

网络出版时间:2026-04-13

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.s.20260409.1107.012

小麦干热风胁迫下相关 miRNA 的筛选及其靶基因分析

高新¹, 雷嫣², 苏豫梅², 张宏芝¹, 李少杰³, 李剑峰¹, 申有成³, 王重¹, 张跃强¹

(1. 新疆维吾尔自治区农业科学院作物研究所/农作物生物技术重点实验室/农业农村部荒漠绿洲作物生理生态与耕作重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830091; 2. 新疆农业大学生命科学学院, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 塔城地区丰源农业科技有限责任公司, 新疆塔城 834700)

摘要:为了解 miRNA 对小麦耐干热风胁迫的分子机制,以小麦干热风敏感种质新春 14 号和干热风耐受品种新春 46 号为材料,在灌浆期采用人工模拟干热风胁迫(昼温 35 °C/夜温 25 °C,相对湿度 20%,风速 5 m·s⁻¹,连续处理 5 d),结合高通量测序技术筛选差异表达 miRNA,并通过 qRT-PCR 进行验证。结果表明,共有 203 个 miRNA 参与干热风胁迫下的表达,其中共表达 miRNA 136 个。经差异筛选,最终获得 6 个核心差异表达 miRNA,分别为 novel_miR_537、novel_miR_443、novel_miR_469、novel_miR_393、novel_miR_390 和 novel_miR_339,这些 miRNA 显著富集于甘露糖型 O-聚糖的生物合成、多聚糖降解、过氧化物酶体和硒化合物代谢 4 个通路。靶基因预测揭示,这些 miRNA 靶向调控 β-1,2-木糖基转移酶、α-1,3-阿拉伯糖基转移酶、GDSL 酯酶/脂肪酶、α-L-岩藻糖苷酶、过氧化物酶等关键体膜蛋白的编码基因,参与细胞壁稳定性维持、活性氧清除及渗透调节过程。这说明小麦对干热风响应存在 miRNA 调控网络,并以“miRNA-靶基因”分子模块形式共同参与小麦对干热风胁迫的抵御过程。

关键词:小麦;干热风胁迫;miRNA;靶基因;分子调控;抗逆育种

中图分类号:S512.1;S184;S330

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2026)08-1049-10

Screening and Identification of miRNAs Related to Dry-Hot Wind Stress in Wheat and Analysis of Their Target Genes

Gao Xin¹, Lei Yan², Su Yumei², Zhang Hongzhi¹, Li Shaojie³,

Li Jianfeng¹, Shen Youcheng³, Wang Zhong¹, Zhang Yueqiang¹

(1. Institute of Crop Research, Academy of Agricultural Sciences of Xinjiang Uyghur Autonomous Region/Key Laboratory of Crop Biotechnology/Key Laboratory of Crop Ecophysiology and Farming System in Desert Oasis Region, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Urumqi, Xinjiang 830091, China; 2. College of Life Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. Fengyuan Agricultural Science and Technology Co., Ltd., Tacheng, Xinjiang 834700, China)

Abstract: To elucidate the molecular mechanism of miRNA in wheat's response to dry-hot wind stress, a sensitive germplasm Xinchun 14 and a tolerant variety Xinchun 46 were selected as materials. During the grain-filling stage, artificial simulation of dry-hot wind stress (daytime temperature 35 °C/nighttime temperature 25 °C, relative humidity 20%, wind speed 5 m·s⁻¹, continuous treatment for 5 days) was applied. High-throughput sequencing technology was used to screen differentially expressed miRNAs, followed by validation via qRT-PCR. The results showed that 203 miRNAs were involved in the expression under dry-hot wind stress, with 136 co-expressed miRNAs. After differential screening, six core differentially expressed miRNAs were ultimately identified, namely, novel_miR_537, novel_miR_443, novel_miR_469, novel_miR_393, novel_miR_390, and novel_miR_339.

收稿日期:2025-11-11

修回日期:2026-01-06

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(青年基金)项目(2022D01B159);中央引导地方科技发展专项(ZYYD2024CG04);中央引导地方科技发展专项(ZYYD2024JD18);新疆维吾尔自治区重点研发专项(2022B02001-3);新疆现代农业小麦产业技术体系项目(XJARS-01);新疆维吾尔自治区 2024 年度大学生创新训练计划项目(dxscx2024474)

第一作者 E-mail:gaixin0564@163.com(高新); leiyan7370@qq.com(雷嫣)

通讯作者 E-mail:wangzhongac@126.com(王重); zhangyqyhm@163.com(张跃强)

These miRNAs were significantly enriched in four pathways: the biosynthesis of mannose O-glycans, the degradation of polysaccharides, peroxisomes, and the metabolism of selenium compounds. Target gene predictions revealed that these miRNAs targeted and regulated key membrane protein-encoding genes, including β -1,2-xyltransferase, α -1,3-arabinosyltransferase, GDSL esterase/lipase, α -L-fucosidase, and peroxidase, and are involved in the maintenance of cell wall stability, reactive oxygen species clearance, and osmotic regulation processes. This indicates there is a miRNA regulatory network in the response of dry-hot wind in wheat, and it jointly participates in the resistance process of wheat to dry-hot wind stress in the form of a ‘miRNA-targeted gene’ molecular module.

Keywords: *Triticum aestivum*; Hot-dry wind stress; miRNA; Target genes; Molecular regulation; Stress-resistant breeding

小麦是新疆主要农作物之一,2023 年在新疆种植面积达到 120.9 万 hm^2 ,产量达到 7.028×10^6 t,约占新疆主要农作物总产量的 27.7%^[1]。干热风是一种高温、低湿并伴有一定风力的灾害性天气^[2],一般发生在小麦籽粒灌浆期,会导致小麦植株迅速失水、衰老死亡^[3]。干热风在中国华北、西北和黄淮地区小麦灌浆期间都有出现。新疆小麦生育后期干热风发生频繁,尤其是随着全球变暖,干热风的发生频率和程度均呈上升趋势^[4-6]。因此,明晰小麦对干热风的响应机制,对保障新疆小麦产业发展、国家粮食安全具有重要意义。

miRNA 是一类具有调控功能的非编码小 RNA,对植物的生长发育和逆境胁迫响应具有重要作用^[7-9]。miR398 是第一个被报道的小麦受氧化胁迫负调控的 miRNA,通过负调控 Cu/Zn 过氧化物歧化酶(Cu/Zn-superoxide dismutase, CSD)编码基因的表达,参与应对重金属、蔗糖、臭氧等非生物胁迫的响应^[10]。miR166 通过影响水稻茎秆中木质部的发育增强抗旱性,其表达与水稻对干旱胁迫的响应密切相关,其调控机制涉及植物激素信号通路的调控^[11]。研究发现,干旱胁迫会抑制大豆 miR166 的表达,导致其靶基因 *AtHBI4-like* 的表达量上调,而 *AtHBI4-like* 可激活 ABA 信号通路基因的表达来应对干旱胁迫^[12]。干热风危害的实质是高温、低湿引起农作物生理干旱^[13],因而推断高温和干旱是干热风对植物造成危害的主要原因。研究表明,miR396 对生长调节因子(GRF)编码基因的负调控被取消后,小麦和玉米叶片气孔会增大,光合作用增强,植株耐热性提升^[14];高温胁迫下,miRNA 通过抑制 *ARF10/16/17* 的表达实现对热休克蛋白(HSP)编码基因的表达调控,最终达到拟南芥耐高温的目的^[15]。由此可以看出,miRNA 可通过调控下游靶基因

