

【黄河三角洲研究】

盐胁迫下酸枣幼苗生理响应和转录组分析

刘凯^{1,2}, 张智强³, 张会芳⁴, 鲁文青⁵, 牛丽源¹, 盖志君⁵, 张井刚⁶

(1. 滨州职业学院 生物工程学院, 山东 滨州 256603;

2. 河北农业大学 食品科技学院, 河北 保定 071000;

3. 滨州市滨城区综合行政执法局, 山东 滨州 256600;

4. 山东省滨州市滨城区市东街道办事处, 山东 滨州 256600;

5. 滨州市林业保护和发展服务中心, 山东 滨州 256600; 6. 无棣县谭阳林场, 山东 滨州 251999)

摘要:酸枣具有很高的经济价值和营养价值,是黄河三角洲地区盐碱地开发的重要树种。以盆栽酸枣幼苗为试材,用 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 溶液处理6 h、12 h、24 h、36 h,以超纯水为对照,检测叶片相对电导率、丙二醛含量、SOD和POD活性等生理指标的变化,并将处理6 h的试材进行转录组测序和分析,初步探究盐胁迫对酸枣幼苗叶片转录水平的影响。结果表明:盐胁迫下,酸枣幼苗叶片相对电导率、丙二醛含量呈现增加趋势,POD活性呈现上升趋势,SOD呈先上升后下降趋势;转录组测序筛选获得2 974个DEGs,GO富集集中在膜、细胞质膜、信号转导等,KEGG富集集中在植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢等通路;DEGs中有转录因子bZIP家族成员2个、WRKY家族成员13个、MYB家族成员18个、NAC家族成员6个、bHLH家族成员9个。研究结果可为探究酸枣响应盐胁迫的分子机制提供参考。

关键词:酸枣幼苗;盐胁迫;黄河三角洲;生理生化;转录组

中图分类号: S 665.1 **文献标识码:** A **DOI:**10.13486/j.issn.2097-4973.2024.03.015

黄河流域生态保护和高质量发展已上升为重大国家战略,黄河三角洲地区是黄河流域的重要组成部分^[1]。黄河三角洲盐碱地分布较广,盐离子含量较高、可利用性差,面积达698.56万亩($4.657\times 10^5\text{ hm}^2$),占本地区土地总面积的50%以上^[2],土壤盐渍化严重制约黄河三角洲地区生态保护和农业的健康发展,种植耐盐碱植物是盐碱地高效开发和利用的重要方式^[3]。酸枣(*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa*)是鼠李科枣属落叶乔木或灌木,原产于中国,为栽培枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)的原生种,具有耐盐碱、耐旱、耐涝、耐贫瘠、适应性强等特点,常作为栽培枣的砧木^[4],是盐碱地果树栽培先锋树种。此外,酸枣作为药食同源树种,具有很高的营养和药用价值,酸枣仁具有养心补肝、宁兴安神等功效^[5],酸枣叶、果肉和树皮含有丰富的功能成分,开发利用潜力大^[6]。因此,研究盐胁迫下酸枣生理和转录水平的变化,对提高枣的耐盐性以及利用盐碱地资源发展枣产业具有重要意义。

收稿日期:2024-06-03

基金项目:滨州市农社领域科技特派员助力乡村振兴行动计划(2023KTPY013);滨州职业学院博士基金项目(2022bzbs01);滨州职业学院自然科学基金项目(2023yjzx13)

第一作者简介:刘凯(1992—),男,山东阳信人,副教授,博士,主要从事植物栽培与育种研究。

E-mail: walnutk@163.com

通信作者简介:张井刚(1977—),男,山东无棣人,工程师,主要从事林业保护和发展研究。

E-mail:13854383070@163.com

目前,转录组测序已成为研究植物非生物胁迫复杂调控网络的重要技术^[7],广泛用于植物盐碱胁迫研究,例如蕨麻^[8]、水稻^[9]、大豆^[10]、锁阳^[12]、碱蓬^[13]、籼稻^[14]等。本研究以盆栽酸枣幼苗为试材,用 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液处理 6 h、12 h、24 h、36 h,以超纯水为对照,检测叶片电导率、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性等生理指标的变化,并对处理 6 h 的叶片进行转录组测序,对差异表达基因(DEGs)、代谢途径等进行分析,为探究酸枣盐胁迫响应的分子机制及进一步挖掘和利用耐盐基因资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

酸枣种子来自河北农业大学,氯化钠(货号:cat. NO. CS7603-AR)采购于河北省保定市动轩生物科技有限公司。

1.2 试验设计

试验于 2024 年 4—5 月进行,酸枣苗进行盆栽(9 cm 加仑盆),每盆 3 株,培养环境温度为 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 60%。待长至 8 片真叶时,选择生长一致的酸枣苗,参照文献^[14]用 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液处理 6 h、12 h、24 h、36 h;超纯水为对照,同样处理 6 h、12 h、24 h、36 h,各浇灌 50 mL。3 盆为 1 个重复,每个处理 3 次重复。

