

网络出版时间:2026-04-10

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260409.1319.014

盐胁迫下青稞幼苗生理响应和转录组分析

莫洪婷, 黄新荣

(青海大学/青海省农林科学院/国家农作物种质资源复份库, 青海西宁 810016)

摘要: 为探究青稞幼苗对盐胁迫的生理与分子响应机制, 以高耐盐青稞种质 ZYM1795、ZYM3130 和不耐盐青稞种质 ZYM2239 为材料, 采用 50、150、250 mmol · L⁻¹ NaCl 溶液以及蒸馏水(对照)进行处理, 测定青稞幼苗叶片中丙二醛(MDA)、可溶性总糖(SS)含量以及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性等生理指标, 并对对照和 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理的叶片进行转录组测序。结果表明, 随盐浓度的升高, 耐盐材料的 MDA 含量呈先增后减趋势, SOD、POD、CAT 活性总体呈先升后降趋势, SS 含量显著积累, 说明青稞通过激活抗氧化防御系统和渗透调节物质以应对盐胁迫。通过转录组分析, 共鉴定出 3 343 个可能与耐盐性相关的差异表达基因。经加权基因共表达网络分析, 筛选出与所有生理指标显著相关的黄色模块, 进一步获得 1 801 个潜在耐盐相关基因。经 GO 富集分析, 这些基因主要富集于抗逆响应、抗氧化防御、激素信号转导, 如脱落酸响应、酶活性调控等相关通路。其中, 筛选出 20 个关键基因, 包括过氧化物酶基因、海藻糖磷酸化酶基因、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因及 ABC 转运蛋白基因, 这些基因在活性氧清除、渗透调节、信号转导中起重要作用, 推测青稞幼苗通过协同调控生理响应与关键基因表达以增强耐盐性。

关键词: 青稞幼苗; 盐胁迫; 生理指标; 转录组; 加权基因共表达网络分析

中图分类号: S512.3; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)08-1082-11

Physiological Response and Transcriptome Analysis of Highland Barley Seedlings under Salt Stress

Mo Hongting, Huang Xinrong

(Qinghai University/Qinghai Academy of Agricultural and Forestry Sciences/ National Duplicate Genebank for Crops, Xining, Qinghai 810016, China)

Abstract: In order to explore the physiological and molecular response mechanism of highland barley seedlings to salt stress, ZYM1795, ZYM3130 and ZYM2239 highland barley seedlings were used as materials. The seedlings were treated with 50, 150, and 250 mmol · L⁻¹ NaCl solution and distilled water (control). The contents of malondialdehyde(MDA), total soluble sugar(SS) and the activities of catalase(CAT), superoxide dismutase(SOD), and peroxidase(POD) in the leaves of highland barley were determined. Transcriptome sequencing was performed on the leaves of the control and 250 mmol · L⁻¹ NaCl treatment. The results showed that with the increase of salt concentration, the MDA content of salt-tolerant materials increased first and then decreased; the activities of SOD, POD and CAT increased first and then decreased; and the SS content accumulated significantly, indicating that highland barley responded to salt stress by activating antioxidant defense system and osmotic adjustment substances. Through transcriptome analysis, a total of 3 343 differentially expressed genes that may be related to salt tolerance were identified. Through weighted gene co-expression network analysis, yellow modules significantly related to all physiological indicators were screened, and 1 801

收稿日期: 2025-11-30 修回日期: 2026-01-21

基金项目: 国家复份库运行服务科技部平台项目(NCGRC-2024-20); 青海大学青年科研基金项目(2023-QNY-8); 青海大学大学生科研训练计划项目(SRT202570)

第一作者 E-mail: 2629474186@qq.com(莫洪婷)

通讯作者 E-mail: HuangXR@qhu.edu.cn(黄新荣)

potential salt tolerance-related genes were further obtained. GO enrichment analysis showed that these genes were mainly enriched in stress response, antioxidant defense, hormone signal transduction, such as abscisic acid response, enzyme activity regulation and other related pathways. Among them, 20 key genes were screened, including peroxidase gene, trehalose phosphorylase gene, serine/threonine protein kinase gene, and ABC transporter gene. These genes play an important role in active oxygen scavenging, osmotic regulation, and signal transduction. It is speculated that highland barley seedlings enhance salt tolerance by synergistically regulating physiological response and key gene expression.

Keywords: Highland barley seedlings; Salt stress; Physiologic index; Transcriptome; Weighted gene co-expression network analysis

土壤盐渍化是全球农业生产面临的主要非生物胁迫之一^[1]。高盐环境会引发作物的渗透胁迫、离子毒性和氧化应激,破坏其正常生理代谢,最终严重制约生长发育并导致减产甚至死亡。近年来,随全球气候变化与盐渍化问题的加剧,解析作物的耐盐分子机制已成为研究热点^[2],此方面的研究成果对于培育耐盐新材料、保障全球粮食安全具有重要意义。青稞(*Hordeum vulgare* L. var. *nudum* Hook. f.)是禾本科大麦属一年生草本作物,主要分布于中国青藏高原地区,为栽培大麦的裸粒变种,具有耐寒、耐旱、耐盐碱、耐贫瘠、适应性强等特点^[3],是盐碱化及边际土地农业利用的先锋作物。此外,青稞作为药食同源谷物,具有营养和保健双重功能,市场开发潜力较大^[4-5]。因此,探讨盐胁迫对青稞幼苗生理特性与分子调控机制的影响,对于青稞耐盐栽培、新品种选育、盐碱地资源开发利用以及推动青稞产业稳步提升具有重要价值。

目前,在盐胁迫下小麦、玉米等多种作物的生理响应研究已有报道^[6],转录组测序技术也被用于各类作物对盐胁迫反应的研究中。通过将生理指标测定与转录组测序技术分析相结合,能够揭示盐胁迫下作物的表型变化及响应盐胁迫的相关基因,有助于解析作物响应盐胁迫的分子机制和适应胁迫的关键调控网络。例如,龙威等^[7]通过对油莎豆幼苗进行生理指标测定,发现盐胁迫下油莎豆幼苗响应盐胁迫的关键时期,且结合转录组测序结果进行 KEGG 富集分析等挖掘出了其响应盐胁迫的关键信息通路;李双等^[8]基于叶绿素积累、光合作用、转录组测序等方面综合分析了不同抗盐性小麦品种对盐胁迫的响应差异,认为小麦可以通过调控与叶绿素、质膜等相关基因的

表达来抵抗盐胁迫;黄思雨等^[9]研究表明,盐胁迫下水稻突变体*orr2*株系幼苗的抗氧化酶活性和 ROS 清除能力较野生型显著提高,丙二醛(MDA)含量显著降低,细胞损害程度下降,耐盐性的提高与其携带的 4 个抗氧化相关基因(*Os-Fe-SOD*、*OsAPXa*、*OsGPX4* 和 *OsPEX11*)有关。目前将转录组学用于青稞耐盐性研究的报道相对其他作物较少。Panrong Ren 等^[10]结合 16S rRNA 和转录组分析揭示了青稞种子耐盐萌发的分子机制,但侧重于内生菌介导的离子平衡调节和宿主基因信号转导。

