

DOI:10.12171/j.1000-1522.20240103

基于转录组的 ABA 介导的旱柳枝条失水响应

胡耀芳¹ 李奥¹ 殷佳慧^{1,2} 王元成¹ 邹峻竹¹ 巨关升¹ 刘俊祥¹ 孙振元¹

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

2. 吉林农业大学林学与草学学院, 吉林省林草遗传育种重点实验室, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】ABA 是植物干旱胁迫响应过程中的关键激素。本研究旨在发掘旱柳 ABA 介导的干旱胁迫响应关键功能基因和相关通路, 以期通过分子设计育种, 选育优良抗旱品种。【方法】本研究以旱柳离体枝条为材料, 通过转录组测序方法探究 ABA 合成抑制剂钨酸钠溶液浸泡后旱柳失水至不同水势枝条木质部转录组的差异响应。【结果】(1) 去离子水浸泡旱柳未失水枝条与失水至 P_{50} 水势枝条的显著差异基因共 5 672 个, 钨酸钠溶液浸泡与去离子水浸泡旱柳失水至 P_{50} 水势枝条的显著差异基因共 5 033 个。(2) 植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成、淀粉与蔗糖代谢途径是钨酸钠浸泡后旱柳枝条失水响应的关键通路。(3) 去离子水浸泡旱柳失水至 P_{50} 水势枝条较未失水枝条, 在植物激素信号转导通路中, PP2C 家族基因(*P2C03*、*P2C51*), ABA 受体的调控成分基因(*PYL8*), ABA 响应元件结合蛋白基因(*AISL5*)的表达量显著上调; 类胡萝卜素生物合成通路中, 类胡萝卜素异构酶基因(*CRTSO*)、脱落酸醛氧化酶基因 3(*ALDO3*)表达量显著上调; 淀粉与蔗糖代谢通路中, 糖基水解酶家族基因(*INV4*、*E133*)、类 α -淀粉酶 3 基因(*AMY3*)、海藻糖磷酸酶基因(*TPS5*)、蔗糖磷酸合酶 1 基因(*SPSA1*)等表达量显著上调, 而淀粉合成酶基因(*SSY1*)表达量显著下调。钨酸钠溶液浸泡后, *INV4*、*E133*、*AMY3*、*TPS5*、*SPSA1* 和 *SSY1* 呈相反表达趋势。【结论】本研究挖掘了旱柳干旱胁迫相关通路及重要功能基因, 为后续揭示旱柳干旱胁迫响应机制提供研究基础。

关键词: 旱柳; 水势; 转录组; ABA; 淀粉水解; 干旱响应; 差异表达基因

中图分类号: S792.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2025)03-0019-09

引文格式: 胡耀芳, 李奥, 殷佳慧, 等. 基于转录组的 ABA 介导的旱柳枝条失水响应 [J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(3): 19-27. Hu Yaofang, Li Ao, Yin Jiahui, et al. Transcriptome based ABA mediated dehydration response of *Salix matsudana* branches [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(3): 19-27.

Transcriptome based ABA mediated dehydration response of *Salix matsudana* branches

Hu Yaofang¹ Li Ao¹ Yin Jiahui^{1,2} Wang Yuancheng¹ Zou Junzhu¹
Ju Guansheng¹ Liu Junxiang¹ Sun Zhenyuan¹

(1. Research Institute of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of National Forestry and Grassland Administration, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

2. College of Forestry and Grassland Science, Jilin Provincial Key Laboratory of Tree and Grass Genetics and Breeding, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China)

Abstract: [Objective] ABA is a key hormone for drought stress in plants. This study aimed to explore the key functional genes and related pathways for ABA-mediated dehydrated response of *Salix matsudana* for breeding superior drought-resistant varieties through molecular design breeding. [Method] In this study, we investigated the differential response of xylem transcriptome of *S. matsudana* branches dehydrated to varied

收稿日期: 2024-04-07 修回日期: 2024-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(32071729)。

第一作者: 胡耀芳。主要研究方向: 园林植物抗逆生理。Email: huyaofang0@163.com 地址: 100091 北京海淀区东小府 1 号中国林业科学研究院林业研究所。

责任作者: 孙振元, 研究员, 博士生导师。主要研究方向: 园林植物抗逆生理。Email: sunzy@caf.ac.cn 地址: 同上。刘俊祥, 副研究员。主要研究方向: 园林植物抗逆生理。Email: jxliu@caf.ac.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

water potentials after being soaked in the sodium tungstate (ABA synthesis inhibitor) solution by transcriptome sequencing, using *S. matsudana* isolated branches as materials. [Result] (1) There were 5 672 significantly different genes between the deionized water-soaked *S. matsudana* non-dehydrated branches and those dehydrated to P_{50} water potential branches, and 5 033 significantly different genes between the sodium tungstate solution-soaked branches and deionized water-soaked dehydrated to P_{50} water potential branches. (2) Plant hormone signal transduction, carotenoid biosynthesis and starch and sucrose metabolism pathways were key pathways in the dehydrated response of *S. matsudana* branches after being soaked in the sodium tungstate solution. (3) Soaking *Salix matsudana* in deionized water until P_{50} water potential resulted in significantly increased expression levels of PP2C family genes (*P2C03*, *P2C51*), ABA receptor regulatory component genes (*PYL8*), and ABA response element binding protein genes (*AISL5*) in the plant hormone signaling pathway compared with non dehydrated branches. In the biosynthesis pathway of carotenoids, the expression levels of carotenoid isomerase gene (*CRTSO*) and abscisic aldehyde oxidase gene 3 (*ALDO3*) were significantly upregulated. In the starch and sucrose metabolism pathways, the expression levels of glycosyl hydrolase family genes (*INVA*, *E133*), α -amylase like 3 gene (*AMY3*), trehalose phosphatase gene (*TPSS*), sucrose phosphate synthase 1 gene (*SPS1*), etc. were significantly upregulated, while the expression level of starch synthase gene (*SSY1*) was significantly downregulated. The related genes were opposite expressed in the dehydrated branches of *S. matsudana* after being soaked in the sodium tungstate solution. [Conclusion] In this study, the drought stress-related pathways and the important functional genes of *S. matsudana* are explored, which provides the research basis for revealing drought stress response of *S. matsudana*.