1.3 生理指标检测

相对电导率参考文献^[15]的方法,采集不同处理时间的叶片,计算相对电导率。MDA 含量采用索莱宝生物有限公司 MDA 检测试剂盒(货号:BC0025)进行测定。SOD 和 POD 活性采用索莱宝生物有限公司 SOD、POD 酶活性检测试剂盒(货号分别为 BC0175、BC0095)进行测定。

1.4 RNA 提取及转录组测序

参照文献^[16]的方法,选择盐胁迫和超水处理 6 h 的叶片进行转录组测序。使用 Total RNA Extractor (Trizol,上海生工)试剂盒提取总 RNA,并检测 RNA 浓度和完整性,放置于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。cDNA 文库构建、质控和测序由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。Illumina HiSeqTM得到的原始数据经 CASAVA 碱基识别(Base Calling)分析转化为原始测序序列。使用 Trimmomatic 删除带 N 碱基的序列、接头序列、污染序列等,得到高质量的 Clean reads。使用 HISAT2 将 Clean reads 映射到枣参考基因组(GCF_031755915.1)进行比对,并通过 RSeQC 统计比对结果,评估测序数据质量。为了得到显著差异的基因,使用 TMM 软件对 Read count 数据进行标准化处理,采用 DESeq 软件进行分析。对差异表达基因进行功能注释,得到各组差异基因在 GO([http://www. Geneontology. org](http://www.Geneontology.org))、KEGG([http://www. kegg. jp](http://www.kegg.jp))数据库的注释,以 Q 值(Q value) <0.05 作为显著性筛选标准。以 $Q < 0.05$ 且差异倍数|Fold Change| >2 为筛选条件,筛选转录因子家族成员差异表达基因。

1.5 数据分析

采用 Excel 2010 软件对数据进行处理,利用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫处理对酸枣幼苗叶片生理指标的影响

由图 1(a)可以看出,随着 NaCl 处理时间的延长,酸枣幼苗叶片相对电导率呈现上升的趋势,在处理 6 h 时与对照差异开始显著,处理 36 h 时相对电导率是对照的 1.52 倍。MDA 含量可以直接反应细胞膜受到损坏的程度。由图 1(b)可以看出,在处理 6 h 时与对照差异开始显著,处理 36 h 时 MDA 含量是对照的 2.19 倍,说明盐胁迫可以改变酸枣幼苗叶片的细胞膜透性,从而导致细胞膜的损坏。

抗氧化酶系统在缓解逆境胁迫中起着重要作用。由图 1(c)可以看出,随着盐胁迫时间的延长,POD

活性呈现上升趋势,在处理 6 h 时与对照的变化差异开始显著,盐胁迫 36 h 时 POD 活性是对照的 3.67 倍。由图 1(d)可以看出,随着盐胁迫时间的延长,SOD 活性呈现先上升后下降的趋势,在处理 24 h 时达到最高值,为 93.59 U/g,是对照的 4.04 倍;处理 36 h 时 SOD 活性是对照的 2.44 倍。由此看出,酸枣幼苗可以通过抗氧化酶的活性来响应盐胁迫,特别是处理 6 h,表明酸枣幼苗开始响应盐碱胁迫,为进一步转录组测序提供了时间选择的依据。

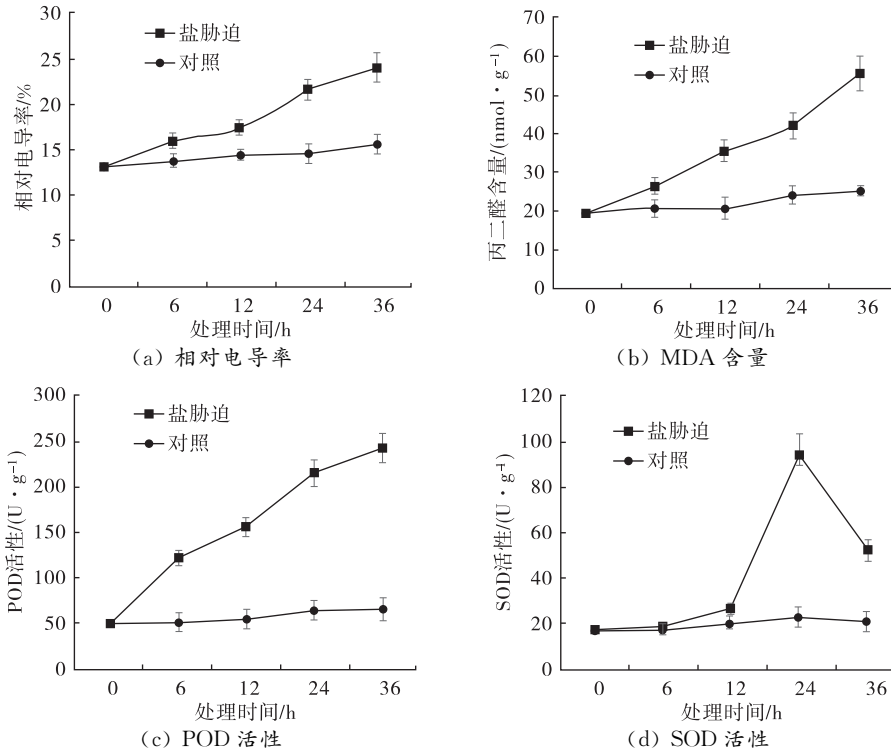


图 1 NaCl 处理对酸枣幼苗叶片生理指标的影响

2.2 盐胁迫下酸枣幼苗叶片转录组分析

2.2.1 转录组测序数据及其质量控制 对盐胁迫 6 h 和对照的酸枣叶片提取 RNA 建库后进行转录组测序,通过 Reads 质量控制、去除污染等环节获得最终数据(表 1)。由表 1 可以看出,Reads 平均长度 150 bp,Q10 均超过 99%,Q20 均超过 98%,Q30 均超过 95%,有效碱基识别正确率超过 95%,GC 碱基百分比在 44%~46%。以上数据表明测序结果质量可靠,准确性高,污染低。