本研究在前期对 313 份青稞种质材料进行筛选的基础上,以耐盐性存在明显差异的青稞材料幼苗为对象,分析了盐胁迫下叶片可溶性总糖、MDA 含量以及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的变化,并对 0、250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下叶片开展转录组测序,解析差异表达基因及相关代谢通路,以期阐明青稞响应盐胁迫的分子机理及发掘耐盐基因资源提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与盐胁迫处理

本课题组前期通过对来自国家农作物种质资源复份库的 313 份青稞种质材料进行筛选,获得高耐盐材料 ZYM1795 和 ZYM3130 以及不耐盐材料 ZYM2239。本试验选取大小均一、颗粒饱满和无破损的 ZYM1795、ZYM3130 和 ZYM2239 种子各 50 粒,用 5% 的次氯酸钠消毒 10 min,用蒸馏水反复冲洗 3 次,然后放入干净且垫有两层纱布的发芽盒中,置于恒温光照培养箱中培养,白天光照 12 h、温度 25 ℃,黑夜时长 12 h、温度 20

℃,定时补充蒸馏水以保持滤纸湿润。待幼苗发育至两叶一心期时,用 50、150、250 mmol · L⁻¹ NaCl 溶液分别对 3 份青稞材料进行盐胁迫处理,以蒸馏水处理的青稞幼苗作为对照。为避免幼苗发生应激效应,采用逐步增加 NaCl 浓度的方法,即每 12 h 以 50 mmol · L⁻¹ NaCl 浓度逐渐递增,直至 NaCl 浓度为所需浓度,并保证每天定时更换滤纸和处理液以保证盐浓度不变。每个处理 3 次重复,每次重复设置 3 盒。此外,培养所用的营养液均是用 Hoagland 母液按 1:200 比例稀释配制成,其中盐胁迫处理组的营养液按照设计浓度加入了所需的 NaCl。处理 1 周后取样叶片,液氮速冻后放入 -80 ℃ 冰箱保存,用于生理指标测定、总 RNA 提取和转录组测序。

1.2 丙二醛(MDA)含量、可溶性总糖含量和抗氧化酶活性的测定

按照北京盒子生工科技有限公司 MDA 含量检测试剂盒(AKFA013M)、可溶性总糖含量检测试剂盒(AKPL008C)说明书分别测定青稞叶片 MDA 和可溶性总糖含量。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性分别按照北京盒子生工科技有限公司试剂盒(AKAO001C-50S 和 AKAO001C-50S)说明书进行测定;过氧化氢酶(CAT)活性按照该公司过氧化氢酶试剂盒(AKAO003-2C)说明书进行测定。

1.3 RNA 提取、文库构建

对 0、250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理的 ZYM1795、ZYM3130 和 ZYM2239 幼苗进行取样,委托广州基迪奥生物有限公司按其标准流程(<https://www.genedenovo.com/about/>)完成 RNA 提取、文库构建和测序,依照 Illumina Novaseq X Plus 进行 RNA 文库质量检测,用 fastp 进行数据质控,利用 HISAT 2 软件将测序得到的序列比对到参考基因组(Ensembl_release59)。

1.4 差异表达基因筛选

设计相关比较组,在 R 中使用 DESeq2 软件,以每个基因的 reads count 值为输入数据,以 $|\log_2 FC| \geq 1$ 且 $FDR \leq 0.05$ 为筛选条件,对 read count 值进行标准化,根据模型进行假设检验概率的计算,然后进行多重假设检验校正,得到 FDR 值(错误发现率),最后输出各比较组的差异表达基因,利用广州基迪奥生物平台提供的工具绘制各比较组差异表达基因散点图及韦恩图,筛选出青稞种质耐盐的关键候选基因。

1.5 加权基因共表达网络分析

加权基因共表达网络分析(WGCNA)能够高效识别与样本特征相关联的基因共表达模块。本研究将各处理组幼苗叶片中差异显著的生理指标作为样本特征值,利用 WGCNA 方法筛选盐胁迫下与这些生理指标变化显著相关的基因模块。通过对所得模块基因与差异表达基因进行韦恩分析,提取两者的共有基因,并将其视为潜在的青稞耐盐相关基因。

1.6 GO 富集分析

以潜在耐盐相关基因为对象,基于其 GO term 信息,首先统计并计算每个 GO term 对应的基因列表及基因数目;随后采用超几何分布方法计算 P 值,筛选出耐盐相关基因显著富集的 GO term(以整个基因组为背景,筛选标准为 $P < 0.05$)。依据 GO 富集分析结果,通过 Rich factor、FDR 值及富集到该 GO term 上的基因个数来评估富集程度;其中,Rich factor 值越大,表明基因在该 GO term 中的富集程度越高;FDR 值的取值范围通常为 0~1,其值越接近 0,代表该 GO term 的富集显著性越强。

1.7 数据分析

使用 IBM SPSS22.0 软件对青稞幼苗叶片生理指标结果进行单因素方差分析,选择 Tukey 多重比较检验差异显著性,使用 GraphPad Prism 10.0 软件将数据制作成图像展示。

2 结果与分析

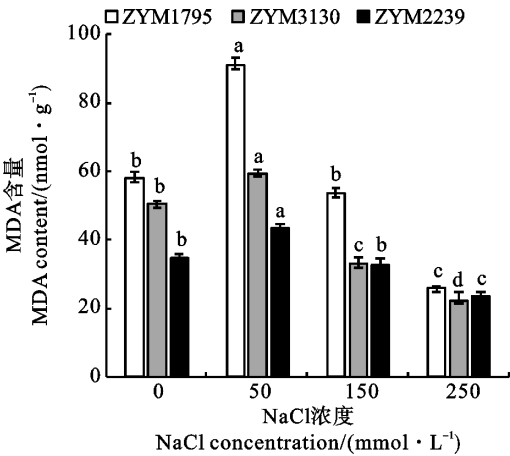
2.1 盐胁迫下不同耐盐性青稞材料的生理指标变化

2.1.1 盐胁迫下青稞 MDA 含量变化

随 NaCl 浓度的增加,高耐盐青稞材料 ZYM1795、ZYM3130 和不耐盐材料 ZYM2239 的 MDA 含量均呈先升后降趋势,均以 50 mmol · L⁻¹ NaCl 处理的 MDA 含量最高(图 1),表明盐胁迫下,青稞的膜质过氧化水平平均会升高。

2.1.2 盐胁迫下青稞抗氧化酶活性变化

随 NaCl 浓度的增加,ZYM1795、ZYM3130 和 ZYM2239 的 3 种抗氧化酶(SOD、POD 和 CAT)活性总体呈先升后降趋势,尤其是 ZYM1795 的 SOD、POD 活性及 ZYM3130 的 POD 活性变化显著(图 2),说明盐胁迫会增强青稞的抗氧化酶活性,有助于清除过多的活性氧,减少其对细胞造成的损伤。此外,与两份耐盐材料相比,盐胁迫后不耐盐材料 ZYM2239 的 POD、CAT 活性虽有提高,



图柱上的不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。图 2 和图 3 同。
Different letters above the columns indicate significant differences among the different treatments at 0.05 level. The same in figure 2 and figure 3.