Key words: *Salix matsudana*; water potential; transcriptome; ABA; starch hydrolysis; drought stress response; DEGs

全球气候变暖使干旱地区面积逐渐增大,水资源越来越匮乏。提高树木水分利用效率,增强植物耐旱、抗旱能力已成为一个紧迫的问题。植物在长期失水时,会启动一系列生理、生化和基因表达的胁迫响应机制,如改变生理特性,调整根系生长和结构,关闭地上部分的气孔等,以适应水分梯度的变化并减少水分损失^[1-2]。

转录组测序是基于物种特异性限制酶切位点的高通量 mRNA 测序方法,可全面、快速地反映基因转录水平的动态变化,同时识别和量化稀有和正常转录本,并提供基于探针的转录本序列结构信息。植物的耐旱性受多种基因控制^[3],许多基因的调控和表达都在这个过程中发挥作用。转录组测序为研究植物的耐旱机制和调控网络提供了便捷的途径,将成为揭示干旱胁迫信号通路和重要基因功能的有效工具^[4]。

植物对于干旱胁迫的响应是一个复杂的生物学过程,涉及多种基因和细胞通路的调控。在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[5]、水稻 (*Oryza sativa*)^[6]和短柄草 (*Brachypodium sylvaticum*)^[7]等植物中发现,光合作用、脱落酸(abscisic acid, ABA)合成、信号转导、渗透物质生物合成等相关基因和转录因子在其干旱调控过程中发挥了关键作用^[8]。ABA 是重要的

干旱胁迫响应激素。外源 ABA 的应用能够有效缓解水稻孕穗期的干旱胁迫,促进复水后的功能修复,减轻干旱对产量的影响^[9]。在外源 ABA 处理下,玉米 (*Zea mays*) 幼苗根系的水势、渗透势和渗透调节能力均得到改善,表明 ABA 能够介导细胞对水势下降的适应性生理响应^[10]。植物受到干旱胁迫时,体内 ABA 介导的失水响应机制和调控网络极其复杂,相关通路基因的调控机制亟需进一步的探索。

旱柳 (*Salix matsudana*) 是我国北方优良的园林树种,可作为木材、饲料、药材等使用,不仅在经济上具有广泛的应用价值,并且具有很强的抗旱、耐盐碱能力,在水土保持、抗风蚀和防沙、环境美化等生态修复和抗逆过程中展现出显著的优势。本研究以旱柳离体枝条为材料,以 ABA 合成抑制剂钨酸钠溶液和去离子水分别浸泡处理后,自然失水至不同水势,模拟不同程度的干旱胁迫,拟利用转录组测序方法,探究两种处理下旱柳失水枝条木质部响应不同程度干旱胁迫的转录组差异。通过分析差异基因和相关关键代谢通路,挖掘旱柳失水枝条中 ABA 介导的干旱胁迫响应过程中的重要功能基因,研究结果将为揭示旱柳干旱胁迫响应机制奠定前期理论基础,也将为阐明其他树种逆境胁迫下的调控机制提供重要参考。

1 材料和方法

1.1 材料

2018年从中国林业科学研究院内同一株旱柳上取插穗,经无性扦插繁殖,建立了旱柳无性系圃,保存同一基因型旱柳无性系30株。2023年3月取其枝条,剪成10 cm左右的插穗,扦插至砂子基质的塑料盆内,盆的直径为10 cm,高15 cm。扦插苗生长在中国林业科学研究院玻璃温室中,温室温度20~28℃,每日16 h光照和8 h黑暗处理,每2天浇一次水,每周每盆定期浇200 mL Hoagland's 营养液。

1.2 研究方法

1.2.1 实验处理

2023年9月,清晨(06:00)随机选取生长健壮、无病虫害的1.5 m左右枝条8个,用湿毛巾包裹后置于黑色塑料袋中快速带入实验室。将枝条用去离子水清洗干净,在水中将枝条末端20 cm剪去并擦干水分,平均分为2组,分别完全浸入去离子水和100 μmol/LABA合成抑制剂钨酸钠溶液中,在遮光黑暗的条件下浸泡24 h。取出每组枝条,迅速擦干枝条水分,置于实验室操作台上分别自然失水至不同水势,具体包括0(未失水枝条,作为对照)、-1.5、-1.7、-1.9 MPa(旱柳 P_{50} ,即旱柳枝条导水损失率为50%时的水势,是反映植物在干旱胁迫下木质部栓塞抗性的一个重要指标)。将去离子水浸泡过失水至0、-1.5、-1.7、-1.9 MPa的处理分别命名为CK-0、CK-1、CK-2、CK-3,将ABA合成抑制剂钨酸钠溶液浸泡过失水至0、-1.5、-1.7、-1.9 MPa的处理分别命名为W-0、W-1、W-2、W-3。枝条木质部为旱柳运输水分的主要部位,取失水至特定水势的枝条上中部10 cm长枝段,除去枝条的皮层和韧皮部,留取木质部用锡箔纸将其包裹,标记后迅速存于液氮罐中,用于转录组测定。每个处理重复3次,每个重复采集1个枝条进行取样,总计24个枝条。

1.2.2 总RNA的提取与检测

委托上海美吉生物医药科技有限公司进行转录组测序。从旱柳木质部样品中提取总RNA,参照宋润先等^[11]采用的方法,利用Nanodrop 2000对所提RNA的浓度和纯度进行检测,琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性,Agilent 2100测定RIN(RNA integrity number)值。单次建库要求RNA总量 $\geq 1 \mu\text{g}$,质量浓度 $\geq 35 \text{ ng}/\mu\text{L}$, $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280} \geq 1.8$, $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{230} \geq 1.0$ 。