表 1 转录组测序数据统计

项目	T0-1	T0-2	T0-3	T6-1	T6-2	T6-3
Reads 总数	44 165 516	40 726 006	50 931 464	45 642 688	49 645 024	47 643 856
所有碱基数目	6 624 827 400	6 108 900 900	7 639 719 600	6 846 403 200	7 446 753 600	7 146 578 400
Reads 平均长度/bp	150	150	150	150	150	150
Q10/%	99.60	99.63	99.65	99.63	99.65	99.64
Q20/%	98.62	98.75	98.79	98.73	98.80	98.76
Q30/%	95.89	96.32	96.40	96.26	96.38	96.32
N 碱基比例/%	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
GC 碱基比例/%	44.40	44.93	44.47	45.30	45.05	45.17

使用 HISAT2,RSQC 对过滤和质控后的 Reads 与参考基因组(GCF_031755915.1)进行比对和统计

(表 2), 转录组测序与参考基因组总比对率为 94%~97%, 由此进一步说明转录组测序的准确性较高。

表 2 测序结果与参考基因组比对结果

项目	T0-1	T0-2	T0-3	T6-1	T6-2	T6-3
总比对数/个	41 082 609	38 692 230	48 406 278	42 812 770	46 328 026	44 570 398
总比对率/%	94.94	96.71	96.25	95.95	96.14	96.04
多比对数/个	1 553 177	1 551 091	1 370 905	1 840 691	2 028 194	1 934 442
多比对率/%	3.59	3.88	2.73	4.13	4.21	4.17
特异比对数/个	39 529 432	37 141 139	47 035 373	40 972 079	44 299 832	40 972 079
特异比对率/%	91.35	92.83	93.53	91.83	91.93	91.88
Read-1 比对数/个	19 796 981	18 601 874	23 555 770	20 512 882	22 186 048	21 349 465
Read-1 比对率/%	45.75	46.49	46.84	45.97	46.04	46.05
Read-2 比对数/个	19 732 451	18 539 265	23 479 603	20 459 197	22 113 784	21 286 490
Read-2 比对率/%	45.60	46.34	46.69	45.85	45.89	45.87

2.2.2 盐胁迫下差异表达基因分析 以 $Q < 0.05$ 且差异倍数 $|\text{Fold Change}| > 2$ 为筛选标准, 使用 DESeq 在标准化数据中筛选获得差异表达基因(图 2)。NaCl 处理 6 h 时, 酸枣幼苗叶片差异表达基因有 2 974 个, 其中上调表达 1 042 个, 下调表达 1 932 个; 差异表达的转录本有 8 953 个, 其中上调表达 3 366 个, 下调表达 5 587 个。结果说明, 盐胁迫影响酸枣幼苗的转录水平, 进而调控酸枣适应盐胁迫环境。

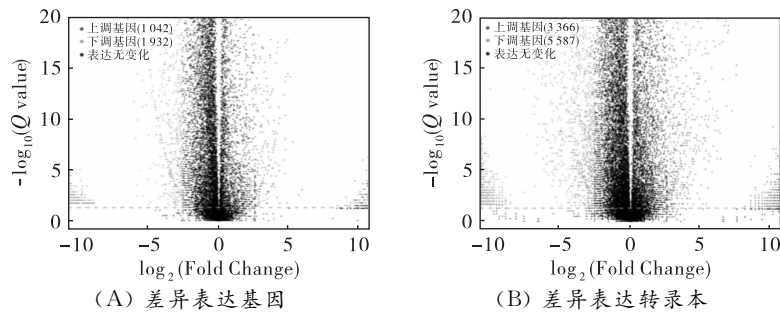


图 2 比较组表达差异火山图

2.2.3 差异表达基因的 GO 富集分析 将差异表达基因在 GO 数据库注释后, 以 $Q < 0.05$ 作为显著性标准, 获得富集程度最高的前 30 个 GO(图 3)。由图 3 可以看出, 差异表达基因富集数量最多的为膜(GO:0016020), 差异表达基因有 448 个; 其次是质膜(GO:0005886)、细胞外周(GO:0071944)、细胞通讯(GO:0007154)、信号转导(GO:0007165)、信号(GO:0023052)、多生物体过程(GO:0051704)、对外部刺激的反应(GO:0071496)、防御反应(GO:0006952)、免疫反应(GO:0006955)等。由此可见, 盐胁迫对酸枣幼苗的细胞膜结构和信号传递造成一定的影响, 并且引发了酸枣幼苗的防御和免疫反应。