图 1 盐胁迫下不同青稞材料的 MDA 含量变化
Fig. 1 Changes of MDA content in different highland barley materials under NaCl stress

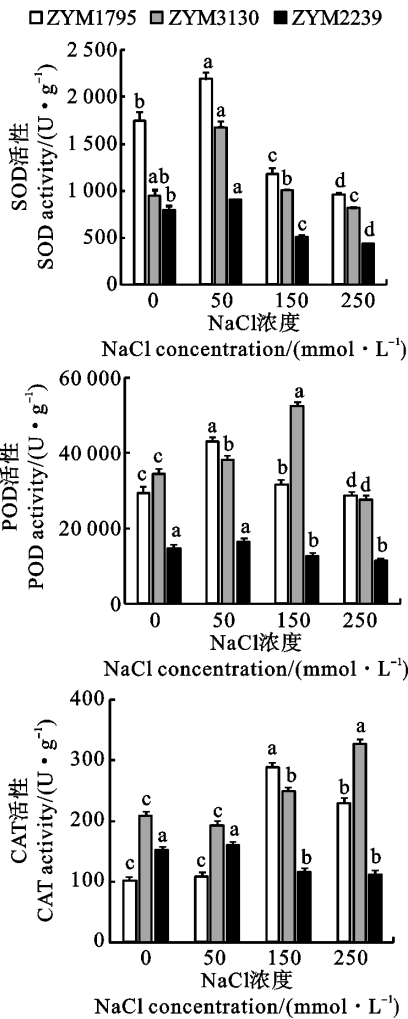


图 2 盐胁迫下不同青稞材料抗氧化酶活性变化
Fig. 2 Changes of antioxidant enzyme activity in different highland barley materials under NaCl stress

但变化较弱,说明抗氧化酶活性的高低在一定程度上可以反映青稞耐盐性的差异。

2.1.3 盐胁迫下青稞可溶性总糖(SS)含量变化

随盐胁迫浓度的增加,高耐盐青稞材料 ZYM1795 和 ZYM3130 的 SS 含量总体呈显著上升趋势(图 3),而不耐盐材料 ZYM2239 的 SS 含量呈先升高后降低趋势,说明盐胁迫会导致青稞 SS 含量升高,但耐盐材料的升高幅度和耐盐范围均较大。

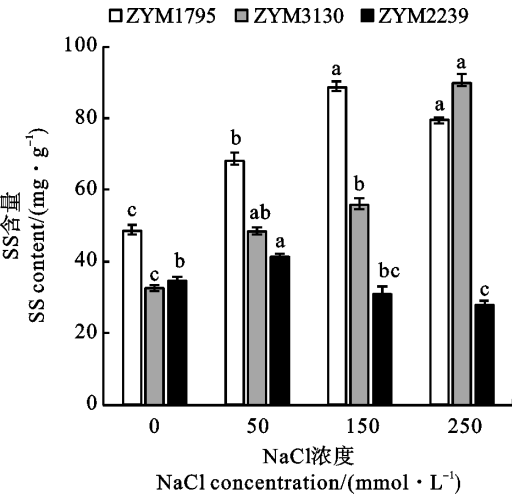


图 3 盐胁迫下不同青稞材料可溶性总糖(SS)含量变化
Fig. 3 Changes of soluble total sugar(SS) content in different highland barley materials under NaCl stress

2.2 转录组测序质量分析

取对照和 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理的青稞幼苗叶片(每个处理 3 次重复,共 18 个样品)进行有参转录组测序,结果(表 1)显示,总共获得了约 0.72 GB Clean data,Q20 碱基百分比为 97.09%~98.78%,Q30 碱基百分比为 92.17%~94.78%,且每个样本的 GC 含量接近 54%,所有样品过滤后 Clean reads 的比例均不低于 99.79%,表明转录组测序和生物信息学分析质量良好。经聚类分析,高耐盐材料 ZYM1795、ZYM3130 与不耐盐材料 ZYM2239 的样本间既有良好的相关性,又存在显著的表达差异(图 4)。主成分分析结果(图 5)显示,不同处理的样本在主成分 PC1 和 PC2 构成的二维空间中呈现出明显的聚集现象,反映出各组样本在主要变异方向上具有较高的一致性,组内差异相对较小。这一结果进一步验证了本研究数据的稳定性与可靠性,可进行后续分析。

表 1 18 个 RNA-Seq 文库基本结果数据统计
Table 1 Basic statistics of 18 RNA-Seq libraries

样本 Sample	Raw data reads	Clean data/ %	Clean reads Q20/ %	Clean reads Q30/ %	GC/ %	N/ %
CK1-1	39 838 636	99.83	98.74	94.70	53.27	0.06
CK1-2	44 786 442	99.81	98.78	94.78	53.11	0.09
CK1-3	37 271 658	99.83	97.30	92.92	52.77	0.07
CK2-1	40 104 480	99.82	98.66	94.26	53.50	0.08
CK2-2	38 288 912	99.82	98.63	94.13	53.83	0.07
CK2-3	42 459 684	99.79	98.75	94.70	53.58	0.10
CK3-1	36 492 908	99.84	97.35	93.00	53.27	0.04
CK3-2	36 770 252	99.83	97.15	92.61	53.15	0.05
CK3-3	36 885 104	99.80	98.31	93.66	53.60	0.09
T1-1	40 173 516	99.86	97.24	92.87	53.82	0.03
T1-2	37 389 636	99.85	97.10	92.45	53.88	0.04
T1-3	37 498 748	99.87	97.40	93.10	53.83	0.03
T2-1	38 360 508	99.80	98.65	94.15	54.62	0.10
T2-2	44 222 704	99.82	97.27	92.57	54.43	0.07
T2-3	44 626 882	99.80	97.09	92.17	54.25	0.08
T3-1	42 994 380	99.81	98.56	93.83	54.79	0.08
T3-2	41 761 908	99.81	98.61	94.03	54.59	0.08
T3-3	39 825 224	99.80	98.63	94.19	54.58	0.09

CK1:ZYM2239 的对照;CK2:ZYM1795 的对照;CK3:ZYM3130 的对照;T1:ZYM2239 盐胁迫处理;T2:ZYM1795 盐胁迫处理;T3:ZYM3130 盐胁迫处理。每个处理 3 个生物学重。下同。

CK1: Control of ZYM2239; CK2: Control of ZYM1795; CK3: Control of ZYM3130; T1: Salt stress treatment of ZYM2239; T2: Salt stress treatment of ZYM1795; T3: Salt stress treatment of ZYM3130. Three biological replicates were involved in each treatment. The same in belows.