的表达调控植物应对逆境胁迫。目前,关于小麦 miRNA 高通量测序研究主要集中于种子萌发、春化、根系、茎叶和籽粒上,主要是针对病原菌侵害、营养胁迫、盐分胁迫等^[16],而有关 miRNA 调控小麦应对干热风胁迫的研究未见报道。因此,挖掘与小麦抗干热风相关的 miRNAs、基因及其调控机制,对小麦抗干热风新品种的选育具有重要参考价值。

本试验以小麦干热风敏感品种新春 14 号和耐干热风品种新春 46 号为研究对象,经人工模拟干热风胁迫,运用 miRNA 高通量测序手段,筛选出与小麦耐干热风密切相关的差异表达 miRNA 及其下游靶基因,构建小麦响应干热风胁迫的“miRNA-靶基因”的分子调控网络,以期从 miRNA 角度阐明小麦耐干热风胁迫的分子机理和后期开展小麦耐干热风的遗传改良提供参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料选择

本研究以新疆农业科学院作物研究所及国家中亚特色作物种质资源中期库提供的 30 个春小麦品种为供试材料。在大田条件下,于灌浆期对各品种同步设置正常生长处理(CK)与干热风胁迫处理(DH)。干热风胁迫通过干热风模拟棚实现,具体温度维持在 $25 \sim 35$ $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 20%,轨道式鼓风机提供 $5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ 的风速。胁迫处理后,以千粒重(TKW)的相对变化量 $= (\text{DH}_{\text{TKW}} - \text{CK}_{\text{TKW}}) / \text{CK}_{\text{TKW}}$ (其中 DH 为干热风胁迫,CK 为对照)作为评价指标,对 30 个品种的耐干热风能力进行综合评估,如图 1A 所示。该指标能直接反映干热风导致灌浆受阻、籽粒皱缩的生理后果,从而为品种抗性分级提供量化依据。

1.2 样品采集

根据上述筛选结果,选取千粒重损失较小的新春46号作为干热风耐受品种,千粒重损失较大的新春14号作为干热风敏感品种。以这两个品种为研究对象,于2024年11月1日播种于人工气候室,设置昼夜光照周期为14 h/10 h,温度为22℃/17℃。栽培基质采用草炭土与蛭石按4:1(V/V)比例混合并充分浇水拌匀,装入60 cm×25 cm条形花盆中,每盆均匀播种50粒饱满种子,每个品种设12盆重复。待植株进入灌浆初期,对处理组进行模拟干热风胁迫(昼夜温度35℃/25℃、相对湿度20%、风速5 m·s⁻¹),对照组维持正常生长条件。胁迫持续5 d后,分别采集两个品种的根和籽粒各2 g,立即投入液氮中速冻,保存于-80℃超低温冰箱备用。所有处理均设置3个生物学重复。两个品种在人工气候室中干热风胁迫后的表型与对照状态如图1B所示。

1.3 RNA提取及测序

对采集的样品用RNA Mini Kit和DNase I(Thermo Fisher,美国)根据试剂盒说明提取总RNA并去除基因组DNA。通过1.0%琼脂糖电泳、NanoDrop(Thermo Fisher Scientific)和Agilent 2100生物分析仪(Agilent Technologies,美国)检测总RNA的质量。从每个处理的3个生物重复中取5 mg总RNA,用于构建小RNA文库。测序使用Illumina NovaSeq6000平台,由北京百迈客云科技有限公司完成。测序得到的原始序列去除接头,去除短于18或长于30个核苷酸的序列,去除未知碱基N含量≥10%(N为无法识别的碱基)的reads,从而得到高质量序列即clean reads。

1.4 测序数据分析

以Triticum_aestivum.iwggsc_refseqv2.1作为参考基因组,对clean reads进行序列比对,并利用Bowtie软件获取在参考基因组上的位置信息。

对小麦miRNA进行表达量分析,检测差异表达miRNA时,用DESeq2进行样品组间的差异表达分析,获得两个生物学条件之间的差异表达miRNA集;以FDR=0.01、FC=2作为miRNA差异表达筛选标准,对差异表达miRNA进行初步筛选。

1.5 新型miRNA鉴定及靶基因预测

在已知miRNA鉴定方面,允许成熟区±2 nt、上下游5 nt内1个错配,先检已知miRNA。对于未被注释的reads,提取比对位点上下游序列作为候选前体。按植物miRNA特征调整参

数;要求reads在前体上呈现mature-star-loop分布,并用RNAfold验证发夹结构。以修改后的打分阈值(降低动物偏向权重)进行miRDeep2贝叶斯评分,得分高于cutoff即判为新预测的miRNA。根据已知miRNA和新预测的miRNA与对应物种的基因序列信息,用TargetFinder软件^[17]进行靶基因预测。使用百迈客云平台在线工具(www.biocloud.net)绘制维恩图。将组装后获得的基因与5个公共数据库(Swiss-Prot、NR、KEGG、KOG和Pfam)中的蛋白质序列进行比对(阈值 $E \leq e^{-10}$)。通过序列相似性进行功能注释。借助Cytoscape-MetScape软件绘制小麦响应干热风环境的差异表达miRNA及其靶基因之间的关系。