响应盐胁迫(GO:0009651)注释到 1 006 个差异表达基因, 其中 38 个基因差异表达显著(表 3)。由表 3 可以看出, 盐胁迫后酸枣幼苗叶片中 UDP 糖基转移酶、半乳糖醇合酶、MYB102、低温诱导蛋白、F-box 蛋白、RING-H2 锌指蛋白、谷胱甘肽 S-转移酶、硫化物双加氧酶、脂

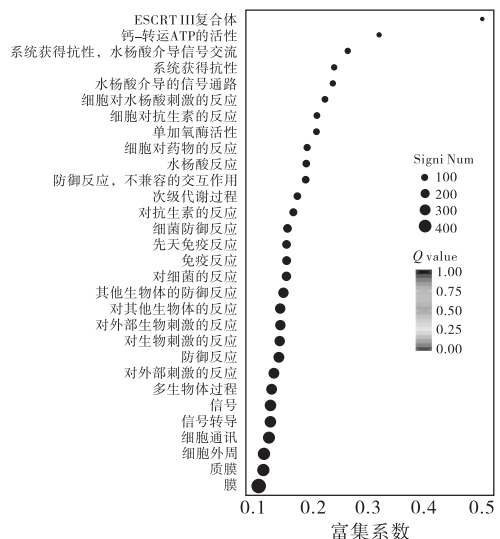


图 3 显著富集功能 GO 散点图

肪酰基辅酶 A 还原酶等显著上调;锌指应激相关蛋白、ATP 酶、过氧化物酶、钙调神经磷酸酶 B 蛋白、甘露糖-1-磷酸肌基转移酶等呈现显著下调。

表 3 响应盐胁迫相关的 DEGs 信息

基因 ID	基因功能注释	结果	基因 ID	基因功能注释	结果
LOC107407046	UDP 糖基转移酶	上调	LOC107426013	EID1 样 F-box 蛋白 3	上调
LOC107406909	UDP 糖基转移酶		LOC107426317	RING-H2 锌指蛋白 ATL64	
LOC107411640	半乳糖醇合酶 2		LOC107426833	锌指蛋白 ZAT10	
LOC107411641	半乳糖醇合酶 2		LOC107428790	谷胱甘肽 S-转移酶 U17	
LOC107413674	可能的 RNA 结合蛋白 ARP1		LOC125421101	酒精形成脂肪酰基辅酶 A 还原酶	
LOC107414479	低温诱导蛋白		LOC125421787	转录因子 MYB1	
LOC107418254	BTB/POZ 和 TAZ 蛋白 1		LOC107432744	硫化物双加氧酶	
LOC107419469	膜联蛋白 D5		LOC107421995	转录因子 MYB102	
LOC107405257	锌指应激相关蛋白 8	下调	LOC107423826	蛋白质晚期伸长下胚轴	下调
LOC132805381	ABC 转运蛋白 G 家族成员 1		LOC107423936	MLO 样蛋白 13	
LOC107410802	磷酸肌醇磷脂酶 C2		LOC107424651	AAA ATP 酶 At3g50940	
LOC107416584	转录因子 JUNGBRUNNEN 1		LOC107425286	ABC 转运蛋白 G 家族成员 1	
LOC107420260	含 CBS 结构域的蛋白质		LOC107429803	钙调神经磷酸酶 B 蛋白 7	
LOC107420859	海藻糖磷酸磷酸酶 D		LOC107430063	SNW/SKI 相互作用蛋白 A	
LOC107421205	磷脂酶 D α 1		LOC107430789	甘露糖-1-磷酸鸟苷转移酶 1	
LOC107421206	磷脂酶 D α 1		LOC107431499	过氧化物酶 56	
LOC107421285	PHD 手指蛋白 Alfin1		LOC107433522	未表征	
LOC107423115	多磷酸盐 5-磷酸酶 7		LOC112491271	过氧化物酶 A2	
LOC107423244	谷氨酰胺合成酶		LOC132799312	ABC 转运蛋白 G 家族成员 1	

2.2.4 差异表达基因的 KEGG 富集分析 将差异表达基因在 KEGG 数据库注释后,以 $Q < 0.05$ 作为显著性标准,获得富集程度最高的前 30 个 KEGG(图 4)。由图 4 可以看出,差异表达基因富集数量最多的为植物激素信号转导通路(ko04075),富集差异表达基因 29 个;其次是 NOD-like 受体信号通路(ko04621)、植物-病原体相互作用(ko04626)、淀粉和蔗糖代谢(ko00500)、神经营养因子信号通路(ko04722)、吞噬作用(ko04144)、NF-kappa B 信号通路(ko04064)、药物代谢-其他酶(ko00983)、Toll-Imd 信号通路(ko04624)等,推测这些代谢通路可能在酸枣的盐胁迫适应过程中起到了关键作用。

响应光合作途径(ko00195)注释到 435 个差异表达基因,其中 5 个基因差异表达显著,如表 4 所示。由表 4 可以看出,盐胁迫后酸枣幼苗叶片中铁氧化还原蛋白、光系统 II 反应中心 PSB28 蛋白、光合 NDH 亚基 2 和细胞色素 b6-f 复合铁硫亚基相关基因显著下调,ATP 合酶