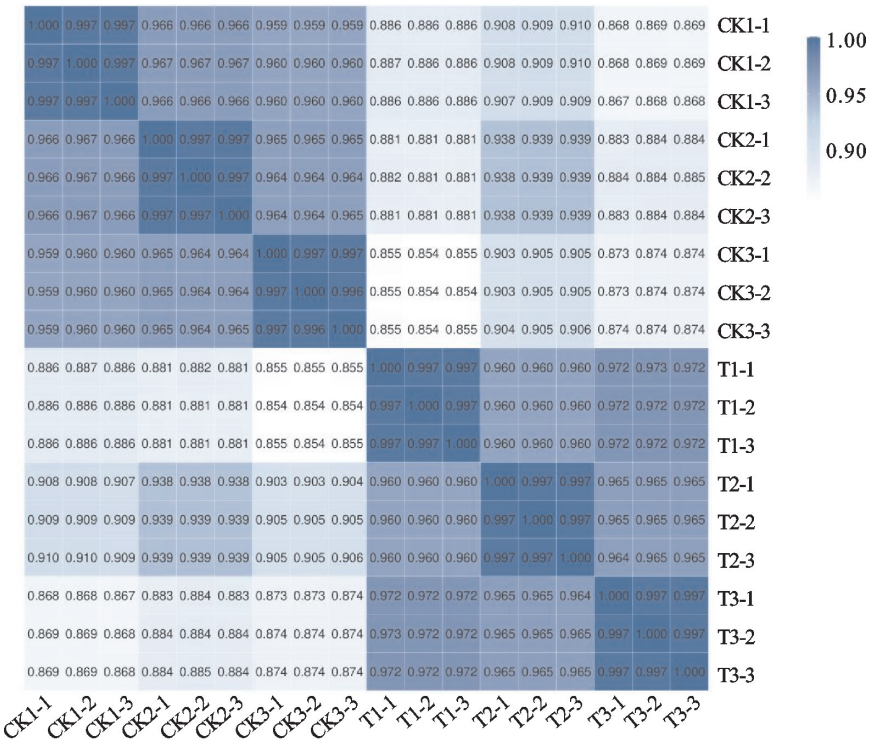
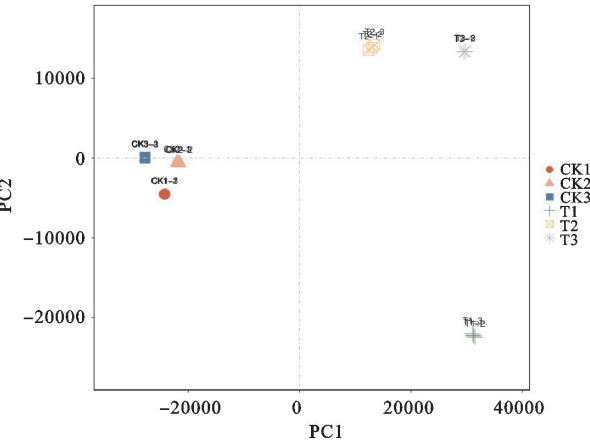


图 4 不同青稞材料样本间的相关性

Fig. 4 Sample correlation of different highland barley materials



PC1 和 PC2 为两个主成分,其方差贡献率分别为 73.9% 和 17.0%。
PC1 and PC2 are the two principal components, with variance contribution rates of 73.9% and 17.0%, respectively.

图 5 样本间 PCA 分析
Fig. 5 PCA analysis between samples

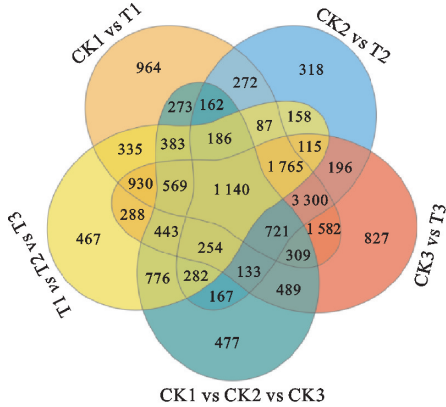
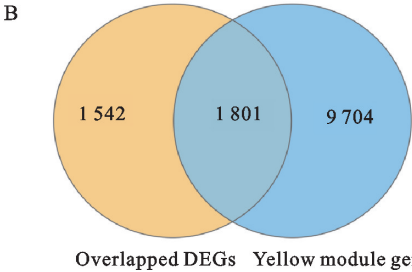
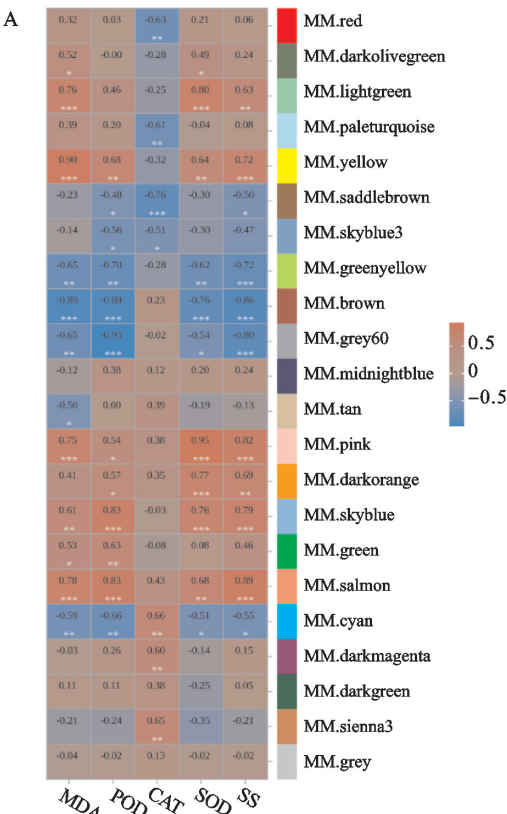


图 6 各比较组差异表达基因韦恩图
Fig. 6 Wayne plots of differentially expressed genes across comparison groups

2.3 盐胁迫下青稞的差异表达基因

为分析不同耐盐性青稞种质盐胁迫下的转录组差异,分析 5 个比较组(CK1 vs T1、CK2 vs T2、CK3 vs T3、CK1 vs CK2 vs CK3 及 T1 vs T2 vs T3)的基因表达倍数变化(fold change,FC),筛选差异表达基因。结果显示,5 个比较组分别鉴定出 12 978(3 219 个上调,9 759 个下调)、9 256(2 784 个上调,6 472 个下调)、13 061(3 856 个上调,9 205 个下调)、6 764 和 8 178 个差异表达基因。

通过韦恩图分析,共有 7 481 个基因在 3 份材料中均被盐胁迫诱导(图 6)。去除种质本底差异(CK1 vs CK2 vs CK3)后,共有 4 145 个差异表达基因在材料间(T1 vs T2 vs T3)特异性表达,其中在耐盐种质处理前后发生差异表达的基因 3 343 个,这 3 343 个基因可能是造成青稞耐盐性差异的关键基因。



A: 基于生理指标的加权基因共表达网络分析,每行代表一个基因模块,每列对应一种生理指标;格子内上方的数字表示该模块与对应指标的相关系数,括号内为相应的 P 值;B: 不同处理组间筛选出的差异表达基因与耐盐相关黄色模块基因之间的重叠关系。

A: Weighted gene co-expression network analysis based on different physiologic indices, each row in the figure represents a gene module, and each column corresponds to a physiological trait; The number above the grid indicates the correlation coefficient between the module and the corresponding trait, and the corresponding P value is in the brackets; B: This figure shows the overlapping relationship between the differentially expressed genes screened between different treatments and the salt-tolerant related yellow module genes.

