
Lightgreen	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.01T93A*	FCS 类锌蛋白指 17 FCS-like zinc finger 17
Lightyellow	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.34EHR3*	GDSL 酯酶/脂肪酶 GDSL esterase/lipase
Magenta	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.178YCU*	功能未知 Uncharacterized
Midnightblue	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.1C5B46*	28S 核糖体核糖核酸 28S ribosomal RNA
Orange	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.1EF43V*	Iojap 蛋白 Protein Iojap
Paleturquoise	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.BGN30W*	大亚基核糖体蛋白 L15 Large subunit ribosomal protein L15
Pink	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.3896ZX*	脂质体相关蛋白 7 Probable plastid-lipid-associated protein 7
Purple	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.75V8XQ*	BAHD 酰基转移酶 BAHD acyltransferase DCR
Red	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.8M9DZW*	脱水早期响应蛋白 7 Early-responsive to dehydration 7
Royalblue	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.512HAI*	五肽重复域含蛋白 1 Pentatricopeptide repeat domain-containing protein 1
Saddlebrown	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.84UTM8*	酪蛋白激酶 II 亚基-2 Casein kinase II subunit beta-2-like
Salmon	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.0ZKW04*	膜蛋白 PM19L Membrane protein PM19L
Skyblue	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.HUVM91*	类 CASP 蛋白质 2B2 CASP-like protein 2B2
Steelblue	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.XM49AS*	功能未知 Uncharacterized
Tan	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.EYFM1K*	伸展蛋白 Extensin
Turquoise	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.EPZ5Z8*	功能未知 Uncharacterized
Violet	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.P9IGRK*	40S 核糖体蛋白 S19-1 40S ribosomal protein S19-1
White	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.R57BTI*	核碱基抗坏血酸转运蛋白 4 Nucleobase-ascorbate transporter 4
Yellow	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.P5C9KT*	线粒体 GTPase 1 Mitochondrial GTPase 1

Cyan (0.76)和 Darkolivegreen (0.7); 极显著负相关的模块 Brown (−0.81), 其次为 Blue (−0.74) (图 6-C)。

2.6　模块核心基因的挖掘与互作网络分析

选择 KME (eigengene connectivity)值最大的基因为每个模块的核心基因, 结果表明 Grey60 模块核心基因 *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ADRL3L* (*ADRL3L*)其功能编码咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT); Cyan 模块中 *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.X47CQ0* (*X47CQ0*)基因编码转录因子 ATAF2; Brown 模块中 *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.TZB0A2* (*TZB0A2*)基因编码 GDSL 脂肪酶; Blue 模块其核心基因功能尚未鉴定(表 4)。