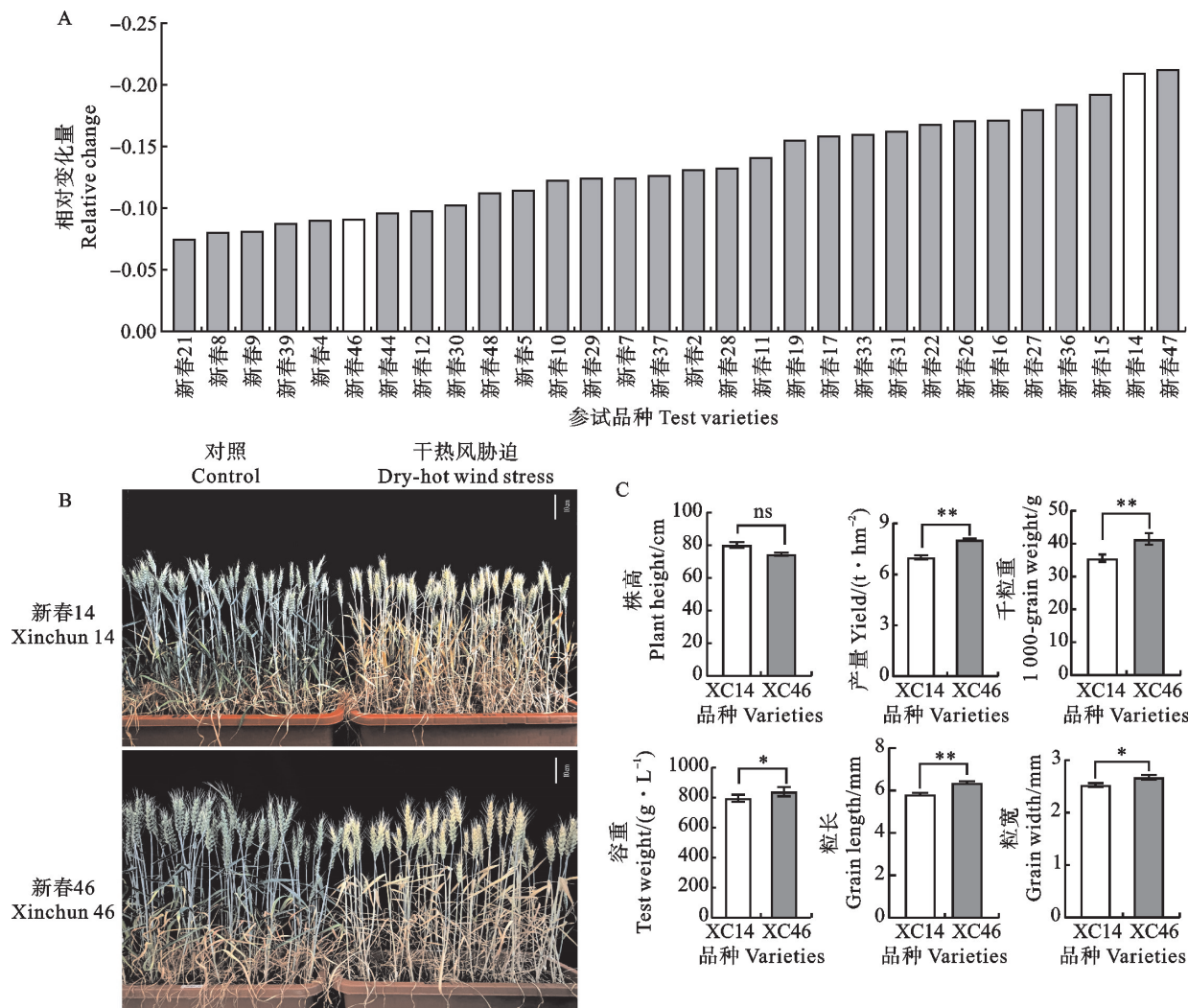
2 结果与分析

2.1 耐干热风能力鉴定及品种筛选

本研究通过比较两个春小麦品种(新春14号和新春46号)在干热风胁迫下的表型差异,鉴定其耐干热风能力。从图1C的结果可知,两个品种在株高上无显著差异($P > 0.05$),表明株高并非影响其耐干热风能力的主要因素。然而,在产量相关性状方面,新春46号表现出显著优势,其产量和千粒重均极显著高于新春14号($P < 0.01$),说明新春46号在干热风胁迫下能够较好地确保产量形成。此外,新春46号的粒长也极显著大于新春14号($P < 0.01$),而粒宽则表现出显著差异($P < 0.05$)。这些结果表明,新春46号具有较强的耐干热风能力,能够在逆境条件下保持较高的粒重和产量潜力,而新春14号则对干热风较为敏感,表现为产量和籽粒性状的显著下降。综合来看,新春46号可作为耐干热风的候选品种进一步研究,而新春14号则适合作为干热风敏感品种用于比较分析。

2.2 干热风胁迫下小麦miRNA转录组测序质量评估与相关性

对干热风胁迫下干热风敏感品种新春14和耐干热风品种新春46的供试样品进行small RNA测序,共得到512.33 M clean reads,各样品不少于1.28 M clean reads,覆盖小麦ABD全套基因组。Q30碱基百分比在97.33%及以上,测序出的miRNA包含106个已知miRNA和537个新预测miRNA。经进一步分析,本次测序的各样品组内重复性及相关性较好($r > 0.8$,图2蓝色部分),测序数据质量可靠,可满足后续miRNA表达量分析的要求。



A: 30 个品种中分别在正常处理和干热风棚进行胁迫处理,以千粒重的相对变化量为筛选依据,筛选出干热风敏感品种新春 14 和耐受品种新春 46;B:人工气候室中模拟干热风环境,新春 14 号和新春 46 号干热风胁迫前后表型差异;C:干热风胁迫后 2 个品种的主要性状差异;XC14:新春 14;XC46:新春 46;*, $P<0.05$; **, $P<0.01$ 。

A: Thirty wheat varieties were subjected to both normal growth conditions and dry-hot wind stress treatment in a stress simulation chamber. Based on the relative change in thousand-grain weight, the dry-hot wind-sensitive variety Xinchun 14 and the tolerant variety Xinchun 46 were screened; B: Phenotypic differences of Xinchun 14 and Xinchun 46 before and after dry-hot wind stress were analyzed under simulated dry-hot wind conditions in an artificial climate chamber; C: Differences in main agronomic traits between the two varieties after dry-hot wind stress treatment; XC14: Xinchun 14; XC46: Xinchun 46; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$.