1.2.3 文库制备与测序

具体包括Oligo dT富集mRNA,片段化mRNA,反转合成cDNA,连接接头,Illumina平台上机测序5个过程。

1.2.4 样本相关性分析

采用偏最小二乘法对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进行判别分析,得到各样品间主成分分析图。同一组别位置相距较近,表明样品间重复性相对较好,不同组别位置相距较远,表明不同组别样品间存在较大差异。对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进行偏相关性分析得到各样品间相关性热图,不同组别相关系数越小,表明各组别样品间差异越大。

1.2.5 差异表达基因分析

对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进行显著差异表达基因的筛选,并对其数目进行统计分析,制作柱状图与韦恩图。对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进行显著差异功能基因注释与富集分析,得到各组别间KEGG富集分类图。

1.2.6 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)验证

使用Primer Premier 6.0软件设计引物,Actin作为内参基因(F: CCCCTCAACGCTAAGGCTAACAG, R: CAGAATCTTCATCAAAGCATCGGTG, GenBank登录号为JX310002)^[12],引物由睿博兴科生物技术有限公司合成,引物序列信息见表1。将提取的RNA进行反转录,使用ABI9700型PCR仪,设置的参数为42℃保温15 min,85℃保持5 s使逆转录酶和gDNA清除剂失活,4℃冷却。每管cDNA里加入无核酸酶水,稀释到合适浓度,配置PCR反应体系,并将PCR混合液分装到384孔PCR板中,依次加入对应的cDNA,设置3个复孔重复,置于板式离心机2000 r/min离心1 min,设置PCR循环条件后上机检测,试验结束后导出数据,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算表达量^[13]。

2 结果与分析

2.1 RNA测序质量评估

琼脂糖凝胶电泳检测结果显示:从旱柳失水枝

表1 引物序列信息

Tab. 1 Primer sequence information

基因名称	引物序列(5'—3')	熔解温度 (T_m)/℃	产物 大小/bp
PMT3	F CCACCTCCTCGTCTTGCTGACT	60.0	166
	R CTCAACCCTGTGCTGCCAAACT	59.6	
LTI6B	F CCTCCTCTCGGTGTCTTCCTCA	59.1	195
	R ACTTGGTGATGGCGTAGATGGC	54.5	
EF105	F CAGCGGCTACGGAACCACTAAC	59.1	93
	R ACGGTGATAGCGGTGGCACAT	57.1	
12KD	F GAGCGAGCATCGTTGAAGAGGT	59.1	140
	R GGATGTTCCAGGCAATGGCAGA	59.2	
H1	F CACCATGACAACCGGCGAAGAA	59.8	85
	R AGGCTTCTCTCCACCTTAGGC	59.5	
DNJ11	F TAACCACCAGCAGCACCA	60.0	145
	R GCCAGTCTCCGGTAAGCAGTCT	60.1	

条样本中提取的总 RNA 浓度较高,完整性较好且均无降解,无 DNA 或蛋白质等杂质污染, RNA 提取的质量满足建库要求。选取多个样本进行 RNA 测序,每一个样本的 Q_{20} (测序碱基质量值达到 20 以上水平的碱基占总碱基的百分比)都在 98% 以上, Q_{30} (测序碱基质量值达到 30 以上水平的碱基占总碱基的百分比)都在 95% 以上,错误率平均为 2%。利用 HISAT2 软件将不同样品中的过滤数据(clean reads)与红皮柳基因组(https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Spurpurea_v5_1)进行比对,比对率较高(> 70%)。综上,本研究中转录组测序的质量整体较高,满足后续分析的要求。

2.2 样品相关性分析

对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进行主成分分析,研究发现:第 1 主成解释释度为 51.39%,第 2 主成解释释度为 12.91%(图 1a)。CK-3、CK-0、W-3 3 组样品两两之间相距较远。

对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品间进行相关性分析,研究表明:CK-0 与 CK-1 的相关系数为 0.897,与 CK-2 相关系数为 0.797,与 CK-3 相关系数为 0.457,表明随着水势的逐渐降低,差别越来越大,其中 CK-0 与 CK-3 差别最小,CK-0 与 CK-3 差别最明显(图 1b)。W-3 与 CK-3 的相关系数为 0.654,两组差别也较大。综合主成分分析图和相关性热图结果,CK-3、CK-0、W-3 两两之间有较大差别,因而接下来的组间差异分析,将围绕这 3 组样品。