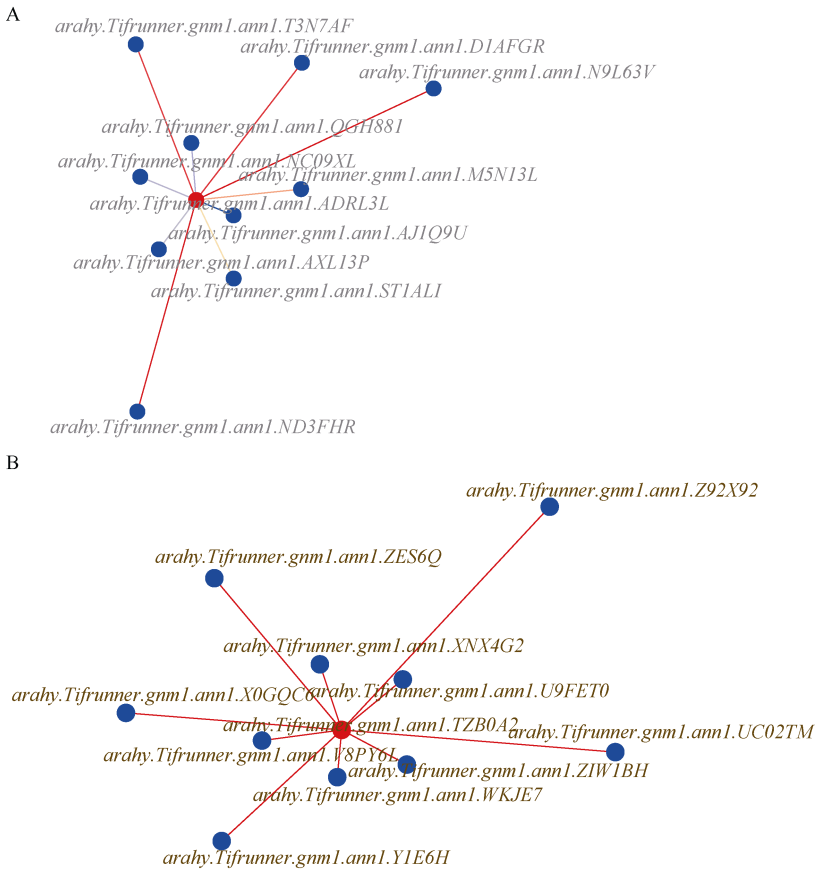


图 7　显著共表达模块内核心基因的基因网络

Fig.7　Gene networks of hub genes of significant co-expression modules

A 和 B 分别表示 Grey60 和 Brown 模块。A and B represent Grey60 and Brown modules, respectively.

表 5　与模块内核心基因相关联基因及其功能注释

Table 5　Genes associated with hub gene in Grey60 and Brown modules and their function annotations

模块 Module	关联基因 Associated gene	权重 Weight	基因功能描述 Gene function annotations
Grey60	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.AJ1Q9U*	0.1318	莽草酸香豆酯/奎酸酯 3’-羟化酶(C3’H) Coumaroyl shikimate/quinate 3’-hydroxylases (C3’H)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.QGH881	0.1183	咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT) Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.NC09XL	0.1175	4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL) 4-coumarate-CoA ligase (4CL)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.AXL13P	0.1169	莽草酸香豆酯/奎酸酯 3’-羟化酶(C3'H) Coumaroyl shikimate/quinate 3’-hydroxylases (C3'H)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ST1ALI	0.1109	4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL) 4-coumarate-CoA ligase (4CL)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.M5N13L	0.1086	快速碱化因子(RALF) Rapid alkalinization factor (RALF)

(续表 5)

模块 Module	关联基因 Associated gene	权重 Weight	基因功能描述 Gene function annotations
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.T3N7AF	0.1049	锌指蛋白 Zinc finger protein
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.D1AFGR	0.1046	类 COBRA 蛋白 COBRA-like protein
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ND3FHR	0.1034	羟基肉桂酰辅酶 A 莽草酸/奎尼酸羟基肉桂酰转移(HCT) Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase (HCT)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.N9L63V	0.1027	鼠李半乳糖醛酸聚糖裂解酶(RGL) Rhamnogalacturonan lyase (RGL)
Brown	*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.WKJE7A*	0.1711	半乳聚糖 β-1,4-半乳糖基转移酶(GALS3) Galactan beta-1,4-galactosyltransferase (GALS3)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.XNX4G2	0.1556	LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(FEI1) LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase (FEI1)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ZIW1BH	0.1548	果胶乙酰酯酶(PAE) Pectin acetylesterase (PAE)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.U9FET0	0.1529	类成蛋白 1 Formin-like protein 1
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.V8PY6L	0.1521	富含亮氨酸重复序列的类伸展蛋白(LRXs) Leucine-rich repeat extensin-like protein (LRXs)
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y1E6HX	0.1434	葡聚糖内切 1,3-β-葡糖苷酶 13 Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 13
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.ZES6QF	0.1421	碱性亮氨酸拉链蛋白(bZIP34) Basic leucine zipper 34
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.X0GQC6	0.1416	磷酸糖转运蛋白 Sugar phosphate/phosphate translocator
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.UC02TM	0.1403	RR 型类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Z92X92	0.1399	羟脯氨酸 O-半乳糖基转移酶 HPGT1 Hydroxyproline O-galactosyltransferase HPGT1

利用 Cytoscape 软件选取权重(weight)值前 10 的有关联基因进行可视化, 构建 Grey60 和 Brown 模块核心基因的互作网络(图 7)。与 *ADRL3L* 具有较高互作网络关系的基因分别编码莽草酸香豆酯/奎酸酯 3-羟化酶(C3'H)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)、羟基肉桂酰辅酶 A 莽草酸/奎尼酸羟基肉桂酰转移(HCT)、以及快速碱化因子(RALF)、锌指蛋白、类 COBRA 蛋白等; 与 *TZB0A2* 具有较高互作网络关系的基因则分别编码 β-1,4-半乳糖基转移酶(GALS3)、果胶乙酰酯酶(PAE)、类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(FEI1)、富含亮氨酸重复序列的伸展蛋白(LRXs)、碱性亮氨酸拉链蛋白(bZIP34)等的基因(表 5)。