图 1 干热风胁迫后春小麦品种新春 14 和新春 46 的表型差异

Fig. 1 Phenotypic differences between spring wheat cultivars Xinchun 14 and Xinchun 46 after dry-hot wind stress

2.3 干热风胁迫下新春 14 和新春 46 miRNA 表达量整体分析及差异分析

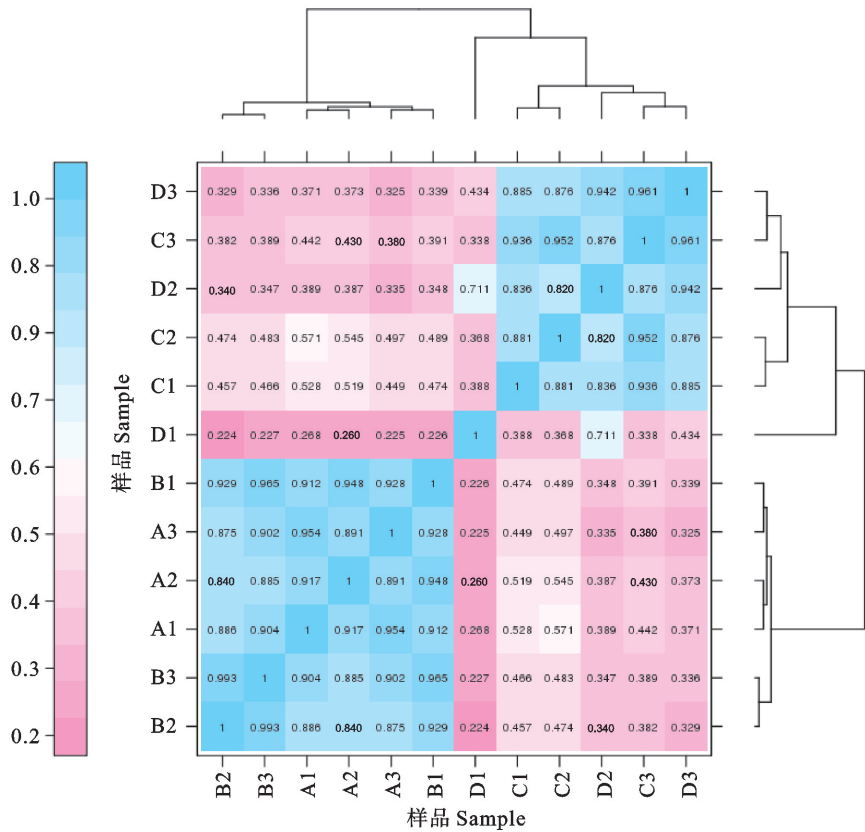
通过对 miRNA 表达量进行整体分析及差异分析,新春 14 和新春 46 在干热风胁迫条件下共有 203 个 miRNA 参与表达(图 3A)。其中,136 个 miRNA 为共表达 miRNA,约占表达 miRNA 总数的 67%;52 个 miRNA 为新春 14 号特异表达 miRNA,约占 25.62%;15 个 miRNA 为新春 46 特异表达 miRNA,约占 7.39%。以干热风敏感品种新春 14 为对照,对干热风耐受品种新春

46 中差异表达量 ≥ 2 倍的 miRNA 进行筛选,结果表明,在新春 46 中差异表达量 ≥ 2 倍且上调的 miRNA 有 5 个,下调的 miRNA 有 1 个(图 3B)。

2.4 干热风胁迫下新春 14 和新春 46 差异表达 miRNA 靶基因 GO 注释分析

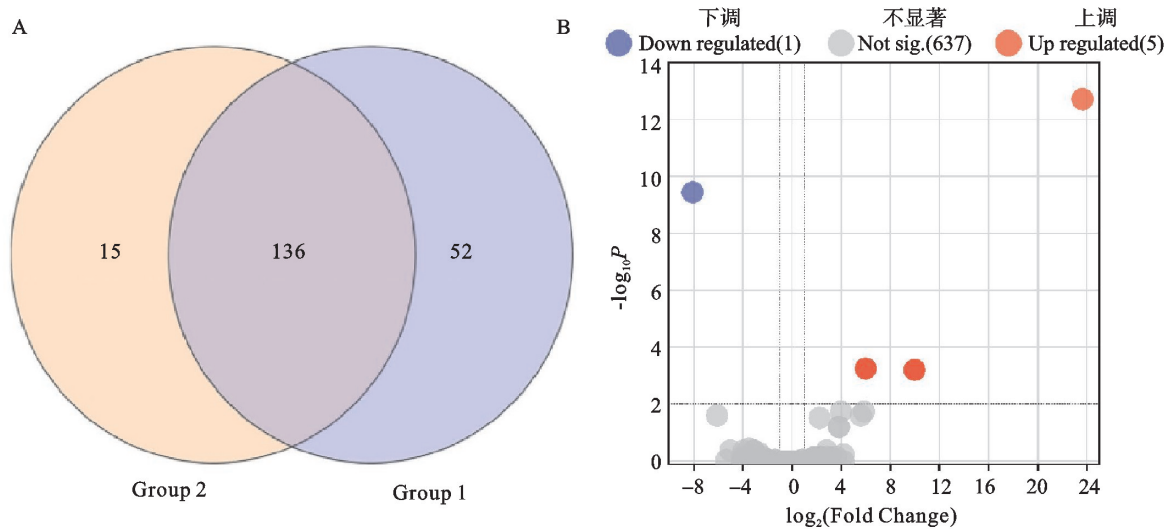
经对差异表达 miRNA 进行 GO 注释分析,干热风胁迫条件下新春 14 和新春 46 差异表达的 miRNA 主要富集到 55 个分支上,其中生物学过程 21 个分支,细胞学组成 18 个分支,分子功能 16 个分支(图 4)。通过对各分支分析,以新春 14 为对

照,新春 46 在响应干热风的生物学过程中,以代谢过程 (metabolic process, GO:0008152)、细胞过程 (cellular process, GO:0009987) 为显著富集;在细胞组成中,以细胞膜 (membrane part, GO:0044425) 和细胞器 (organelle, GO:0043226) 为显著富集;在分子功能中,以基因互作 (binding, GO:0005488) 和催化活性 (catalytic activity, GO:0003824) 为显著富集。



A1~A3:新春 14 的根;B1~B3:新春 46 的根;C1~C3:新春 14 的籽粒;D1~D3:新春 46 的籽粒。
A1-A3: Root of Xinchun 14; B1-B3: Root of Xinchun 46; C1-C3: Grain of Xinchun 14; D1-D3: Grain of Xinchun 46.

图 2 干热风胁迫下供试小麦样品 miRNA 相关性
Fig. 2 Correlation of miRNAs in wheat samples under dry-hot wind stress



Group 1:新春 14 的 miRNA 检测样本;Group 2:新春 46 的 miRNA 检测样本。
Group 1: miRNA test samples from Xinchun 14; Group 2: miRNA test samples from Xinchun 46.