图 7 耐盐相关基因的筛选
Fig. 7 Screening of salt tolerance-related genes

2.4 基于 WGCNA 的耐盐相关基因筛选

在 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下,青稞幼苗的 POD、SOD 和 CAT 活性及 MDA 和 SS 含量

均响应了盐胁迫,其变化趋势可在一定程度上反映植株的耐盐性强弱。基于这些生理指标数据开展 WGCNA 分析,共识别出 22 个高度共表达的基因模块(图 7A)。图 7A 中,黄色模块除 CAT 活性以外,与其他生理指标均存在显著相关性,因而可以认为该模块是与青稞耐盐性密切关联的核心基因集合。经进一步通过韦恩分析,从该黄色模块中筛选出 1 801 个在 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下出现差异表达的基因,这些基因被推测为青稞响应盐胁迫的潜在关键基因(图 7B)。

2.5 耐盐相关基因的 GO 富集分析

对上述筛选得到的潜在与响应盐胁迫相关的基因进行 GO 富集分析,结果表明,20 个关键 GO terms 被显著富集(图 8),对应的差异表达基因主要富集于以下 3 类核心生物学过程(表 2):(1)抗逆、抗氧化防御反应,包括含氧化合物响应、对非生物刺激的调节和对外界刺激的响应等通路;(2)激素与代谢调控,包括对刺激的反应、对胁迫的响应和脱落酸响应;(3)相关酶活性与信号转导,包括酶活性、催化活性的调节、生物膜形成等

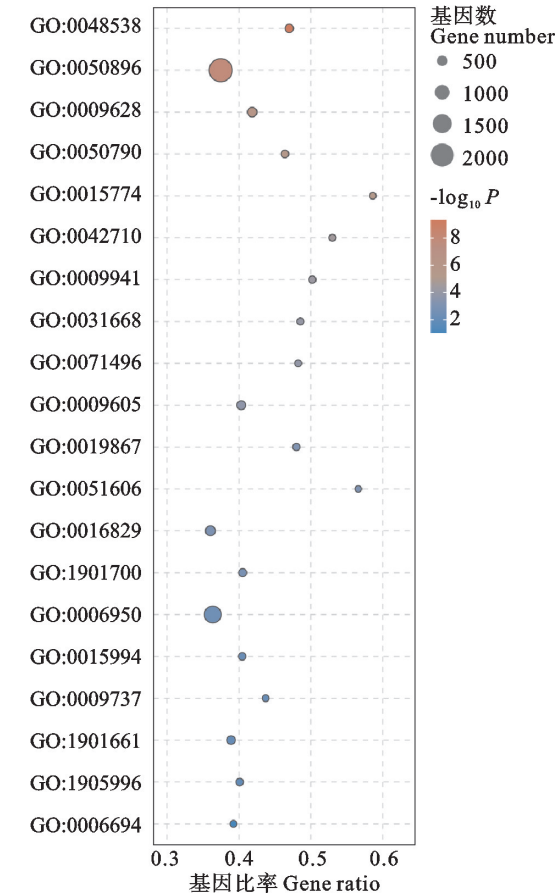


图 8 耐盐相关基因的 GO 富集分析
Fig. 8 GO enrichment analysis of salt tolerance-related genes

通路。这说明青稞通过激活相关酶活性,刺激抗逆、抗氧化防御、激素信号等关键通路,协同应对盐胁迫。这些被显著富集的 GO Terms 共包含了 20 个与之相关的显著表达基因(图 9),其详细信息见表 3。其中,8 个基因与过氧化物酶相关,负责清除盐胁迫下青稞体内多余的活性氧;1 个基因与 alpha, alpha-海藻糖磷酸化酶相关,负责在逆境条件下为生物体提供保护,增强细胞对环境变化的适应性;4 个基因与丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶相关,负责细胞信号转导;4 个基因与叶绿体中的氧化还原反应相关,如编码叶黄素去环氧化酶和 2-Cys 型过氧化物还原酶;3 个基因与 ABC 运输蛋白相关,负责跨膜物质转运蛋白。上述潜在耐盐相关基因的功能与盐胁迫条件下青稞的生理生化调节过程相匹配,推测这些基因在盐胁迫诱导下能积极做出响应,使得青稞耐盐能力提升。

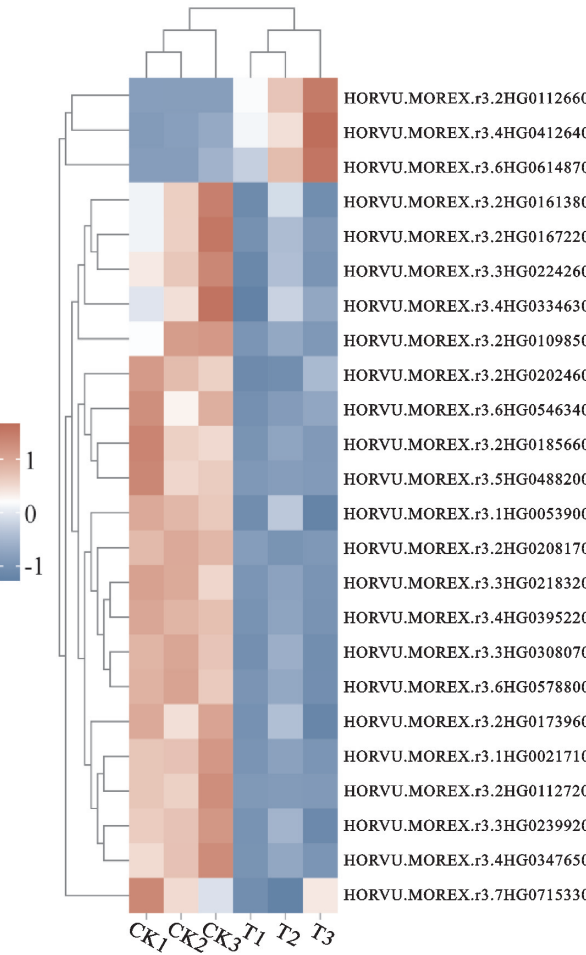


图 9 显著富集 GO terms 中基因的表达分析及功能注释
Fig. 9 Relative expression level and functional annotation of genes in significantly enriched GO terms