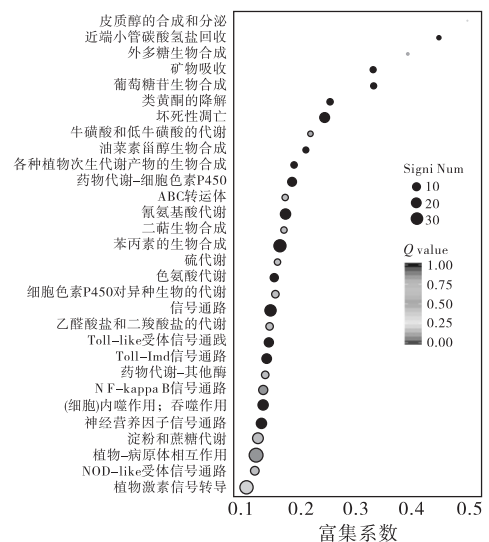


图 4 显著富集 KEGG 通路散点图

基因显著上调。

表 4 响应光合作用相关的 DEGs 信息

基因 ID	基因功能注释	结果	基因 ID	基因功能注释	结果
LOC107415178	铁氧化还原蛋白	下调	LOC107417115	细胞色素 b6-f 复合铁硫亚基	下调
LOC107434253	光系统 II 反应中心 PSB28 蛋白	下调	LOC132799983	ATP 合酶	上调
LOC107428949	光合 NDH 亚基 2	下调			

2.2.5 差异表达转录因子分析 对获得的差异表达基因中存在的转录因子进行筛选(表 5)。

表 5 响应盐胁迫的差异表达转录因子分析

	基因 ID	log2(Fold Change)	结果	基因描述		基因 ID	log2(Fold Change)	结果	基因描述
bZIP	LOC107406434	-3.31	下调	bZIP 转录因子 11		LOC107425754	-2.72	下调	转录因子 MYB13
	LOC107420484	-4.28	下调	bZIP 转录因子 44		LOC107421995	2.64	上调	转录因子 MYB102
WRKY	LOC107406290	-3.88	下调	WRKY 转录因子 70	MYB	LOC107412315	-3.44	下调	转录因子 MYB13
	LOC107424152	-4.67	下调	WRKY 转录因子 53		LOC107415776	-6.32	下调	转录抑制因子 MYB6
	LOC107430975	-3.42	下调	WRKY 转录因子 70		LOC112492469	-2.87	下调	转录因子 MYB1
	LOC107419756	-5.68	下调	WRKY 转录因子 40		LOC107414701	-2.65	下调	MYB 样转录因子 ODO1
	LOC107420087	-4.24	下调	WRKY 转录因子 50		LOC107420865	-4.70	下调	转录因子 MYB44
	LOC107409156	-3.71	下调	WRKY 转录因子 55		LOC125421787	3.16	上调	转录因子 MYB1
	LOC107427164	-12.50	下调	WRKY 转录因子 9		LOC107412752	3.02	上调	MYB 相关蛋白 308
	LOC107430928	-13.27	下调	WRKY 转录因子 70		LOC107414613	-13.60	下调	MYB 样转录因子 ETC3
	LOC107430984	-12.19	下调	WRKY 转录因子 70		LOC132804331	13.35	上调	MYB 家族转录因子 PHL7
	LOC107432893	-12.41	下调	WRKY 转录因子 24		LOC107418345	12.03	上调	转录因子 MYB98
bHLH	LOC107415536	-11.31	下调	WRKY 转录因子 72	NAC	LOC107403286	-12.30	下调	转录因子 MYB1
	LOC107430926	-11.77	下调	WRKY 转录因子 70		LOC107434709	-12.92	下调	转录因子 MYB1
	LOC107430931	11.52	上调	WRKY 转录因子 70		LOC107406469	-12.34	下调	转录因子 MYB1
	LOC107406159	-2.67	下调	bHLH162 亚型 X1		LOC107416961	-12.35	下调	转录因子 MYB15
	LOC107429189	6.49	上调	转录因子 bHLH91		LOC107423566	2.68	上调	转录因子 MYB17
	LOC107423782	-4.20	下调	bHLH67 亚型 X2		LOC107430208	-10.42	下调	转录因子 MYB4
	LOC107426586	-4.32	下调	转录因子 bHLH62		LOC107416328	-4.80	下调	NAC 结构域蛋白 90
	LOC107425035	-13.69	下调	转录因子 bHLH25		LOC107423780	-13.75	下调	NAC 结构域蛋白 43
	LOC132803372	-13.23	下调	转录因子 bHLH87		LOC107412448	12.35	上调	NAC 结构域蛋白 2
	LOC107425110	-12.48	下调	转录因子 bHLH93		LOC107416405	12.59	上调	含 NAC 结构域蛋白 71
LOC107419948	2.69	上调	转录因子 bHLH95	LOC107425614	12.04	上调	NAC 结构域蛋白 104		
LOC107428684	-10.47	下调	转录因子 bHLH90	LOC107411332	11.36	上调	含 NAC 结构域蛋白 2 亚型 X3		