3 讨论

3.1 茎秆生长相关基因的分析

茎秆的形成是茎端分生组织活动的结果, 茎秆生长受遗传基因调控[21]。20 世纪, 以培育矮秆、半矮秆品种为核心的"绿色革命"使小麦、水稻等作物产量获得了大幅提高[22], 一系列矮秆基因得到广泛研究和利用[23-24]。本研究利用转录组测序技术分析 3 种不同茎高品种茎秆基因表达差异发现, 差异基因主要涉及初生和次生细胞壁的生物起源及调控过程、β-葡聚糖生物合成过程与代谢过程、纤维素生物合成与代谢过程、苯丙烷生物合成及代谢过程、木质素生物合成等过程, 表明这些生物学活动与茎秆生长、株高的形成相关。与禾谷类作物类似, 花生茎秆化学成分主要是纤维素、半纤维素、木质素、果胶质等[25-26]。前人研究发现, 纤维素合酶(CESA)突变体的植株基因表达量降低, 纤维素含量减少, 导致植株矮化[27]。木质素合成相关酶如苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-单加氧酶(CYP73A)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)、肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR)、莽草酸香豆酯/奎酸酯 3'-羟化酶(C3'H)、咖啡酸 3-O-甲基转移酶(COMT)、阿魏酸 5-羟化酶(F5H)、咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶(CCoAOMT)等突变体或其编码基因表达下调后, 木质素含量降低,

植株表型也呈矮化; 而过表达上述酶后茎明显增高[28-29]。本研究结果表明, 与高秆的花育 33 号及中间型山花 108 相比, 矮秆 Df216 中编码细胞壁 CESA 基因、上述木质素合成酶等基因均显著下调, 这可能是由于与其编码类 COBRA 蛋白及转录因子 MYB 的相关基因也显著下调。研究发现 COBRA 蛋白是一种胞外 GPI 锚定蛋白, 其基因表达与 CESA 基因表达高度相关, 影响细胞壁纤维素合成与细胞伸长, 进而调控茎秆生长影响株高[30-31]。MYB 转录因子家族在植物生长发育及代谢调控网络中发挥重要作用[32], 尤其细胞壁中苯丙烷代谢和木质素合成受多种 MYB 转录因子调控[33]。例如 MYB1 负向调控木质素合成及细胞壁形成, MYB2 则相反[34]。Zhang 等[35]研究发现, 超量表达转录因子 *OsMPH1* 后, 水稻株高增高。这表明 Df216 受类 COBRA 蛋白和转录因子 MYB 的共同调控, 二者影响 CESA 及木质素酶基因的表达, 使细胞生长所需纤维素、木质素等合成受阻, 这是导致其茎秆生长缓慢, 株高较低的原因。