2.3 组间差异分析

对旱柳失水至不同水势枝条中的转录组样品进

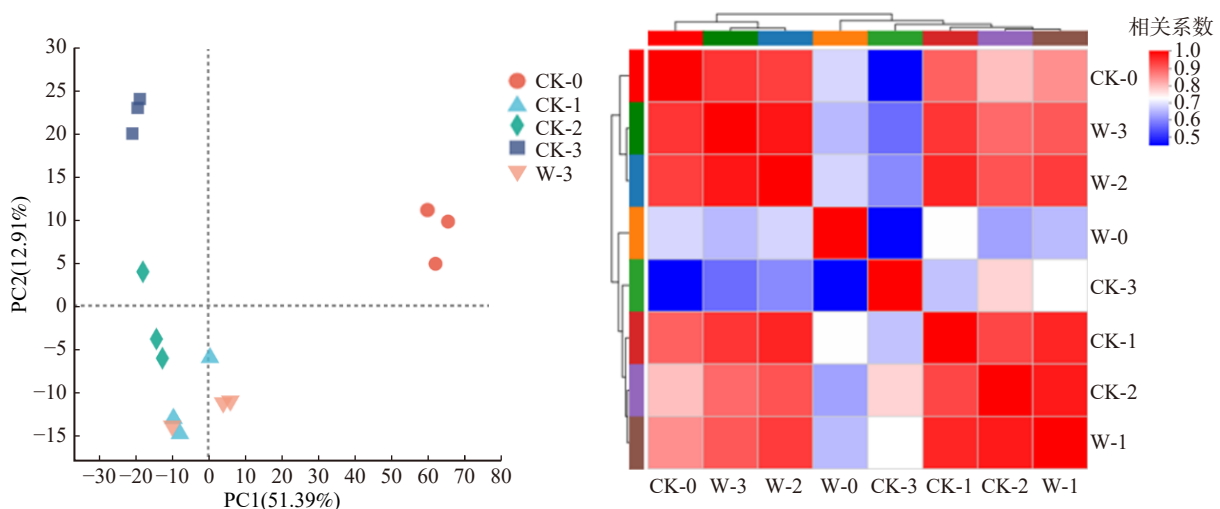
行显著差异表达基因的筛选,结果中 CK-0 与 CK-1 的显著差异表达基因共 2 617 个,包括上调基因 1 210 个和下调基因 1 407 个;CK-0 与 CK-2 的显著差异表达基因共 2 049 个,包括上调基因 400 个和下调基因 1 649 个;CK-0 与 CK-3 的显著差异表达基因共 5 672 个,包括上调基因 2 105 个和下调基因 3 567 个;W-3 与 CK-3 的显著表达差异表达基因共 5 033 个,包括上调基因 2 978 个和下调基因 2 055 个(图 2a)。在所有组别中,CK-3、CK-0、W-3 两两之间的显著差异表达基因相对比较多。

韦恩图(图 2b)表明:CK-0 与 CK-1 的特异显著差异表达基因(不共有)为 684 个,与 CK-2 和 CK-3 的共有显著差异表达基因为 986 个;W-3 与 CK-3 的特异显著差异表达基因有 2 234 个。

2.4 差异基因功能注释与富集分析

KEGG 富集途径可归为 5 大类别,分别包括:代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程和生物体系统(图 3)。CK-0 与 CK-3 的显著差异表达基因通路富集在 129 个 KEGG 途径,包括糖酵解/糖原异生、果糖与甘露糖代谢、内质网蛋白质加工、丙酮酸代谢等途径。W-3 与 CK-3 的显著差异表达基因通路富集在 128 个 KEGG 途径,包括糖酵解/糖异生通路、光合作用中的碳固定、丙酮酸代谢、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸的生物合成等。

对差异表达基因共有通路进行分析发现:CK-3、CK-0 差异表达基因的通路,与 W-3、CK-3 差异表达基因的通路均集中在植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成、淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖元生



a 为不同组别间旱柳枝条转录组结果的主成分分析图

b 不同组别间旱柳枝条转录组结果的相关性热图

CK-0: 去离子水浸泡后失水至 0 MPa; CK-1: 去离子水浸泡后失水至-1.5 MPa; CK-2: 去离子水浸泡后失水至-1.7 MPa; CK-3: 去离子水浸泡后失水至-1.9 MPa; W-0: 钨酸钠溶液浸泡后失水至 0 MPa; W-1: 钨酸钠溶液浸泡后失水至-1.5 MPa; W-2: 钨酸钠溶液浸泡后失水至-1.7 MPa; W-3: 钨酸钠溶液浸泡后失水至-1.9 MPa。

图 1 旱柳枝条 RNA 样本的主成分分析和相关性热图

Fig. 1 PCA and correlation heatmap of *Salix matsudana* branch RNA samples

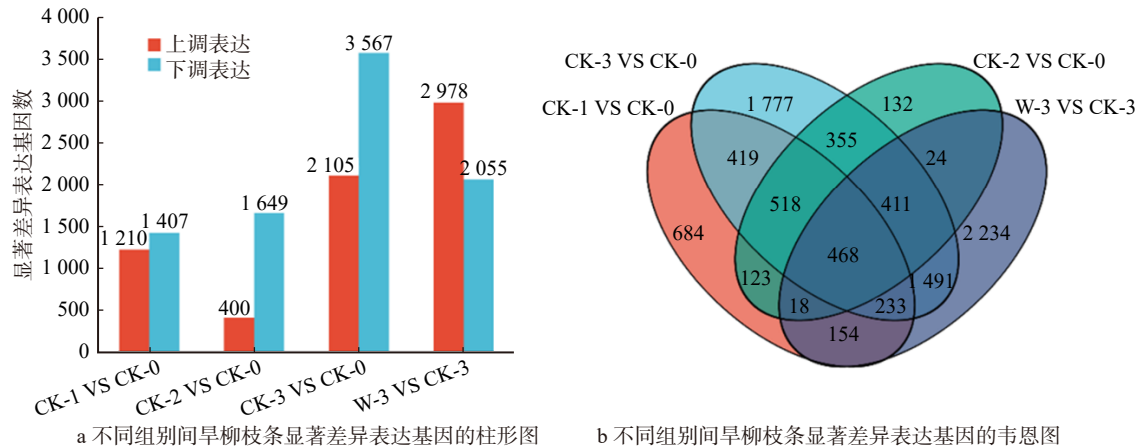


图 2 差异表达基因分析

Fig. 2 Analysis of differentially expressed genes

成、半乳糖代谢、果糖和甘露糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化和磷酸戊糖途径、色氨酸代谢和 ABC 转运蛋白等方面, 但基因表达数目存在差异 (表 2)。