由表 5 可以看出,盐胁迫下差异表达的转录因子主要涉及 MYB、NAC、bZIP、bHLH 和 WRKY 转录因子家族:2 个 bZIP 家族成员,均呈显著下调;13 个 WRKY 家族成员,除 LOC107430931 显著上调外,其他 12 个成员显著下调;18 个 MYB 家族成员中 6 个基因显著上调,其他 12 个成员显著下调;6 个 NAC 家族成员中 LOC107416328 和 LOC107423780 显著下调,其他 4 个成员显著上调;9 个 bHLH 家族成员中 LOC107429189 和 LOC107419948 成员显著上调,其他 7 个显著下调。上述 48 个转录因子可能在酸枣幼苗的耐盐机制中发挥重要作用。

3 讨论

抗氧化酶系统在植物适应逆境胁迫方面发挥着重要作用^[17],抗氧化酶活性的高低与植物对逆境的耐受性密切相关^[18]。大量研究表明,抗氧化酶系统在提高耐盐胁迫能力过程中起到重要作用。例如,200 mmol/L NaCl 会导致菊花叶片 MDA 含量、相对电导率均呈逐渐上升趋势,SOD 和 POD 活性均呈现先升后降的趋势^[19]。桔梗在盐胁迫时叶片和根部 MDA 含量与胁迫时间和浓度呈显著正相关^[20]。牛至幼苗在盐胁迫时 MDA 含量升高,SOD 和 POD 活性先升高后降低^[21]。刺榆的无性系通过模拟盐胁迫后相对电导率、MDA 含量呈现不同程度升高^[22]。本研究结果中,盐胁迫不同时间下,酸枣叶片相对电导率和 MDA 呈一直上升的趋势,而 POD 活性呈升高趋势,SOD 活性呈现先升高后降低的趋势,均高于对照,与文献^[23-25]在酸枣上的研究一致。本研究结果表明,酸枣幼苗在遭受盐胁迫后,细胞膜透性和结构遭到损坏,推测通过抗氧化酶活性的提高来清除活性氧等来响应盐胁迫,稳定自身的正常生长发育。

目前,关于酸枣幼苗在盐胁迫下的转录水平研究鲜有报道。本研究构建了盐胁迫下酸枣幼苗的 cDNA 文库,利用高通量测序技术进行 RNA-seq 分析,实现了 95% 以上的总比对,识别正确率超过 95%,Q30 均超过 95%,获得的测序数据准确且质量较高。酸枣幼苗在盐胁迫 6 h 时差异表达基因有 2 974 个,差异基因表达 GO 富集数量最多的为膜、质膜、细胞外周、细胞通讯、信号转导、信号等,KEGG 富集植物激素信号转导通路、NOD-like 受体信号通路、MAPK 信号通路等。另外,响应盐胁迫注释到 38 个差异表达基因涉及 UDP 糖基转移酶、半乳糖醇合酶、MYB102、低温诱导蛋白、锌指应激相关蛋白、钙调神经磷酸酶 B 蛋白等蛋白。研究表明,小麦响应盐胁迫的差异表达基因注释富集也涉及质膜、植物激素信号转导通路^[26],蓖麻耐盐基因 KEGG 注释富集涉及淀粉和蔗糖代谢和植物激素信号转导通路^[27],多枝怪柳响应盐胁迫涉及 MAPK 信号通路^[28]。关于差异表达基因功能也有相似的报告,白颖苔草中 UDP-糖基转移酶 UGT72B3 基因提高了拟南芥的盐敏感性^[29],过表达锌指蛋白 *PdbZFP26* 提高山新杨耐盐能力^[30],大蒜谷胱甘肽硫转移酶基因 *AsGST* 在盐胁迫后显著升高^[31]。另外,涉及不同数量的 MYB、NAC、bZIP、bHLH 和 WRKY 转录因子家族,在大量植物中也有涉及响应盐胁迫的报道^[32-35]。由此说明,酸枣幼苗主要通过膜途径和信号转导途径等途径响应盐胁迫,通过不同转录因子参与不同的途径中调节耐盐胁迫的能力,但机制有待进一步研究。本研究结果可为探究盐胁迫对酸枣分子机制提供参考。

4 结论

为探究酸枣盐胁迫响应分子机制,挖掘耐盐基因,利用 200 mmol L⁻¹ NaCl 溶液处理盆栽酸枣幼苗,然后检测叶片相对电导率、丙二醛含量、SOD 和 POD 活性等生理指标的变化,并对处理 0 h 和 6 h 的试材进行转录组测序。酸枣幼苗在遭受盐胁迫后,叶片相对电导率和 MDA 呈一直上升的趋势,而 POD 活性呈升高趋势,SOD 活性呈现先升高后减低的趋势,细胞膜透性和结构遭到损坏,推测通过抗氧化酶活性的提高来清除 ROS 等来响应盐胁迫,稳定自身的正常生长发育。酸枣幼苗在盐胁迫 6 h 有 2974 个差异表达基因,差异表达基因 GO 富集主要集中在膜、细胞质膜、信号转导等;KEGG 富集主要集中在植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢等通路;bZIP、WRKY、MYB、NAC、bHLH 等转录因子家族可能在酸枣幼苗耐盐胁迫机制中发挥重要作用。

参考文献:

- [1] 刘兆辉,孙泽强,刘盛林,等. 黄河流域盐碱地资源与保护利用[J]. 山东农业科学,2024,56(5):1-18.
- [2] 杨久涛,孙红滨,王桂峰,等. 山东盐碱地农业综合开发利用现状与展望[J]. 耕地保护,2023(6):7-12.
- [3] 张红军,王强,许艳,等. 黄河三角洲盐渍化土壤改良脱盐规律及效果评价[J]. 环境工程,2023,41

(S2):683-686.