3.2　茎秆生长相关共表达模块的鉴定

加权基因共表达网络分析(WGCNA)是一种描述基因关联模式的生物信息学分析方法, 可快速提取出与样品特征相关的基因共表达模块[36]。前人利用 WGCNA 分析了玉米株高形成等的共表达基因模块[14, 37], 这为挖掘花生茎秆生长调控基因和模块提供了一定参考。本研究利用 WGCNA 方法对不同茎高花生转录组测序数据构建了加权基因共表达网络, 鉴定到与主茎高呈极显著相关的共表达模块: Grey60、Cyan、Darkolivegreen、Brown 和 Blue。根据模块内基因的连接度, 编码 CCoAOMT、转录因子 ATAF2、*Walls are thin1* (WAT1)、GDSL 脂肪酶的基因分别是 Grey60、Cyan、Darkolivegreen、Brown 模块的核心基因, 但 Blue 模块其核心基因功能尚未鉴定到。ATAF2 是一种 NAC 转录因子, NAC 在植物衰老、激素应答、胁迫反应等发育过程中起重要作用[38]。*OsNAC2* 直接调控水稻赤霉素合成关键酶如 KO 与 KAO 等基因表达, 进而调节水稻茎秆生长[39]。*WAT1* 编码一种生长素运载体, 其突变体会导致拟南芥次生细胞壁纤维厚度显著降低[40]。GDSL 脂肪酶也参与植物细胞伸长[41]。通过权重值, 本研究构建了 Grey60 和 Brown 模块核心基因的互作网络, 基因功能注释显示, 与 Grey60 核心基因具有较高互作网络关系的基因分别编码 C3'H、4CL 和 HCT, 以及编码快速碱化因子(RALF)、锌指蛋白和类 COBRA 蛋白等。RALF 可通过 FERONIA/RIPK 受体激酶复合体控制植物细胞的伸长[42]。Huang 等[43]的研究发现, 水稻中锌指蛋白 OsIDD2 可调控木质素合成相关酶 CAD 等的基因表达, 影响次生细胞壁形成。这表明 Grey60 模块与细胞壁木质素合成相关, 且受 RALF、锌指蛋白和类 COBRA 蛋白多个因子调控。与 Brown 核心基因具有较高互作网络关系的基因为编码 β-1,4-半乳糖基转移酶(GALS3)、果胶乙酰酯酶(PAE)、类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(FEI1)、富含亮氨酸重复序列的伸展蛋白(LRXs)等基因。GALS3 和 PAE 是果胶合成的重要酶, 其基因的表达可调控次生细胞壁的形成和细胞壁的展延性[44-46]。FEI1 和 FEI2 是富含亮氨酸重复序列类受体类激酶, 介导的信号通常会经相关的转录因子传递到参与细胞壁形成的基因[47]。LRXs 参与细胞壁的形成与组装, 超量表达后细胞伸长停止, 导致细胞体积减小, 株高降低[48]。这表明 Brown 模块与细胞壁果胶合成相关, 且受 FEI1 和 LRXs 蛋白介导调控。

4　结论

不同茎高花生茎秆转录组差异基因涉及细胞壁及次生细胞壁纤维素和木质素生物合成过程等生物活动。利用 WGCNA 方法构建了花生株高的加权共表达网络, 得到极显著关联模块 5 个, 且鉴定了关联模块内核心基因, 并解析了其基因网络关系, 显示转录因子 ATAF2 和 MYB、快速碱化因子、类 COBRA 蛋白、锌指蛋白、伸展蛋白、类受体类激酶等介导参与了细胞壁纤维素、木质素和果胶的合成。

References

[1] Reinhardt D, Kuhlemeier C. Plant architecture. *EMBO Rep*, 2002, 3: 846–851.

[2] 张佳蕾, 郭峰, 张凤, 杨莎, 耿耘, 孟静静. 提早化控对高产花生个体发育和群体结构影响. 核农学报, 2018, 32: 2216–2224.
Zhang J L, Guo F, Zhang F, Yang S, Geng Y, Meng J J. Effects of earlier chemical control on ontogeny and population structure of high yield peanut. *J Nucl Agric Sci*, 2018, 32: 2216–2224 (in Chinese with English abstract).

[3] Flintham J E, Börner A, Worland A J, Gale M D. Optimizing wheat grain yield: effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *J Agric Sci*, 1997, 128: 11–25.

[4] Wu J, Kong X Y, Wan J M, Liu X Y, Zhang X, Guo X P, Zhou R H, Zhao G Y, Jing R L, Fu X D, Jia J Z. Dominant and pleiotropic effects of a *GAI1* gene in wheat results from a lack of interaction between *DELLA* and *GID1*. *Plant Physiol*, 2011, 157:

2120–2130.

[5] Nakamura A, Fujioka S, Sunohara H, Kamiya N, Hong Z, Inukai Y, Miura K, Takatsuto S, Yoshida S, Ueguchi-Tanaka M, Hasegawa Y, Kitano H, Matsuoka M. The role of *OsBRI1* and its homologous genes, *OsBRL1* and *OsBRL3*, in rice. *Plant Physiol*, 2006, 140: 580–590.