表 2 黄色模块内的基因主要富集到的 GO 条目

Table 2 GO terms enriched by genes in yellow module

GO ID	显著富集的项目 Significantly enriched term	条目类型 Term type	基因数量 Gene number	P 值 P value
GO:0050896	对刺激的反应 Response to stimulus	BF	2 013	0.000 1
GO:0006950	对胁迫的响应 Response to stress	BP	1 266	0.033 1
GO:0016829	酶活性 Lyase activity	MF	427	0.013 6
GO:0009628	对非生物刺激的调节 Response to abiotic stimulus	BP	400	0.000 1
GO:0009605	对外界刺激的响应 Response to external stimulus	BP	325	0.003 3
GO:0048583	对刺激反应的调节 Regulation of response to stimulus	BP	258	0.000 1
GO:1901661	醌代谢过程 Quinone metabolic process	BP	249	0.065 4
GO:1901700	对含氧化合物的响应 Response to oxygen-containing compound	BP	220	0.017 0
GO:0050790	催化活性的调节 Regulation of catalytic activity	BP	161	0.000 1
GO:0015994	叶绿素代谢过程 Chlorophyll metabolic process	BP	161	0.051 8
GO:0005996	单糖代谢过程 Monosaccharide metabolic process	BP	148	0.082 2
GO:0009941	叶绿体膜 Chloroplast envelope	CC	123	0.001 1
GO:0019867	外膜 Outer membrane	CC	119	0.010 3
GO:0071496	响应外界刺激 Cellular response to external stimulus	BP	83	0.001 7
GO:0031668	响应细胞外部刺激 Cellular response to extracellular stimulus	BP	82	0.002 4
GO:0006694	类固醇生物合成过程 Steroid biosynthetic process	BP	82	0.078 4
GO:0009737	对脱落酸的响应 Response to abscisic acid	BP	73	0.061 0
GO:0042710	生物膜形成 Biofilm formation	BP	62	0.000 6
GO:0015774	多糖转运 Polysaccharide transport	BP	51	0.000 1
GO:0051606	对刺激的检测 Detection of stimulus	BP	30	0.009 9

BF:生物学功能;BP:生物学过程;CC:细胞组分;MF:分子功能。
BF: Biological function; BP:Biological process;CC:Cellular component;MF: Molecular function.

3 讨论

在非生物胁迫下,植物的生理特征会受到不同程度的影响^[11]。例如,盐胁迫下,植物会产生大量的活性氧,导致植物细胞完整性遭到破坏^[12]。抗氧化酶则在植物清除体内多余活性氧、适应逆境胁迫方面发挥着重要作用,其活性的高低与植物对逆境的耐受性密切相关^[13]。本研究发现,随盐胁迫浓度的增加,青稞幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性先升后降,MDA 含量先增后减,SS 含量逐渐增加。其中,SOD、POD、CAT 活性

变化与韩翠婷等^[14]在杠柳培养物上的研究结果一致,MDA 含量变化与袁晨晨等^[15]在白蜡上的研究结果一致,SS 含量变化与段伟等^[16]在白三叶上的研究结果一致。

近年来,高通量转录组测序技术在植物耐盐性研究中的应用越来越广泛,其中 WGCNA 作为一种强大的转录组分析工具,常被用于植物抗逆相关基因和代谢调控分析^[17]。然而,基于转录组测序技术与 WGCNA 进行青稞耐盐相关基因挖掘及其相关代谢途径的研究甚少。本研究将 WGCNA 和 GO 富集分析结合,对青稞响应盐胁迫

表 3 差异基因的 GO 功能富集通路相关基因功能注释

Table 3 Functional annotation of GOfunction enrichment pathway related genes for differential genes

基因 ID Gene ID	描述 Description	基因符号 Genesymbol	编码 GO 编号 Encoding GO ID	所属类型 Type of belonging
HORVU. MOREX. r3. 4HG0395220	Alpha, alpha-trehalose-phosphate synthase	TPS6	GO:0006950 GO:0009628	Alpha, alpha-海藻糖磷酸化酶 Alpha, alpha-glucosylphosphate phosphatase
HORVU. MOREX. r3. 1HG0021710	Peroxidase A2-like	PER22	GO:0006950 GO:0050896	过氧化物酶 Peroxidase
HORVU. MOREX. r3. 2HG0112660	Peroxidase 2-like	PRX112	GO:0006950 GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 2HG0112720	Peroxidase 2-like	PRX112	GO:0006950 GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 2HG0173960	Peroxidase 31-like	PER41	GO:0006950 GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 4HG0412640	Peroxidase 5-like	GSVIVT00037159001	GO:0006950	
HORVU. MOREX. r3. 5HG0488200	Peroxidase 17	PER17	GO:0006950	
HORVU. MOREX. r3. 6HG0546340	Peroxidase 70-like	PER70	GO:0006950	
HORVU. MOREX. r3. 6HG0614870	Peroxidase 72-like	PER72	GO:0006950	
HORVU. MOREX. r3. 2HG0161380	Violaxanthin de-epoxidase, chloroplastic	VDE1	GO:0050896 GO:0006950 GO:0009628 GO:0015994	叶绿体中的 氧化还原反应 Oxidation-reduction reaction in chloroplasts
HORVU. MOREX. r3. 2HG0167220	2-Cysperoxiredoxin BAS1, chloroplastic	BAS1	GO:0050896 GO:0006950	
HORVU. MOREX. r3. 4HG0334630	Ferredoxin C 2, chloroplastic	FDC2	GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 4HG0347650	Short-chain dehydrogenase TIC 32, chloroplastic-like	TIC32	GO:0050896 GO:0006950 GO:0009605 GO:0015994	
HORVU. MOREX. r3. 2HG0109850	Serine/threonine-protein kinase TIO	TIO	GO:0050896 GO:0006950 GO:0009605 GO:0048583 GO:1901700 GO:0071496 GO:0031668	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Protein serine-threonine kinase
HORVU. MOREX. r3. 2HG0185660	Serine/threonine-protein kinase D6PKL1	Os06g0291600	GO:0050896	跨膜物质转运蛋白 Membrane transport protein
HORVU. MOREX. r3. 3HG0218320	Serine/threonine/tyrosine-protein kinase HT1-like	HT1	GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 3HG0239920	Serine/threonine protein phosphatase	BKAPPA	GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 3HG0224260	ABC transporter G family member 7	ABCG7	GO:0005996 GO:0050896	
HORVU. MOREX. r3. 6HG0578800	ABC transporter A family member 8-like isoform X1	ABCA7	GO:0050896 GO:0006950 GO:0009628 GO:0009605 GO:0048583 GO:1901700 GO:0050790 GO:0009737	
HORVU. MOREX. r3. 7HG0715330	ABC transporter A family member 8-like	ABCA4	GO:1901661 GO:0050896	