- [4] 焦金柱. 山东德州市优质冬枣高产栽培技术[J]. 农业工程技术, 2020, 40(14):74-75.
- [5] 唐诗雯, 李学杰. 酸枣仁汤药理与临床应用研究进展[J]. 中国民间疗法, 2024, 32(9):110-113.
- [6] 束靖, 王信宏, 马晓君. 酸枣产业生产现状及发展趋势[J]. 落叶果树, 2023, 55(6):8-12.
- [7] TRAPNELL C, WILLIAMS B A, PERTEA G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature biotechnology, 2010, 28:511-515.
- [8] 吕博文, 李军乔, 闫格, 等. 蕨麻响应盐碱胁迫的形态及转录组分析[J]. 种子, 2024, 43(1):14-28.
- [9] JI H, QI Y, ZHANG X, et al. Transcriptomics and metabolomics analysis revealed the ability of microbacterium ginsengiterrae S4 to enhance the saline-alkali tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. Agronomy, 2024, 14(4):649.
- [10] REN H, ZHANG B, ZHANG F, et al. Integration of physiological and transcriptomic approaches in investigating salt-alkali stress resilience in soybean[J]. Plant stress, 2024, 11:100375.
- [11] ZHANG X, ZHANG G, YAN Q, et al. Quality variation and salt-alkali-tolerance mechanism of *Cynomorium songaricum*; interacting from microbiome-transcriptome-metabolome[J]. Science of the total environment, 2024, 919:170801.
- [12] DING Z, LIU Z, BAO J, et al. Transcriptomic study of *Suaeda salsa* in response to salt and drought stress[J]. Functional plant biology, 2023, 50:765-776.
- [13] WANG J, HU K, WANG J, et al. Integrated transcriptomic and metabolomic analyses uncover the differential mechanism in saline-alkaline tolerance between *Indica* and *Japonica* rice at the seedling stage[J]. International journal of molecular sciences, 2023, 24(15):12387.
- [14] 不合力杰木·吾不力卡斯木, 再通古丽·朱玛, 吾买尔江·亚森, 等. 盐胁迫对酸枣种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2012, 35(4):312-316.
- [15] 王洋, 魏丹, 张梅兰, 等. 低温胁迫下羊蹄甲和洋紫荆家系叶片相对电导率的变化[J]. 林业与环境科学, 2021, 37(1):105-109.
- [16] 王振东, 鲁晓燕, 涂文文, 等. 外源 CaCl_2 缓解 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶和根转录组测序分析[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(6):1052-1062.
- [17] 王旭达, 张高华, 王鹤, 等. 锌指蛋白基因 ZAT12 提高转基因高油酸花生抗寒性[J]. 分子植物育种, 2020, 18(16):5351-5360.
- [18] GUPTA A S, HEINEN J L, HOLADAY A S, et al. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993, 90(4):1629-1633.
- [19] 闵筱筱, 杜雨露, 滕云, 等. 盐胁迫对菊花‘紫燕翻飞’生长及生理特性的影响[J]. 山东农业科学, 2024, 56(6):47-54.
- [20] 张美茜, 于娟, 曹阳, 等. 盐胁迫对桔梗生理生化指标及总皂苷积累的影响[J]. 生物学杂志, 2024, 41(4):71-77.
- [21] 于婵, 张依琳, 李秋莹, 等. 盐碱胁迫对牛至种子萌发和幼苗生理生化特性的影响[J]. 草地学报, 2024, 32(6):1882-1892.
- [22] 刘立江, 鲁仪增, 王艳, 等. 盐胁迫下 7 个刺榆无性系的叶片生理变化与耐盐性评价[J]. 干旱区资源与环境, 2024, 38(7):172-181.
- [23] 麻云霞, 李钢铁, 张宏武, 等. 酸枣的生长及生理特性对盐胁迫的响应[J]. 水土保持通报, 2018, 38