[6] Chen W W, Cheng Z J, Liu L L, Man M, You X M, Wang J, Zhang F, Zhou C L, Zhang Z, Zhang H, You S M, Wang Y P, Luo S, Zhang J H, Wang J L, Wang J, Zhao Z C, Guo X P, Lei C L, Zhang X, Lin Q B, Ren Y L, Zhu S S, Wan J M. *Small Grain and Dwarf 2*, encoding an HD-Zip II family transcription factor, regulates plant development by modulating gibberellin biosynthesis in rice. *Plant Sci*, 2019, 288: 110208.

[7] Zhang Y X, Yu C S, Lin J Z, Liu J, Liu B, Wang J, Huang A B, Li H Y, Zhao T. *OsMPH1* regulates plant height and improves grain yield in rice. *PLoS One*, 2017, 12: e0180825.

[8] Chen X, Lu S C, Wang Y F, Zhang X, Lu B, Luo L Q, Xi D D, Shen J B, Ma H, Ming F. $OsNAC_2$ encoding a NAC transcription factor that affects plant height through mediating the gibberellic acid pathway in rice. *Plant J*, 2015, 82: 302–314.

[9] Langridge P, Fleury D. Making the most of 'omics' for crop breeding. *Trends Biotechnol*, 2011, 29: 33–40.

[10] Van Emon J M. The omics revolution in agricultural research. *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 36–44.

[11] Edwards D, Batley J. Plant bioinformatics: from genome to phenome. *Trends Biotechnol*, 2004, 22: 232–237.

[12] Mochida K, Shinozaki K. Genomics and bioinformatics resources for crop improvement. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 497–423.

[13] Wang X D, Zheng M, Liu H F, Zhang L, Chen F, Zhang W, Fan S H, Peng M L, Hu M L, Wang H Z, Zhang J F, Hua W. Fine-mapping and transcriptome analysis of a candidate gene controlling plant height in *Brassica napus* L. *BMC Biotechnol Biofuels*, 2020, 13: 42.

[14] 马娟, 曹言勇, 王利锋, 李晶晶, 王浩, 范艳萍, 李会勇. 利用 WGCNA 鉴定玉米株高和穗位高基因共表达模块. 作物学报, 2020, 46: 385–394.
Ma J, Cao Y Y, Wang L F, Li J J, Wang H, Fan Y P, Li H Y. Identification of gene co-expression modules of maize plant height and ear height by WGCNA. *Acta Agron Sin*, 2020, 46: 385–394 (in Chinese with English abstract).

[15] 巨飞燕, 张思平, 刘绍东, 马慧娟, 陈静, 葛常伟, 沈倩, 张小萌, 刘瑞华, 赵新华, 张永江, 庞朝友. 利用 WGCNA 进行棉花果枝节间伸长相关基因共表达模块鉴定. 棉花学报, 2019, 31: 403–413.
Ju F Y, Zhang S P, Liu S D, Ma H J, Chen J, Ge C W, Shen Q, Zhang X M, Liu R H, Zhao X H, Zhang Y J, Pang C Y. Identification of co-expression modules of genes related to internode elongation of cotton fruiting branches by WGCNA. *Cotton Sci*, 2019, 31: 403–413 (in Chinese with English abstract).

[16] Huang L, Ren X P, Wu B, Li X P, Chen W G, Zhou X J, Chen Y N, Pandey M K, Jiao Y Q, Luo H Y, Lei Y, Varshney R K, Liao B S, Jiang H F. Development and deployment of a high-density linkage map identified quantitative trait loci for plant height in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Sci Rep*, 2016, 6: 39478.

[17] Zhang X G, Zhang J H, He X Y, Wang Y, Ma X L, Yin D M. Genome wide association study of major agronomic traits related to domestication in peanut. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1611.

[18] 彭振英, 单雷, 田海莹, 孟静静, 郭峰, 王兴军, 张智猛, 丁红, 万书波, 李新国. 利用远缘杂交培育半匍匐密枝型高产花生新品系. 中国油料作物学报, 2019, 41: 490–496.
Peng Z Y, Shan L, Tian H Y, Meng J J, Guo F, Wang X J, Zhang Z M, Ding H, Wan S B, Li X G. Breeding of semi-sprawl and dense-branching high yield peanut by distant hybridization. *Chin J Oil Crop Sci*, 2019, 41: 490–496 (in Chinese with English abstract).