图 3 干热风胁迫下供试小麦样品表达量整体分析(A)和差异分析(B)
Fig. 3 Overall expression analysis(A) and differential expression analysis(B) of wheat samples under dry-hot wind stress

2.5 干热风胁迫下新春 14 和新春 46 差异表达 miRNA KEGG 功能富集及 KEGG 聚类分析

对于干热风胁迫下新春 14 和新春 46 差异表达 miRNA 开展 KEGG 功能富集及 KEGG 聚类分析,结果(图 5)显示,与干热风敏感品种新春 14 相比,干热风耐受品种新春 46 的差异表达 miRNA 显著富集到甘露糖型-聚糖的生物合成(mannose

type O-glycan biosynthesis,ko00515)、多聚糖降解(other glycan degradation,ko00511)、过氧化物酶体代谢(peroxisome ,ko04146)和硒化合物代谢(selenium compound metabolism,ko00450)4 个生物学通路中,说明上述 4 个代谢通路显著参与耐干热风小麦新春 46 抵御外界干热风胁迫环境。

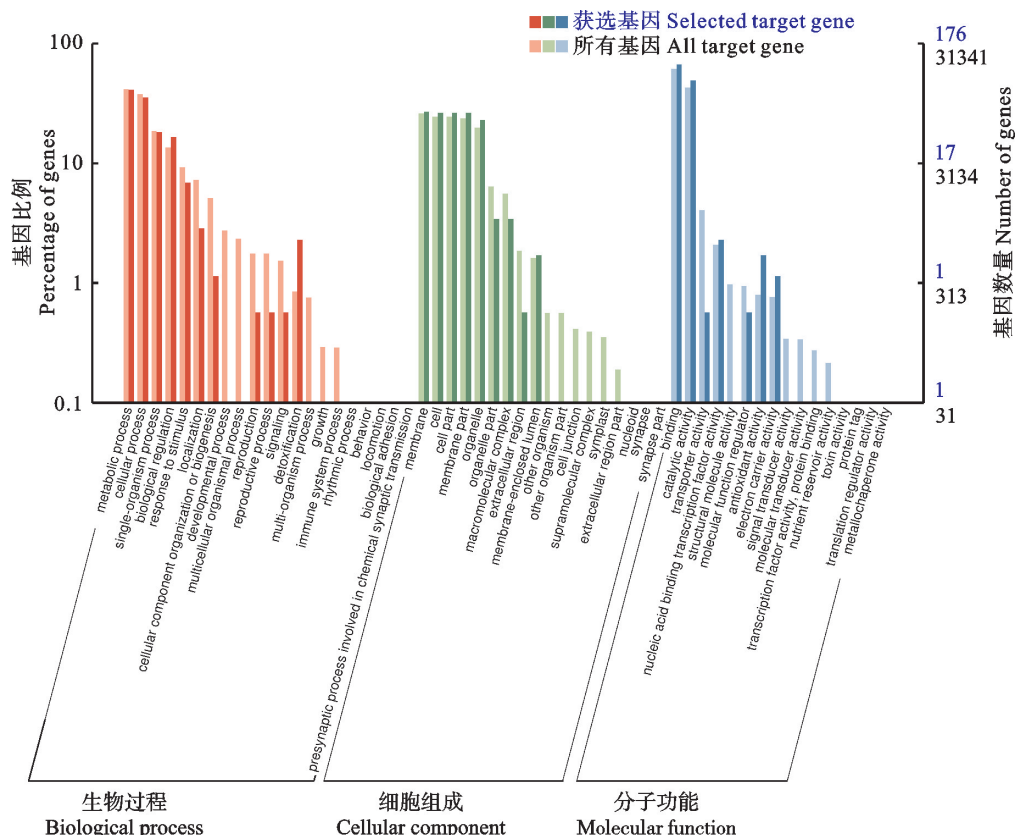


图 4 干热风胁迫下供试小麦样品差异表达 miRNA GO 注释分析

Fig. 4 GO annotation analysis of differentially expressed miRNAs in wheat samples under dry-hot wind stress

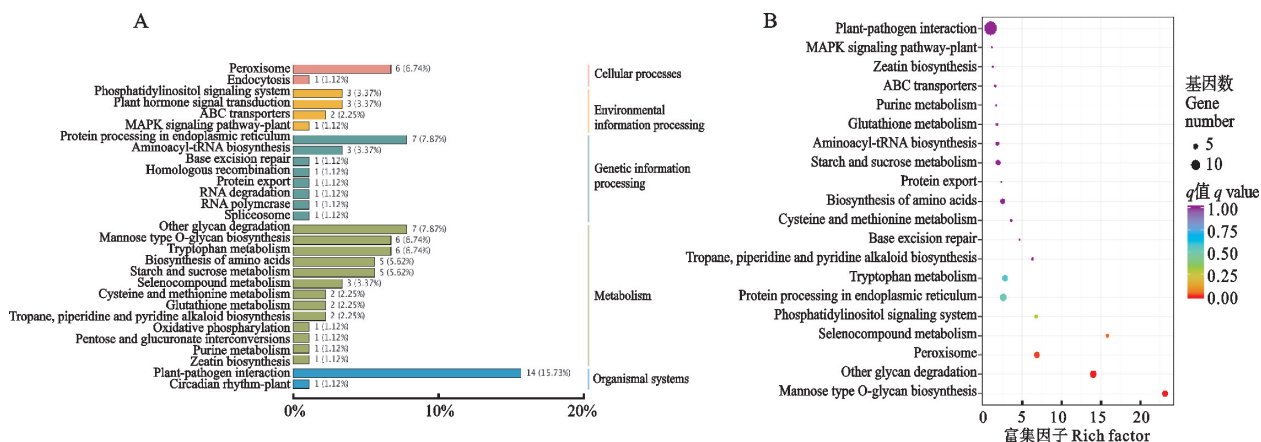


图 5 干热风胁迫下供试小麦样品差异表达 miRNA KEGG 功能富集分析(A)和 KEGG 聚类分析(B)

Fig. 5 KEGG functional enrichment analysis of differentially expressed miRNAs(A) and KEGG clustering analysis(B) of wheat samples under dry-hot wind stress

2.6 干热风胁迫下新春 14 和新春 46 差异表达 miRNA 的筛选确定及调控网络构建

以干热风敏感品种新春 14 对照,最终筛选分析获得干热风耐受品种新春 46 中的 6 个核心差异表达 miRNA 和 22 个下游靶基因(表 2)。核心差异表达 miRNA 分别是 novel_miR_537、novel_miR_469、novel_miR_443、novel_miR_393、novel_miR_390 和 novel_miR_339。