- (3):45-52.
- [24] 王志强,吴翠云,杨哲,等. 盐碱胁迫对酸枣幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 干旱地区农业研究,2018,36(2):153-160.
- [25] 吕新民,杨怡帆,鲁晓燕,等. NaCl胁迫对酸枣幼苗 AsA-GSH 循环的影响[J]. 植物生理学报,2016,52(5):736-744.
- [26] 李双,王爱英,焦滇,等. 盐胁迫下不同抗性小麦幼苗生理生化特性及转录组分析[J]. 中国农业科技导报,2024,26(2):20-32.
- [27] 李艳肖,张春兰,徐兴源,等. 基于转录组学的蓖麻耐盐基因的挖掘[J]. 植物遗传资源学报,2023,24(6):1778-1794.
- [28] 陈亚辉,张师,杨庆山,等. 多枝桤柳叶片响应 NaCl 胁迫的转录组分析[J]. 江苏农业学报,2022,38(5):1188-1202.
- [29] 李岩,米鑫丰,闫丽,等. 白颖苔草 UDP-糖基转移酶 UGT72B3 基因的克隆与耐盐性分析[J]. 中国草地学报,2023,45(8):10-22.
- [30] 马姗姗,杨静静,曲德辉,等. 过表达 C2H2 型锌指蛋白基因 *PdbZFP26* 提高山新杨耐盐性[J]. 林业科学,2023,59(1):110-118.
- [31] 梁志乐,尚珂含,王立辉,等. 大蒜谷胱甘肽硫转移酶基因 *AsGST* 的克隆及其对盐胁迫的响应[J]. 核农学报,2019,33(6):1088-1095.
- [32] 解振强,许桓瑜,黄金霞,等. 葡萄 MYB 转录因子基因 *VvMYB30* 的克隆及其耐盐性分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2024(1):20-27.
- [33] 马彦军,谢军,马瑞,等. NaCl 胁迫下黑果枸杞 bHLH 转录因子家族鉴定与生物信息学分析[J]. 中草药,2020,51(20):5311-5319.
- [34] 李心,武敬也,陈菲儿,等. MsWRKY33 转录调控 MsACS2 影响紫花苜蓿耐盐性的研究 [J]. 草地学报,2024,32(1):54-65.
- [35] 宋洁琼,初若雯,赵晶莹,等. NAC 转录因子在植物响应盐胁迫中的作用[J]. 生物学通报,2023,58(8):1-7.

Physiological and Transcriptional Analysis of Jujube Seedlings Under Salt Stress

LIU Kai^{1,2}, ZHANG Zhiqiang³, ZHANG Huifang⁴, LU Wenqing⁵, NIU Liyuan¹,
GAI Zhijun⁵, ZHANG Jinggang⁶

- (1. School of Biological Engineering, Binzhou Polytechnic, Binzhou 256603, China;
2. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;
3. Binzhou Bincheng District Comprehensive Administrative Law Enforcement Bureau,
Binzhou 256600, China;
4. Shidong Street Office, Bincheng District, Binzhou 256600, China;
5. Binzhou Forestry Protection and Development Service Center, Binzhou 256600, China;
6. Wudi County Tanyang Forestry Farm, Binzhou 251999, China)

Abstract: Jujube has high economic value and nutritional value, and is an important tree species for the development of saline and alkaline land in the Yellow River Delta region. Potted jujube seedlings were treated with 200 mmol · L⁻¹ NaCl solution for 6 h, 12 h, 24 h and 36 h, and clean water was used as

the control, to detect the changes of physiological indexes, such as relative conductivity, malondialdehyde content, SOD and POD activities of leaves, etc. Transcriptome sequencing and analysis were also performed on the control and the 6 h-treated test material, to preliminarily investigate the effects of salt stress on the transcript levels of jujube seedlings. The results showed that; under salt stress, the relative conductivity and malondialdehyde content of jujube seedlings showed an increasing trend, POD activity showed an increasing trend, and SOD showed a first increasing and then decreasing trend; transcriptome sequencing screening obtained 2974 DEGs, GO enrichment focused on the membrane, cytoplasmic membrane, signaling, etc., and KEGG enrichment focused on the phytohormone signaling, starch and sucrose metabolism and other pathways; There are 2 members of transcription factor bZIP family, 13 members of WRKY family, 18 members of MYB family, 6 members of NAC family and 9 members of bHLH family in DEGs. The results of the study may provide a reference for exploring the molecular mechanism of jujube in response to salt stress.

Keywords: jujube seedling; salt stress; Yellow River Delta; physiology and biochemistry; transcriptome

(责任编辑:王新亮)

引用格式 刘凯,张智强,张会芳,等.盐胁迫下酸枣幼苗生理响应和转录组分析[J].山东航空学院学报,2024,41(3):111-120. LIU K,ZHANG Z Q,ZHANG H F,et al. Physiological and transcriptional analysis of jujube seedlings under salt stress[J]. Journal of Shandong University of Aeronautics,2024,41(3):111-120.

(上接第 97 页)

Eigenvalue Solution of Different Diagonal Matrices

TIAN Jinling

(Department of Mathematics, Datong Normal College, Datong 037000, China)

Abstract: By utilizing the properties of block matrices and combining with block upper triangular matrices, a formula for solving the eigenvalues of sub diagonal matrices was given; a formula for solving the eigenvalues of a tridiagonal matrix was given using iterative recursion; the relationship between the eigenvalues of a $2n+1$ order tridiagonal matrix and an n order tridiagonal matrix was proved, and some eigenvalues of a higher-order matrix were obtained by reducing the order of the determinant.

Keywords: sub-diagonal matrix; three diagonal short matrix; block matrix; characteristic polynomials; eigenvalues

(责任编辑:贾晶晶)

引用格式 田金玲.不同对角矩阵的特征值求解[J].山东航空学院学报,2024,41(3):91-97. TIAN J L. Eigenvalue solution of different diagonal matrices[J]. Journal of Shandong University of Aeronautics,2024,41(3):91-97.