[19] 鲁清, 刘浩, 李海芬, 陈小平, 洪彦彬, 刘海燕, 李少维, 周桂元, 梁炫强. 花生不同株型主要农艺性状的相关分析及其对单株产量的影响. 热带作物学报, 2019, 40: 1115–1121.
Lu Q, Liu H, Li H F, Chen X P, Hong Y B, Liu H Y, Li S W, Zhou G Y, Liang X Q. Correlation analysis of main agronomic traits of different plant types and path analysis of yield per plant in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Chin J Trop Crop*, 2019, 40: 1115–1121 (in Chinese with English abstract).

[20] 彭振英, 单雷, 张智猛, 李新国, 万书波. 花生株型与高产. 花生学报, 2019, 48(2): 69–72.
Peng Z Y, Shan L, Zhang Z M, Li X G, Wan S B. High yield and plant type of peanut. *J Peanut Sci*, 2019, 48(2): 69–72 (in Chinese with English abstract).

[21] 胡珀, 韩天富. 植物茎秆性状形成与发育的分子基础. 植物学通报, 2008, 25: 1–13.
Hu P, Han T F. Molecular basis of stem trait formation and development in plants. *Chin Bull Bot*, 2008, 25: 1–13 (in Chinese with English abstract).

[22] Hedden P. The genes of the green revolution. *Trends Genet*, 2003, 19: 5–9.

[23] Würschum T, Langer S M, Longin C F H, Tucker M R, Leiser W L. A modern green revolution gene for reduced height in wheat. *Plant J*, 2017, 92: 892–903.

[24] Asano K, Yamasaki M, Takuno S, Miura K, Katagiri S, Ito T, Doi K, Wu J Z, Ebana K, Matsumoto T, Innan H, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. Artificial selection for a green revolution gene during *japonica* rice domestication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 11034–11039.

[25] 王健, 朱锦懋, 林青青, 李晓娟, 滕年军, 李振声, 李滨, 张爱民, 林金星. 小麦茎秆结构和细胞壁化学成分对抗压强度的影响. 科学通报, 2006, 51: 679–685.
Wang J, Zhu J M, Lin Q Q, Li X J, Teng N J, Li Z S, Li B, Zhang A M, Lin J X. Effects of stem structure and cell wall chemical composition on resistance to compressive strength in wheat. *Sci Bull*, 2006, 51: 679–685.

[26] 谢星光, 戴传超, 苏春沦, 周家宇, 王宏伟, 王兴祥. 内生真菌对花生残茬腐解及土壤酚酸含量的影响. 生态学报, 2015, 35: 3536–3845.
Xie X G, Dai C C, Su C L, Zhou J Y, Wang H W, Wang X X. Effects of endophytic fungus on decay of peanut residues and phenolic acid concentrations in soil. *Acta Ecol Sin*, 2015, 35: 3536–3845 (in Chinese with English abstract).

[27] Xie L Q, Yang C J, Wang X L. Brassinosteroids can regulate cellulose biosynthesis by controlling the expression of *CESA* genes in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 2011, 62: 4495–4506.

[28] Muro-Villanueva F, Mao X Y, Chapple C. Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition.

Curr Opin Biotechnol, 2019, 56: 202–208.

[29] Liu Q Q, Luo L, Zheng L Q. Lignins: biosynthesis and biological functions in plants. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 335.

[30] Yeats T H, Bacic A, Johnson K L. Plant glycosylphatidylinositol anchored proteins at the plasma membrane-cell wall nexus. *J Integr Plant Biol*, 2018, 8: 649–669.

[31] Dai X X, You C J, Chen G P, Li X H, Zhang Q F, Wu C Y. *OsBC1L4* encodes a COBRA-like protein that affects cellulose synthesis in rice. *Plant Mol Biol*, 2011, 75: 333–345.

[32] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, Weisshaar B, Martin C, Lepiniec L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 2010, 15: 573–581.

[33] Liu J J, Osbourn A, Ma P D. MYB transcription factors as regualtors of phenylpropanoid metabolism in plants. *Mol Plant*, 2015, 8: 689–708.

[34] Legay S, Sivadon P, Blervacq A S, Pavy N, Baghdady, Tremblay L, Levasseur C, Ladouce N, Lapierre C, Séguin A, Hawkins S, Mackay J, Grima-Pettenati J. *EgMYB1*, an R2R3 MYB transcription factor from eucalyptus negatively regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis* and poplar. *New Phytol*, 2010, 188: 774–786.