进一步借助 Cytoscape 绘制小麦响应干热风胁迫的差异表达“miRNA-靶基因”的调控网络图

(图 5)。分析发现,novel_miR_537 和 novel_miR_393 共同靶向 6 个下游基因,预测主要为 β -1,2-木糖基转移酶和 α -1,3-阿拉伯糖基转移酶基因; novel_miR_469 和 novel_miR_390 共同靶向 12 个下游基因,主要预测为 GDSL 酯酶/脂肪酶基因、 α -L4 岩藻糖苷酶基因、长链酰基辅酶 A 合成酶基因(LACS)以及过氧化物酶体膜蛋白编码基因(PMP22)。 novel_miR_443 共靶向 3 个下游基因,预测均为硫氧还蛋白还原酶基因(NTRC)。

表 2 干热风胁迫下供试小麦样品差异表达 miRNA 及下游靶基因

Table 2 Differentially expressed miRNAs and their downstream target genes underdry-hot wind stress

通路 Pathway	miRNA 类型 1 miRNA type 1	miRNA 类型 2 miRNA type2	Regulated 上下调	Target gene 靶向基因	Prediction function 预测功能
甘露糖型 O-聚糖生物合成 Mannose type O-glycan biosynthesis (ko00515)	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS5A03G0141700	β -1,2-木糖基转移酶 XYXT1-like Beta-1,2-xylosyltransferase XYXT1-like
	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS5B03G0152100	β -1,2-木糖基转移酶 XYXT1-like Beta-1,2-xylosyltransferase XYXT1-like
	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS5D03G0163100	β -1,2-木糖基转移酶 XYXT1-like Beta-1,2-xylosyltransferase XYXT1-like
	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS6A03G0809100	α -1,3-阿拉伯糖基转移酶 XAT3 Alpha-1,3-arabinosyltransferase XAT3
	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS6B03G0959800	α -1,3-阿拉伯糖基转移酶 XAT3 Alpha-1,3-arabinosyltransferase XAT3
	novel_miR_537	novel_miR_393	上调 Up	TraesCS6D03G0684400	α -1,3-阿拉伯糖基转移酶 XAT3 Alpha-1,3-arabinosyltransferase XAT3
其他聚糖降解 Other glycan degradation (ko00511)	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS1A03G0007900	GDSL 酯酶/脂肪酶 At5g45910-like GDSL esterase/lipase At5g45910-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS1D03G0003000	GDSL 酯酶/脂肪酶 At5g45910-like GDSL esterase/lipase At5g45910-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCSU03G0242700	GDSL 酯酶/脂肪酶 At5g45910-like GDSL esterase/lipase At5g45910-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS7A03G0946300	α -L-岩藻糖苷酶 2-like Alpha-L-fucosidase 2-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS7B03G0790900	α -L-岩藻糖苷酶 2-like Alpha-L-fucosidase 2-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS7D03G0912000	alpha-L-fucosidase 2-like α -L-岩藻糖苷酶 2-like
过氧化物酶体 Peroxisome (ko04146)	novel_miR_339		上调 Up	TraesCS6B03G0874800	GDSL 酯酶/脂肪酶 At1g28600-like GDSL esterase/lipase At1g28600-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS1A03G0181600	长链酰基辅酶 a 合成酶 1-like Long chain acyl-CoAsynthetase 1-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS1B03G0248900	长链酰基辅酶 a 合成酶 1-like Long chain acyl-CoAsynthetase 1-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS1D03G0178000	长链酰基辅酶 a 合成酶 1-like Long chain acyl-CoAsynthetase 1-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS5A03G0155300	过氧化物酶体膜蛋白 PMP22-like Peroxisomal membrane protein PMP22-like
	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS5B03G0175200	过氧化物酶体膜蛋白 PMP22-like Peroxisomal membrane protein PMP22-like
硒化合物代谢 Seleno compound metabolism (ko00450)	novel_miR_469	novel_miR_390	上调 Up	TraesCS5D03G0176300	过氧化物酶体膜蛋白 PMP22-like Peroxisomal membrane protein PMP22-like
	novel_miR_443		下调 Down	TraesCS2A03G0270600	硫氧还蛋白还原酶 NTRC Thioredoxin reductase NTRC
	novel_miR_443		下调 Down	TraesCS2B03G0373200	硫氧还蛋白还原酶 NTRC Thioredoxin reductase NTRC
	novel_miR_443		下调 Down	TraesCS2D03G0281600LC	硫氧还蛋白还原酶 NTRC Thioredoxin reductase NTRC

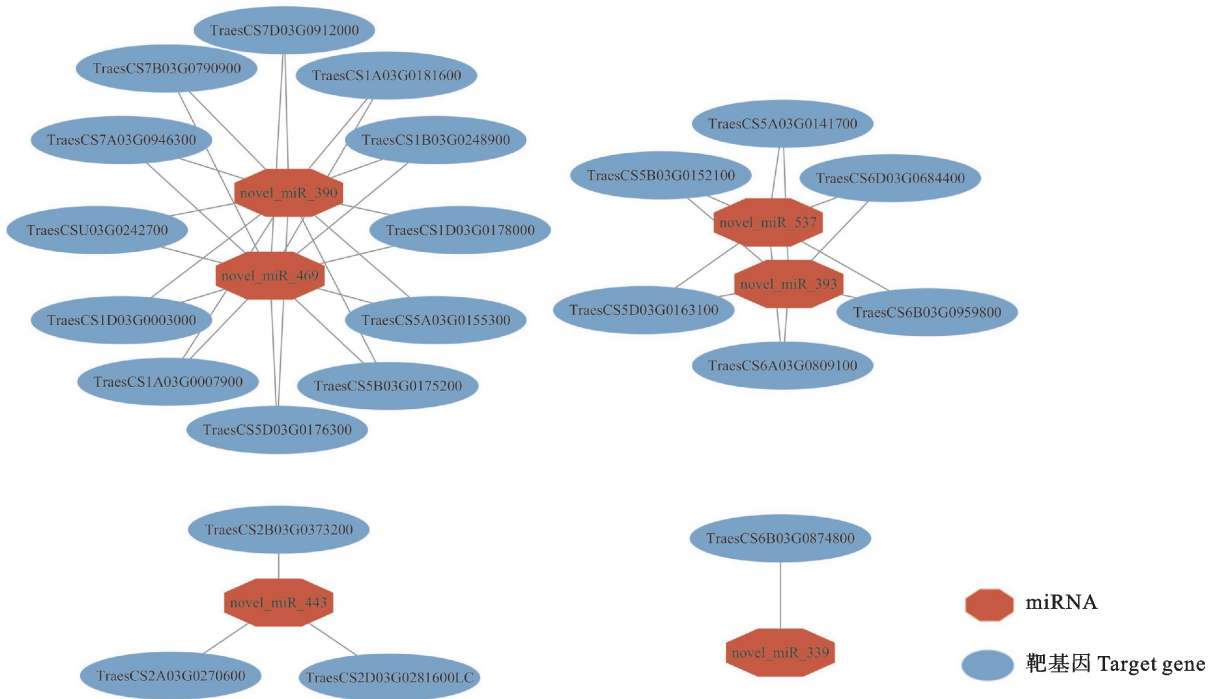


图 6 小麦干热风胁迫相关“miRNA-靶基因”分子调控网络图

Fig. 6 Molecular regulatory networks of miRNA-target gene interactions associated with wheat dry-hot wind stress