2.5 差异表达基因分析

差异表达基因分析 (表 3) 发现: 当 CK-3 vs CK-0 时, 类胡萝卜素生物合成通路中的类胡萝卜素异构酶基因 (*CRTISO*)、脱落醛氧化酶 3 基因 (*ALDO3*) 表达量分别显著上调; 植物激素信号转导通路中 PP2C 家族基因 (*P2C03*、*P2C51*), ABA 受体的调控成分基因 (*PYL8*)、ABA 响应元件结合蛋白基因 (*AISL5*) 的表达量显著上调; 淀粉与蔗糖代谢通路中糖基水解酶家族 *INVA*、*E133*、类 α -淀粉酶 3 基因 (*AMY3*)、海藻糖磷酸酶基因 (*TPS5*)、蔗糖磷酸合酶 1 基因 (*SPSA1*) 等表达量显著上调, 而淀粉合成酶基因 (*SSY1*) 表达量显著下调。当 W-3 vs CK-3 时, 在植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成、淀粉与蔗糖代谢通路中的目的基因均呈现相反表达。

2.6 RT-qPCR 验证差异基因表达量

在差异显著的代谢通路中随机选择 6 个不同表达模式的基因进行 RT-qPCR 表达验证 (图 4), 虽然基因差异倍数的具体数值与转录组数值存在少量差距, 但表达趋势完全一致, 表明转录组测序获得的基因表达结果具有可靠性。

3 讨 论

3.1 植物激素信号转导途径

植物在干旱条件下, 外部失水刺激被细胞膜上的未知传感器感知, 然后通过多种信号通路传递信号, 促进干旱胁迫响应基因的差异表达, 从而赋予植物耐旱性^[14-15]。多种信号分子, 如细胞内 Ca^{2+} 、ABA 等对干旱信号转导很重要^[16]。ABA 被认为是植物适应干旱条件的关键激素。细胞 ABA 在应激下的积

累会触发 ABA 反应基因的激活和气孔的关闭, 从而减少水分流失^[17]。通过分析植物激素信号转导通路的差异表达基因可知: 去离子水浸泡 24 h 后, 失水至 P_{50} 水势旱柳枝条相较于未失水枝条, PP2C 家族基因 (*P2C03*、*P2C51*), ABA 受体的调控成分基因 (*PYL8*)、ABA 响应元件结合蛋白基因 (*AISL5*) 的表达显著上调。其中, PP2C 类蛋白是一种依赖 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 的单体苏氨酸蛋白磷酸酶, 与其他类型的蛋白磷酸酶相比, 植物中 PP2C 类蛋白数量最为丰富, 其介导的蛋白质可逆磷酸化在植物逆境信号传递过程中参与 ABA、JA 等多种信号传导途径。ABA 与其受体蛋白相结合后, 抑制下游 PP2C 的活性, 从而完成 ABA 的信号传递。钨酸钠溶液浸泡 24 h 后旱柳失水至 P_{50} 水势枝条相较于去离子水浸泡 24 h 后失水至 P_{50} 水势枝条, PP2C 基因家族和 ABA 的受体蛋白基因均显著下调。

3.2 类胡萝卜素生物合成途径

在高等植物体内, ABA 以间接途径合成为主, 即以类胡萝卜素合成途径为主。类胡萝卜素包含有 40 个碳原子的类异戊二烯聚合物, 即四萜化合物, 是一类重要的天然色素的总称, 普遍存在于动物、高等植物、真菌和藻类的黄色或红色的色素之中, 能在植物的逆境响应、光氧胁迫和植物的生长发育中发挥重要的作用, 同时还能作为植物激素的前体来发挥功能。类胡萝卜素异构酶基因 (*CRTISO*) 可作用于类胡萝卜素的形成。在类胡萝卜素合成途径中生成的脱落酸醛是合成 ABA 的前体物质^[18]。ABA 合成的最后一步是由脱落醛氧化酶 3 基因 (*ALDO3*) 催化脱落酸醛形成脱落酸。钨酸钠能抑制脱落醛氧化酶的活性, 使脱落酸醛不能转化为 ABA^[19]。通过分析类胡萝卜素生物合成通路的差异表达基因, 研究可知: 去离子水浸泡 24 h 后旱柳失水至 P_{50} 水势枝条相较于未失水枝条, *CRTISO*、*ALDO3* 均显著上调, 表