迫过程中相关的核心基因进行了筛选,成功鉴定出 3 343 个差异表达基因,推测这些基因可能是造成青稞耐盐性差异的关键。富集分析结果显示,青稞耐盐关键关联模块中的基因显著富集的

通路主要包括抗逆、抗氧化防御反应,激素与代谢调控,相关酶活性与信号转导等。这些通路在其他耐盐植物响应盐胁迫过程中也有发现。例如,基于盐处理下花花柴叶片转录组数据,结合 WGCNA

筛选出了3个与其耐盐性相关的特异性模块,发现花柴的耐盐适应性与植物激素信号转导、蛋白激酶、转录调控、膜蛋白功能等生物过程紧密相关^[18];在盐胁迫下,二色补血草的ABA信号通路激活,促进脯氨酸、可溶性糖等渗透调节物质合成,使苯丙烷类途径等显著上调,产生鞣皮素衍生物等抗氧化代谢物,以缓解氧化胁迫^[19];对耐盐和盐敏感胡萝卜材料的差异基因分析发现,与渗透保护和抗氧化保护相关的miRNA在耐盐胡萝卜材料中更容易表达^[20]。此外,植物激素在植物响应逆境胁迫的过程中也起着重要作用^[21]。研究表明,植物盐胁迫初期,脱落酸(ABA)含量增加,会降低其他激素含量,同时诱导植物体内的各信号分子进行复杂的网络调控,以缓解盐胁迫造成的伤害,一段时间后ABA含量降低,植物恢复正常生长^[22];根据海雀稗的KEGG富集分析结果推测,在盐胁迫下海雀稗可能通过调节碳水化合物的代谢途径,以优化能量供应、渗透压调节和信号传导,从而增强其耐盐能力^[23]。

本研究基于青稞在盐胁迫下的生理指标测定结果进行WGCNA,鉴定出了22个表达高度相关的基因集模块,其中黄色模块基因除与CAT活性相关性不显著以外,与其余各项指标均显著相关,推测其与青稞耐盐能力密切关联。将该模块的差异表达基因与显著富集的GO Terms相结合,挖掘到20个与盐胁迫下青稞生理生化调节相对应的关键基因,主要包括海藻糖磷酸化酶基因、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因、叶黄素去环氧化酶基因、2-Cys型过氧化物还原酶基因及ABC运输蛋白基因。这些基因涉及到的代谢过程或物质在植物应对盐胁迫中发挥着重要作用。其中,过氧化物酶能够将盐胁迫下积累的活性氧分解,转化为水和氧气,从而提高植物耐盐性^[24];海藻糖在生物体细胞代谢中起着调节剂的作用,增强植物抗逆能力^[25],具有储备能量、渗透调节和逆境保护等多种功能^[26];以丝氨酸/苏氨酸活性为关键的ABA信号转导通路可能对大麦盐胁迫响应有重要意义^[27]。此外,丝氨酸/苏氨酸激酶还可通过磷酸化下游信号蛋白,把细胞外信号传入细胞内,影响基因转录实现抗逆等多种生物学功能^[28];叶黄素去环氧化酶、2-Cys型过氧化物还原酶等与植物光合作用密切相关^[29-30];ABC运输蛋白能通过ATP供能,主动转运植物细胞内的盐离子,降低细胞质中高盐离子的毒性,是植物耐盐

的关键转运载体^[31]。因此,这些核心基因的发现进一步表明WGCNA在挖掘青稞耐盐调控基因方面具有一定的可靠性。未来将通过基因编辑、代谢组学和蛋白质组学等多组学联合分析,深入解析这些基因在耐盐机制中的具体功能及其调控网络。

4 结论

本研究基于盐胁迫下青稞幼苗叶片转录组数据,结合相应生理指标结果进行WGCNA,筛选出1个与其耐盐性相关的特异性模块,挖掘到青稞幼苗在盐胁迫下有20个差异表达基因,这些基因主要与过氧化物酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、海藻糖磷酸化酶等密切相关,基因GO富集主要集中在抗逆、抗氧化防御反应,激素与代谢调控和相关酶活性与信号转导等方面,说明青稞的耐盐适应性与植物活性氧分解、细胞代谢、激素信号转导、蛋白激酶以及膜蛋白功能等生物过程紧密相关。

参考文献:

- [1]赵绍康,刘晓强,王玉玺,等.玉米萌发期耐盐性评价及其杂种优势模式分析[J].植物遗传资源学报,2025,26(1):79.
Zhao S G, Liu X Q, Wang Y X, et al. Evaluation of salt tolerance and analysis of their heterosis patterns in maize during germination period [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2025, 26(1):79.
- [2]Cao Y B, Zhou X Y, Song H F, et al. Advances in deciphering salt tolerance mechanism in maize [J]. *The Crop Journal*, 2023, 11(4):1001.
- [3]郝熠镭,姚有华,姚晓华,等.青稞种质资源萌发期耐盐碱性的鉴定评价[J].植物遗传资源学报,2025,26(10):1995.
Hao Y L, Yao Y H, Yao X H, et al. Evaluating the variation of the saline-alkaline resistance in hulless barley germplasm resources at germination stage [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2025, 26(10):1995.
- [4]卢露,徐金青,王蕾,等.基于营养品质性状的青稞核心种质构建[J].麦类作物学报,2026,46(3):321.
Lu L, Xu J Q, Wang L, et al. Construction of core germplasm of hulless barley based on nutritional quality traits [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2026, 46(3):321.
- [5]刘成洋,申瑞玲,董吉林,等.固态发酵青稞全谷物饼干的研制[J/OL].现代食品科技,2026. <https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0251>.
Liu C Y, Shen R L, Dong J L, et al. Development of whole grain biscuit with solid fermentation highland barley [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2026. <https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0251>.
- [6]周娟.高温-干旱复合胁迫下紫花苜蓿抗逆候选基因筛选与功能研究[D].银川:宁夏大学,2025.
Zhou J. Screening and functional studies of the candidate genes for alfalfa responding to high temperature-drought compound stresses [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2025.
- [7]龙威,王靓,金羽琨,等.苗期油莎豆在盐胁迫下的生理特性及转录组学分析[J].河南农业科学,2025,54(6):11.
Long W, Wang L, Jin Y K, et al. Physiological characteristics