3 讨论

3.1 耐干热风核心差异 miRNA 及其对胁迫的响应

本研究成功筛选出 novel_miR_537、novel_miR_443、novel_miR_469、novel_miR_393、novel_miR_390 和 novel_miR_339 等 6 个在干热风胁迫下表达量发生显著变化的核心 miRNA。值得注意的是,这些 miRNA 均为新预测的 miRNA,表明小麦响应干热风这类特定复合胁迫的 miRNA 调控网络尚存在大量未被揭示的环节。小麦中有许多非保守的、物种特异性的 miRNA 往往在特定逆境应答中扮演关键角色。这些 miRNA 的表达变化可能是耐干热风品种新春 46 相较于敏感品种新春 14,能够更有效激活下游防御机制、维持细胞稳态的遗传基础。比如 novel_miR_537 被归类为 miR159 家族,而 miR159 家族是植物中高度保守的核心调控模块,不仅深度参与水稻花粉发育、籽粒形成等生殖过程的调控,还在抗病(水稻稻瘟病)、耐旱等逆境响应中发挥重要作用^[18],通过靶向调控 GAMYB/MYB 类等下游靶基因,协同调节植物对内源激素信号的响应与对外界逆境的适应。novel_miR_393 隶属于 miR172 家族,是植物中一个高度保守的微小 RNA(miRNA)家族,其成员通过靶向 APETALA2(AP2)、AP2-

like 等转录因子,在调控大豆生长发育阶段转换、花器官形成以及响应非生物胁迫等方面发挥核心作用,其功能具有显著的时空特异性和成员功能分化特征^[19]。

3.2 miRNA 靶向的关键代谢通路在抗逆中的协同作用

KEGG 富集分析揭示,差异 miRNA 显著富集于甘露糖型 O-聚糖的生物合成、多聚糖降解、过氧化物酶体代谢和硒化合物代谢通路。这 4 个通路并非孤立运作,而是构成了一个协同的防御体系,具有以下 3 个方面的作用。(1)糖代谢与细胞结构维护:甘露糖型 O-聚糖和多聚糖是细胞壁的重要组成部分。在干热风胁迫导致的生理干旱下,维持细胞壁的完整性和可塑性对于防止细胞坍塌至关重要。本研究中 novel_miR_537 和 novel_miR_393 靶向木糖基转移酶和阿拉伯糖基转移酶,它们是维持多聚糖完整性的关键^[20],提示该通路通过加固细胞壁来增强机械强度和保水能力。(2)过氧化物酶体与活性氧(ROS)清除:过氧化物酶体是细胞内 ROS 代谢的关键细胞器。干热风胁迫会破坏植物体内的氧化还原平衡,导致 ROS 爆发^[21]。本研究发现,novel_miR_469 和 novel_miR_390 靶向过氧化物酶体膜蛋白基因(PMP22),它的稳定性对于过氧化物酶体行使

正常功能、维持 ROS 稳态至关重要^[22]。miRNA 通过对 *PMP22* 等基因的调控,可能间接增强了新春 46 的抗氧化损伤能力(表 2)。(3)硒化合物代谢的辅助防御:硒作为谷胱甘肽过氧化物酶的辅基成分,在抗氧化代谢中发挥重要作用,硒化合物代谢通路的富集暗示了新春 46 可能通过增强硒依赖的抗氧化系统来辅助清除过量 ROS,这与 Mohsenzadeh G M 等^[23]关于抗氧化系统在干旱胁迫中起关键作用的结论相对应。

3.3 关键“miRNA-靶基因”模块的分子功能

本研究构建的调控网络清晰地揭示了 2 个关键的“miRNA-靶基因”功能模块。(1)细胞壁与细胞膜加固模块: novel_miR_537/393→XylT/AraT 和 novel_miR_469/390→GDSL/LACS 构成了双重加固防线。前者作用于细胞壁多糖合成,后者则与细胞膜脂质代谢密切相关。LACS 基因参与角质和蜡质的生物合成,能有效减少非气孔性水分流失^[24-25];GDSL 酯酶/脂肪酶基因在调控 ROS 积累和热耐受性中起作用^[26]。该模块共同致力于减少水分流失、气孔闭合,维持细胞结构稳定。(2)氧化还原稳态调控模块: novel_miR_443→NTRC 构成了一个精细的氧化还原调控开关。硫氧还蛋白系统是植物中重要的抗氧化系统,NTRC(NADPH 依赖性硫氧还蛋白还原酶)在维持叶绿体 ROS 稳态中扮演核心角色^[20]。在干热风伴随的高光强胁迫下,该模块对于防止光氧化损伤、保护光合机构具有重要意义。

3.4 未来研究方向

本研究首次系统地从小麦 miRNA 层面揭示了小麦响应干热风胁迫的分子网络,但仍存在一些有待深入探索的问题。本研究鉴定出的均为新 miRNA,其前体序列、二级结构及其在 AGO 蛋白中的装载情况尚需实验验证。本研究中比较了干热风敏感小麦品种新春 14 与干热风耐受小麦品种新春 46 之间的差异表达 miRNA 及其靶基因,不同部位之间的差异表达 miRNA 靶向通路及其靶基因是否与其他激素信号通路(如 ABA、JA)存在交叉对话,也是一个值得深入探究的方向。且这些 miRNA 与靶基因之间的调控关系,仍需通过双荧光素酶报告基因检测、RT-qPCR 验证共表达关系等分子实验加以证实。另外,这些模块未来的研究可集中于利用转基因或基因编辑技术,在模式植物或小麦中对关键 miRNA(如 novel_miR_443 或 novel_miR_469)进一步做功能获