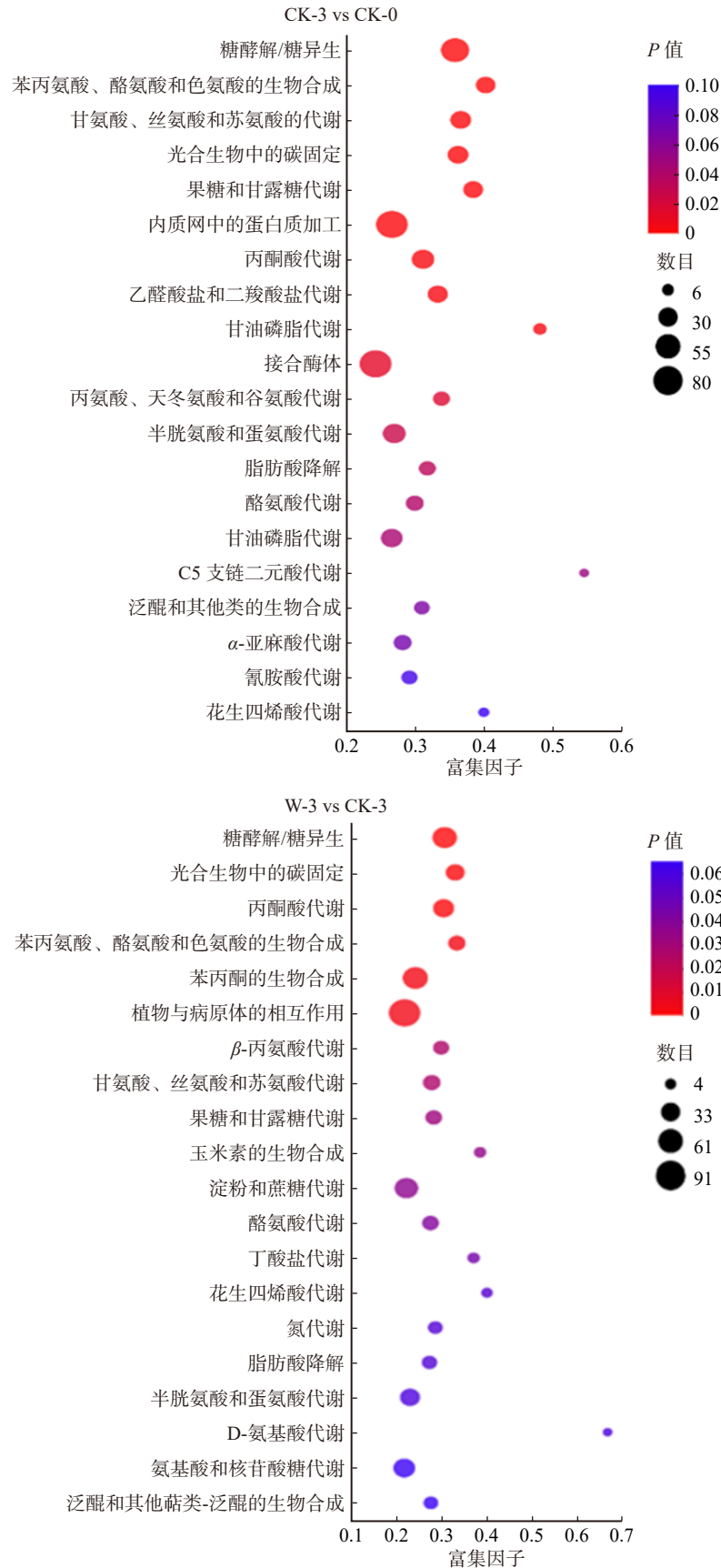


图3 差异表达基因 KEGG 富集分类图

Fig. 3 KEGG enrichment classification diagram of differentially expressed genes

明旱柳失水枝条 ABA 含量增加。钨酸钠溶液浸泡 24 h 后旱柳失水至 P_{50} 水势枝条相较于去离子水浸

泡 24 h 后失水至 P_{50} 水势枝条, *CRTSO*、*ALDO3* 均下调表达, ABA 合成减少。

表 2 差异表达基因共有通路分析

Tab. 2 Co-pathway analysis of differentially expressed genes

通路名称	差异表达基因数目		通路名称	差异表达基因数目	
	CK-3 vs CK-0	W-3 vs CK-3		CK-3 vs CK-0	W-3 vs CK-3
植物激素信号转导	60	54	糖酵解/糖生成	62	53
类胡萝卜素生物合成	10	9	淀粉和蔗糖代谢	48	49
戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化	15	11	半乳糖代谢	18	13
类黄酮生物合成	9	16	果糖和甘露糖代谢	30	22
ABC转运蛋白	16	23	色氨酸代谢	10	14

表 3 关键基因的差异表达情况

Tab. 3 Differential expression situation of key genes

通路名称	基因名称	CK-3 vs CK-0		W-3 vs CK-3	
		差异表达	log ₂ (FC)	差异表达	log ₂ (FC)
植物激素信号转导	<i>P2C03</i>	上调	2.415	下调	-1.750
	<i>P2C51</i>	上调	5.098	下调	-2.118
	<i>PYL8</i>	上调	1.396	下调	-1.170
	<i>AISL5</i>	上调	3.088	下调	-1.105
类胡萝卜素生物合成	<i>CRTSO</i>	上调	1.065	下调	-0.737
	<i>ALDO3</i>	上调	1.859	下调	-0.382
淀粉与蔗糖代谢	<i>SSY1</i>	下调	-1.616	上调	0.165
	<i>AMY3</i>	上调	2.075	下调	-1.844
	<i>SPSA1</i>	上调	1.320	下调	-1.713
	<i>TPS5</i>	上调	1.957	下调	-1.159
	<i>E133</i>	上调	4.329	下调	-2.949
	<i>INVA</i>	上调	3.314	下调	-1.705

注: FC为差异倍数。

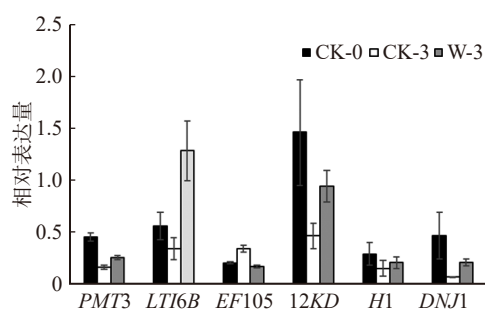


图 4 差异基因 RT-qPCR 表达量

Fig. 4 RT-qPCR expression of differential genes

3.3 淀粉与蔗糖代谢途径

干旱胁迫下植物组织碳水化合物含量的变化是植物耐受逆境的特点之一^[20]。失水会使植物体内淀粉代谢的关键酶—淀粉合成酶和淀粉脱乙酰酶活性受到抑制,降低其淀粉含量,进而影响植物的光合效率。另外,干旱胁迫会使得植物体内可溶性糖和游离氨基酸含量升高,进而提高植物体内渗透调节物质(如脯氨酸、可溶性糖等)含量,增加植物体内水分