- and transcriptomic analysis of *Cyperus esculentus* L. at seedling stage under salt stress [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2025, 54(6): 11.
- [8]李双,王爱英,焦 湲,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.
- Li S, Wang A Y, Jiao Z, *et al.* Physiological and chemical characteristics and transcriptome analysis of different type of wheat seedlings under salt stress [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2024, 26(2): 20.
- [10]Ren P R, Qiao Y, Wang J. Integrative 16S rRNA and transcriptome analysis reveals the molecular mechanisms underlying salt-tolerant germination in highland barley (*Hordeum vulgare* var. *coeleste* Linnaeus) seeds [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2025, 16: 1691647.
- [11]王大江,刘 昭,路 翔,等.植物耐盐机制研究进展及展望[J].华北农学报,2024,39(5): 80.
- Wang D J, Liu Z, Lu X, *et al.* Advances and prospect on mechanism of salt tolerance in plants [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2024, 39(5): 80.
- [12]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.
- Wang X D, Zhang G H, Wang H, *et al.* Enhancing cold tolerance of transgenic high oleic peanut by zinc finger protein gene ZAT12 [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(16): 5351.
- [13]徐 磊,胥 晓,刘沁松.外源水杨酸对盐胁迫下珙桐幼苗抗氧化系统和基因表达的影响[J].植物研究,2023,43(4): 572.
- Xu L, Xu X, Liu Q S. Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant system and gene expression of *Davidia involu-crata* seedlings under salt stress [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2023, 43(4): 572.
- [14]韩翠婷.盐胁迫及茉莉酸甲酯对杠柳培养物生理及次生代谢的影响[D].天津:天津中医药大学,2023.
- Han C T. Effects of salt stress and methyl jasmonate on physiology and secondary metabolism of *Periploca periploca* culture [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [15]袁晨晨,燕丽萍,李 丽,等.9种白蜡苗期耐盐响应与综合评价[J].中国农学通报,2025,41(34): 23.
- Yuan C C, Yan L P, Li L, *et al.* Salt tolerance response and comprehensive evaluation of nine kinds of *Fraxinus* at seedling stage [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2025, 41(34): 23.
- [16]段 伟,张雪莉,王玉祥,等.盐水浇灌下8份白三叶种质的耐盐性评价[J].中国草地学报,2025,47(8): 28.
- Duan W, Zhang X L, Wang Y X, *et al.* Evaluation of salt tolerance in eight *Trifolium repens* germplasms under saline irrigation [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2025, 47(8): 28.
- [17]刘 霞,李俊霆,刘晨曦,等.多组学技术在中药研究中的进展[J].中国现代中药,2025,27(11): 2185.
- Liu X, Li J T, Liu C X, *et al.* Advances of multi-omics in the study of Chinese materia Medica [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2025, 27(11): 2185.
- [18]许聪聪,郑 美,李 翠,等.利用 WGCNA 筛选鉴定花柴耐盐核心基因[J].生物技术通报,2025,41(12): 177.
- Xu C C, Zheng M, Li C, *et al.* Screening and identification of salt-tolerant hub genes in *Karelinia caspia* using WGCNA [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2025, 41(12): 177.
- [19]Zhang H J, Zhang H R, Liu H Z, *et al.* Integrated transcriptomic and metabolomic analyses reveal that MsMYC₂—a core transcription factor of the jasmonic acid signaling pathway positively regulates NaHCO₃-base tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2025, 229: 110757.
- [20]Szymonik K, Klimekchodacka M, Lukaszewicz A, *et al.* Comparative analysis of the carrot miRNAome in response to salt stress [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 21506.
- [21]高红秀,朱 琳,刘天奇,等.水稻植物激素响应低温胁迫反应的转录组分析[J].分子植物育种,2021,19(13): 4188.
- Gao H X, Zhu L, Liu T Q, *et al.* Transcriptomic analysis of plant hormone response to low temperature stress in rice [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(13): 4188.
- [22]沈 泓,张 樱,张 轩,等.盐胁迫下不同水稻品种苗期植物内源激素含量的变化特征[J].湖南农业科学,2021(12): 30.
- Shen H, Zhang Y, Zhang X, *et al.* Change characteristics of phytohormones contents in rice seedlings under salt stress [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2021(12): 30.
- [23]祝 青,张 叶,孙劝劝,等.盐生植物海雀稗不同种质对盐胁迫响应的转录组分析[J].福建农业学报,2025,40(4): 349.
- Zhu Q, Zhang Y, Sun Q Q, *et al.* Transcriptomes of *Paspalum vaginatum* germplasms under salt-stress [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2025, 40(4): 349.
- [24]牛 丽,王勇胜,王长杰,等.大麦 NAC 基因家族鉴定分析及 HvNAC38 的耐盐功能验证[J/OL].作物学报,2025. <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251114.1701.004>.
- Niu L, Wang Y S, Wang C J, *et al.* Identification and analysis of the NAC gene family in barley (*Hordeum vulgare* L.) and functional validation of HvNAC38 in salt tolerance [J/OL]. *Acta Agronomica Sinica*, <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251114.1701.004>.
- [25]李 哲,姜泽益,代梦雪,等.外源海藻糖对高温胁迫小麦干物质积累和籽粒灌浆的影响[J].麦类作物学报,2022,42(5): 614.
- Li Z, Jiang F Y, Dai M X, *et al.* Effect of exogenous trehalose on dry matter accumulation and grain filling of wheat under heat stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2022, 42(5): 614.
- [26]李 婕.外源海藻糖对盐胁迫下草莓生长和果实品质的影响[D].雅安:四川农业大学,2022.
- Li J. Effects of exogenous trehalose on strawberry growth and fruit quality under salt stress [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2022.
- [27]李璐飞,孙成群,张宇航,等.大麦耐盐近等基因系叶片响应盐胁迫的转录组学分析[J].江苏农业科学,2024,52(24): 44.
- Li L F, Sun C Q, Zhang Y H, *et al.* Transcriptomic analysis of leaf response to salt stress in barley near isogene lines with salt tolerance [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, 52(24): 44.
- [28]Zhang Y X, Tian H D, Chen D, *et al.* Cysteine-rich receptor-like protein kinases: Emerging regulators of plant stress responses [J]. *Trends in Plant Science*, 2023, 28(7): 776.
- [29]董 明,再吐尼古丽·库尔班,吕 芑,等.高粱苗期耐盐性转录组分析和基因挖掘[J].中国农业科学,2019,52(22): 3987.
- Dong M, Kuerban Zaituniguli, Lü P, *et al.* Transcriptome analysis and gene mining of salt tolerance in sorghum seedlings (*Sorghum bicolor* L. Moench) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 3987.
- [30]卢 锐,李培英.偃麦草盐胁迫下转录组分析[J].草地学报,2020,28(1): 31.
- Lu R, Li P Y. Transcriptome analysis of *Elytrigia* under salt stress [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(1): 31.
- [31]苑 莹,胡亚亚,李建娜,等.小麦近等基因系 TcLr19 中 Ta-ABCF 基因的克隆及表达分析[J].麦类作物学报,2017,37(12): 1525.
- Yuan Y, Hu Y Y, Li J Y, *et al.* Cloning and expression analysis of TaABCF in wheat near isogenic line TcLr19 [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37(12): 1525.