[35] Zhang Y X, Yu C S, Lin J Z, Liu J, Liu B, Wang J, Huang A B, Li H Y, Zhao T. OsMPH1 regulates plant height and improves grain yield in rice. *PLoS One*, 2017, 12: e0180825.

[36] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinf*, 2008, 9: 559.

[37] Wang H S, Gu L J, Zhang X G, Liu M L, Jiang H Y, Cai R H, Zhao Y, Cheng B J. Global transcriptome and weighted gene co-expression network analyses reveal hybrid-specific modules and candidate genes related to plant height development in maize. *Plant Mol Biol*, 2018, 98: 187–203.

[38] Olsen A N, Ernst H A, Leggio L L, Skriver K. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 79–87.

[39] Chen X, Lu S C, Wang Y F, Zhang X, Lv B, Luo L Q, Li D D, Shen J B, Ma H, Ming F. *OsNAC2* encoding a NAC transcription factor that affects plant height through mediating the gibberellic acid pathway in rice. *Plant J*, 2015, 82: 302–314.

[40] Ranocha P, Dima O, Nagy R, Felten J, Corratgé-Faillie C, Novák O, Morreel K, Lacombe B, Martinez Y, Pfrunder S Jin X, Renou J P, Thibaud J B, Ljung K, Fischer U, Martinoia E, Boerjan W, Goffner D. *Arabidopsis* WAT1 is a vacuolar auxin transport facilitator required for auxin homoeostasis. *Nat Commun*, 2013, 4: 2625.

[41] 郝晓云, 蔡永智, 钱雯婕, 袁哈利, 李榕, 李鸿彬. 植物 GDSL 脂肪酶家族研究进展. 植物生理学报, 2013, 49: 1286–1290.
Hao X Y, Cai Y Z, Qian W J, Yuan H L, Li R, Li H B. Advances in research of GDSL-lipase family in plants. *Plant Physiol J*, 2013, 49: 1286–1290 (in Chinese with English abstract).

[42] Du C Q, Li X S, Chen J, Chen W J, Li B, Li C Y, Wang L, Li J L, Zhao X Y, Lin J Z, Liu X M, Luan S, Yu F. A Receptor kinase complex transmits RALF peptide signal to inhibit root growth in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 8326–8334.

[43] Huang P, Yoshida H, Yano K, Kinoshita S, Kawai K, Koketsu E, Hattori M, Takehara S, Huang J, Hirano K, Ordonio R L, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M. OsIDD2, a zinc finger and INDETERMINATE DOMAIN protein, regulates secondary cell wall formation. *J Integr Plant Biol*, 2018, 60: 130–143.

[44] Naran R, Pierce M, Mort A J. Detection and identification of rhamnogalacturonan lyase activity in intercellular spaces of expanding cotton cotyledons. *Plant J*, 2007, 50: 95–107.

[45] Liwanag A J M, Ebert B, Verhertbruggen Y, Rennie E A, Rautengarten C, Oikawa A, Andersen M C F, Clausen M H, Scheller H V. Pectin biosynthesis: GALS1 in *Arabidopsis thaliana* is a b-1,4-galactan β-1,4-galactosyltransferase. *Plant Cell*, 2012, 24: 5024–5036.

[46] Gou J Y, Miller L M, Hou G C, Yu X H, Chen X Y, Liu C J. Acetylesterase-mediated deacetylation of pectin impairs cell elongation, pollen germination, and plant reproduction. *Plant Cell*, 2012, 24: 50–65.

[47] 张保才, 周奕华. 植物细胞壁形成机制的新进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 644–556.
Zhang B C, Zhou Y H. Plant cell wall formation and regulation. *Sci Sin Vitae*, 2015, 45: 644–556 (in Chinese with English abstract).

[48] 范春芬, 王艳婷, 彭良才, 丰胜求. 植物细胞壁伸展蛋白的功能与利用. 植物生理学报, 2018, 54: 1279–1287.
Fan C F, Wang Y T, Peng L C, Feng S Q. Plant extensins function and their potential genetic manipulation in crops. *Plant Physiol J*, 2018, 54: 1279–1287 (in Chinese with English abstract).