含量,最终达到抗旱的目的。Bensari 等^[21]曾提出水分胁迫下淀粉含量的变化是植物抵御胁迫的内在因素的假说。研究^[22]发现,春小麦(*Triticum aestivum*)开花后干旱胁迫会导致小麦籽粒淀粉积累,淀粉合成关键酶基因表达显著下调,从而抑制了小麦籽粒淀粉积累和淀粉合成关键酶基因的表达,最终导致春小麦的产量降低。干旱胁迫条件下,马铃薯(*Solanum tuberosum*)中的淀粉含量显著下降^[23]。在旱季,林木体内的淀粉会转化为可溶性糖;干旱胁迫消失后,多余的可溶性糖又会转化成淀粉储存起来。积累的可溶性糖可参与渗透调节过程,是反映植物抗旱性强弱的有效指标之一^[24]。桃(*Prunus persica*)在干旱条件下果实中的果糖和海藻糖含量升高,桃叶中的山梨醇、葡萄糖和果糖浓度显著增加,淀粉含量则显著降低^[25]。通过分析淀粉与蔗糖代谢通路的差异表达基因,研究可知:去离子水浸泡 24 h 后旱柳失水至 P_{50} 水势枝条相较于未失水枝条,糖基水解酶家族基因(*INVA*、*E133*)、类 α -淀粉酶 3 基因(*AMY3*)、海藻糖磷酸酶基因(*TPS5*)、蔗糖磷酸合酶 1(*SPSA1*)等表达量显著上调,而淀粉合成酶基因(*SSY1*)显著下调。*SSY1* 可促进淀粉合成,在干旱胁迫过程中表达量下调,*AMY3* 可将淀粉水解为可溶性糖,在干旱胁迫过程中表达量上调,与干旱过程中淀粉含量降低趋势一致。淀粉降低可能是干旱胁迫下,植物体内的淀粉分解酶活性增加,如 α -淀粉酶和淀粉磷酸化酶(SP)等^[22]。这些酶的作用促进了淀粉向小分子糖类的转化,从而增加了可溶性糖的含量,以满足植物在干旱条件下的能量需求和渗透调节需求。在木薯(*Manihot esculenta*)中,干旱胁迫下茎秆中 α -淀粉酶及蔗糖合成酶(SuSy)等淀粉分解类酶活性增加^[26]。糖基水解酶家族可水解碳水化合物中的糖苷键,参与植物重要生理过程,如植物激素的活化、渗透调节等生物或非生物胁迫的响应。蔗糖是植物体内可溶性糖的重要组成,对维持细胞渗透势起重要作用。海藻糖具有保护生物细胞、生物活性物质以及在胁迫中可以稳定细胞膜结构和

蛋白质的功能。在干旱胁迫下,木薯^[24]、牛心朴子(*Cynanchum komarovii*)^[27]、玉米^[28]中的海藻糖同样起到主要渗透调节作用。Han等^[29]研究发现,木薯叶片海藻糖含量与叶片持水能力呈正相关。钨酸钠溶液浸泡24 h后,早柳失水至 P_{50} 水势,枝条相较于去离子水浸泡24 h后失水至 P_{50} 水势枝条, *INV4*、*E133*、*AMY3*、*TPS5*、*SPSA1*和*SSY1*均呈相反表达。目的基因均呈现相反表达,表明ABA可介导淀粉水解过程,通过渗透调节作用改善植物水分状况,这与前人研究^[30]结果一致。

综上所述,早柳枝条失水后,ABA可通过调控植物激素信号转导途径中*P2C03*、*P2C51*、*PYL8*、*AI5L5*等关键基因表达,介导类胡萝卜素生物合成途径及后续淀粉与蔗糖代谢途径中关键基因表达变化,促进多糖水解过程,改变早柳栓塞导管周围薄壁细胞渗透势,进而抵抗干旱逆境。

4 结 论

本研究以早柳离体枝条为材料,探究了钨酸钠溶液浸泡后早柳不同水势失水枝条木质部转录组的差异响应。本研究得到以下结论。

(1)植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成和淀粉与蔗糖代谢途径是早柳枝条失水响应的关键通路。

(2)钨酸钠溶液浸泡后早柳枝条不断失水至 P_{50} 水势时,在植物激素信号转导通路中,PP2C基因家族中*P2C03*、*P2C51*,ABA的受体蛋白基因*PYL8*、*AI5L5*的表达量显著上调;类胡萝卜素生物合成通路中,类胡萝卜素异构酶基因*CRTSO*、脱落醛氧化酶基因3*ALDO3*表达量显著上调;淀粉与蔗糖代谢通路中,糖基水解酶基因家族*INV4*、*E133*、类 α -淀粉酶3基因*AMY3*、海藻糖磷酸酶基因*TPS5*、蔗糖磷酸合酶1基因*SPSA1*等表达量显著上调,而淀粉合成酶基因*SSY1*表达量显著下调。

(3)早柳枝条失水后,ABA可介导多糖水解过程相关关键通路中目的基因的表达,进而抵抗干旱逆境。

研究结果将为早柳干旱胁迫响应提供研究基础,也为抗旱植物品种的选育提供理论依据。未来可对早柳枝条失水后复水响应机制进行相关研究,更加全面地了解早柳在干旱胁迫下的生理和代谢响应机制。

参 考 文 献

[1] Giorgi F, Lionello P. Climate change projections for the Mediterranean region[J]. *Global Planetary Change*, 2008, 63: 90–104.

- [2] Gupta A, Rico-Medina A, Cao-Delgado A I. The physiology of plant responses to drought[J]. *Science*, 2020, 368: 266–269.
- [3] 邵艳军, 山仑. 植物耐旱机制研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2006, 14(4): 16–20.
Shao Y J, Shan L. Advances in the studies on drought tolerance mechanism of plants[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2006, 14(4): 16–20.
- [4] Deyholos M, Ozturk Z N, Talame V, et al. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48(5): 551–573.
- [5] Seki M, Narusaka M, Ishida J, et al. Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a fulllength cDNA microarray[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2002, 31(3): 279–292.
- [6] Rabbani M, Maruyama K, Abe H, et al. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel-blot analyses[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(4): 1755–1767.
- [7] Priest H D, Fox S E, Rowley E R, et al. Analysis of global gene expression in *Brachypodium distachyon* reveals extensive network plasticity in response to abiotic stress[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87499.
- [8] 王洁. 干旱胁迫马铃薯叶片转录组分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
Wang J. Transcriptome analysis of potato leaves under drought stress[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.
- [9] 郭贵华, 刘海艳, 李刚华, 等. ABA缓解水稻孕穗期干旱胁迫生理特性的分析[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(22): 4380–4391.
Guo G H, Liu H Y, Li G H, et al. Analysis of physiological characteristics about ABA alleviating rice booting stage drought stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(22): 4380–4391.
- [10] 王玮, 张枫, 李德全. 外源ABA对渗透胁迫下玉米幼苗根系渗透调节的影响[J]. *作物学报*, 2002, 28(1): 121–126.
Wang W, Zhang F, Li D Q. The effects of exogenous ABA on osmotic adjustment in maize roots under osmotic stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2002, 28(1): 121–126.
- [11] 宋润先, 李翔, 毛秀红, 等. 镉胁迫下美洲黑杨无性系‘中荷1号’转录组分析[J]. *北京林业大学学报*, 2021, 43(7): 12–21.
Song R X, Li X, Mao X H, et al. Transcriptome analysis of clone *Populus deltoides* ‘Zhonghe 1’ under cadmium stress[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2021, 43(7): 12–21.
- [12] 张子葵. 黄腐酸对镉和干旱胁迫下早柳生理特性及抗逆基因表达的影响[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2022.
Zhang Z R. Effects of fulvic acid on physiological characteristics and resistance gene expression of *Salix matsudana* Koidz under cadmium and drought stress[D]. Shenyang: Liaoning University, 2022.
- [13] Lu Q, Shao F J, Ma C, et al. Genome-wide analysis of the lateral organ boundaries domain gene family in *Eucalyptus grandis* reveal[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(1): 124–136.
- [14] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J].

- Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 247–273.
- [15] Hirayama T, Shinozaki K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future[J]. Plant Journal, 2010, 61: 1041–1052.
- [16] Xiong L, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. Plant Cell, 2002, 14(Suppl.): 165–183.
- [17] Hu H, Xiong L. Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops[J]. Annual Review of Plant Biology, 2014, 65: 715–741.
- [18] Milborrow B V. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 359: 1145–1164.
- [19] Hansen H, Grossmann K. Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition[J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 1437–1448.
- [20] Ma Y, He J, Ma C, et al. Ectomycorrhizas with *Paxillus involutus* enhance cadmium uptake and tolerance in *Populus × canescens*[J]. Plant Cell Environ, 2014, 37(3): 627.
- [21] Bensari M, Calmés J, Viala G. Water deficit and distribution of photosynthetic carbon between sucrose and starch[J]. Acta Oecol, 1990, 11(6): 843–855.
- [22] 赵晶晶, 姚珊, 李昱, 等. 花后干旱对春小麦籽粒淀粉含量及淀粉形成关键酶活性的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2015, 33(6): 104–110.
- Zhao J J, Yao S, Li Y, et al. Effects of drought on the starch contents and activities of key enzymes after anthesis in spring wheat grains[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2015, 33(6): 104–110.
- [23] Rudack K, Seddig S, Sprenger H, et al. Drought stress-induced changes in starch yield and physiological traits in potato[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2017, 203(6): 494–505.
- [24] 张大鹏, 罗国光. 不同时期水分胁迫对葡萄果实生长发育的影响 [J]. 园艺学报, 1992, 19(4): 296–300.
- Zhang D P, Luo G G. Effect of water stress at different periods on the growth and development of grape berries[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1992, 19(4): 296–300.
- [25] 王有年, 张海英, 杨爱珍, 等. 水杨酸对桃贮藏期脂氧合酶 (LOX) 活性及其品质的影响 [C]//中国园艺学会. 中国园艺学会第九届学术年会论文集. 北京: 中国科学技术出版社, 2001.
- Wang Y N, Zhang H Y, Yang A Z, et al. Effects of salicylic acid on the activity and quality of lipoxygenase (LOX) in peach during storage[C]// Chinese Society for Horticultural Science. Proceedings of the 9th Annual Academic Conference of Chinese Society for Horticultural Science. Beijing: Science and Technology of China Press, 2001.
- [26] 赵超, 王海燕, 刘美珍, 等. 干旱胁迫下木薯茎秆可溶性糖、淀粉及相关酶的代谢规律 [J]. 植物生理学报, 2017, 53(5): 795–806.
- Zhao C, Wang H Y, Liu M Z, et al. Effect of drought on the contents of soluble sugars, starch and enzyme activities in cassava stem[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(5): 795–806.
- [27] 陈翠云, 赵昕, 李新荣. 干旱胁迫下牛心朴子的渗透调节机制研究 [J]. 中国沙漠, 2012, 32(5): 1275–1282.
- Chen C Y, Zhao X, Li X R. Osmotic adjustment mechanism of *Cynanchum komarovii* under drought stress[J]. Journal of Desert Research, 2012, 32(5): 1275–1282.
- [28] 项阳, 刘延波, 秦利军, 等. 酵母 *TPS1* 基因促进干旱胁迫下玉米的根系生长 [J]. 植物生理学报, 2015, 51(3): 363–369.
- Xiang Y, Liu Y B, Qin L J, et al. Trehalose-6-phosphate synthase gene *TPS1* from *Saccharomyces cerevisiae* improve root growth in transgenic maize under drought stress[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(3): 363–369.
- [29] Han B Y, Fu L L, Zhang D, et al. Interspecies and intraspecies analysis of trehalose contents and the biosynthesis pathway gene family reveals crucial roles of trehalose in osmotic-stress tolerance in cassava[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(7): 1077–1095.
- [30] Pattanagul W. Exogenous abscisic acid enhances sugar accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress[J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2011, 10(3): 212–219.

(责任编辑 赵田芸 吴娟
责任编辑 康向阳)