得或功能缺失研究,直接验证其在干热风耐受性中的作用。

4 结论

本研究利用转录组学技术,在干热风耐受小麦品种新春 46 中发现 6 个响应干热风胁迫的核心差异表达 miRNA,分别是 novel_miR_537、novel_miR_469、novel_miR_443、novel_miR_393、novel_miR_390 和 novel_miR_339,它们分别并靶向木糖基转移酶类、阿拉伯糖基转移酶类、酯酶/脂肪酶类、长链酰基辅酶 A 合成酶类、过氧化物酶体膜蛋白类和硫氧还蛋白还原酶类共 22 个靶向基因,以“miRNA-靶基因”分子模块形式共同参与小麦对于干热风胁迫的响应及抵御过程。

参考文献:

- [1]方 辉,丁银灯,范贵强,等. 新疆南疆小麦产业发展的现状及品质特性分析[J]. 新疆农业科学,2024,61(S1):75.
Fang H,Ding Y D,Fan G Q,*et al.* Research report on the development status of wheat industry in southern Xinjiang [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*,2024,61(S1):75.
- [2]霍治国,尚 莹,邬定荣,等. 中国小麦干热风灾害研究进展[J]. 应用气象学报,2019,30(2):129.
Huo Z G,Shang Y,Wu D R,*et al.* Review on disaster of hot dry wind for wheat in China [J]. *Journal of Applied Meteorological Science*,2019,30(2):129.
- [3]霍 锦,余惠乔,张仕明,等. 新疆巴州地区小麦干热风时空变化特征及风险区划[J]. 中国农学通报,2024,40(32):135.
Huo J,Yu H Q,Zhang S M,*et al.* Spatiotemporal change characteristics and risk zoning of wheat dry hot wind in Bazhou of Xinjiang [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*,2024,40(32):135.
- [4]Shi B,Zhu X,Li H,*et al.* Analysis of how dry-hot wind hazard has changed for winter wheat in the Huang-Huai-Hai plain [J/OL]. *Natural Hazards and Earth System Sciences Discussions*,2016. <https://doi.org/10.5194/nhess-2015-330>.
- [5]Mehrabi Z,Ramankutty N. The cost of heat waves and droughts for global crop production [J]. *BioRxiv*,2017. <https://doi.org/10.1101/188151>.
- [6]黄 麒. 我国小麦生产现状及发展对策[J]. 河南农业,2025(1):52.
Huang Q. Present situation and development countermeasures of wheat production in China [J]. *Agriculture of Henan*,2025(1):52.
- [7]路笃贤,张严妍,刘 艳,等. 非编码 RNA 在植物生长发育及逆境响应中的研究进展[J]. 植物学报,2024,59(5):709.
Lu D X,Zhang Y Y,Liu Y,*et al.* Recent advances of non-coding RNA in plant growth,development and stress response [J]. *Chinese Bulletin of Botany*,2024,59(5):709.
- [8]周文杰,张文瀚,贾 玮,等. 植物 miRNA 响应非生物胁迫研究

- 进展[J]. 植物学报, 2024, 59(5): 810.
- Zhou W J, Zhang W H, Jia W, *et al.* Advances in plant miRNAs responses to abiotic stresses [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2024, 59(5): 810.
- [9] 魏政亚, 嵇雨萌, 刘媛媛, 等. 植物 microRNA 参与逆境胁迫的研究进展[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2024, 36(3): 64.
- Wei Z Y, Ji Y M, Liu Y Y, *et al.* Research progress on the involvement of plant microRNAs in stress [J]. *Journal of Hunan University of Arts and Science (Science and Technology)*, 2024, 36(3): 64.
- [10] 梅琳, 徐庆华, 苍晶, 等. 冬小麦 miR398 前体的克隆及其在低温条件下对靶基因 *CSD1* 表达的调控[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(11): 1419.
- Mei L, Xu Q H, Cang J, *et al.* Cloning of winter wheat pre-miR398 and expression analysis of target gene *CSD1* under cold stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2016, 36(11): 1419.
- [11] Othman S M I S, Mustafa A F, Che othman M H, *et al.* Overview of repressive miRNA regulation by short tandem target mimic (STTM): Applications and impact on plant biology [J]. *Plants*, 2023, 12(3): 669.
- [12] Zhao C, Ma J J, Yan C, *et al.* Drought-triggered repression of miR166 promotes drought tolerance in soybean [J]. *The Crop Journal*, 2024, 12(1): 154.
- [13] 解树斌, 曹新有, 刘建军, 等. 高温与干热风对小麦的影响及其防控措施[J]. 山东农业科学, 2013, 45(3): 126.
- Xie S B, Cao X Y, Liu J J, *et al.* Effects of high-temperature and hot-dry wind on wheat and preventative measures [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2013, 45(3): 126.
- [14] 张同祥. 小麦和玉米 miR396 基因功能研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023.
- Zhang T X. Study on the function of miR396 gene in wheat and maize [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2023.
- [15] Hao K, Wang Y, Zhu Z P, *et al.* miR160: An indispensable regulator in plant [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 833322.
- [16] Alptekin B, Langridge P, Budak H. Abiotic stress miRNomes in the *Triticeae* [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2017, 17(2-3): 145.
- [17] Allen E, Xie Z, Gustafson A M, *et al.* MicroRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants [J]. *Cell*, 2005, 121: 217.
- [18] Chen J F, Zhao Z X, Li Y, *et al.* Fine-tuning roles of Osa-miR159a in rice immunity against *Magnaporthe oryzae* and development [J]. *Rice*, 2021, 14(1): 26.
- [19] Wang Y, Wang L, Zou Y, *et al.* Soybean miR172c targets the repressive AP2 transcription factor NNC1 to activate ENOD40 expression and regulate nodule initiation [J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(12): 4785.
- [20] 李洪振, 宋金鹏, 刘东升, 等. 小麦 miRNA 研究进展[J]. 山东农业科学, 2016, 48(6): 147.
- Li H Z, Song J P, Liu D S, *et al.* Research progress of miRNA in wheat [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2016, 48(6): 147.
- [21] Jiang N, Wiemels R E, Soya A, *et al.* Composition, assembly, and trafficking of a wheat xylan synthase complex [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(4): 1999.
- [22] 付晨熙, 肖自华, 高飞, 等. 干旱胁迫下蒙古沙冬青叶片蛋白质组学研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(6): 69.
- Fu C X, Xiao Z H, Gao F, *et al.* Proteomics analysis of *Amomopiptanthus mongolicus* leaves under drought stress [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(6): 69.
- [23] Mohsenzadeh Golfazani M, Taghvaei M M, Samizadeh Lahiji H, *et al.* Investigation of proteins' interaction network and the expression pattern of genes involved in the ABA biogenesis and antioxidant system under methanol spray in drought-stressed rapeseed [J]. *3 Biotech*, 2022, 12(9): 217.
- [24] Ayaz A, Huang H D, Zheng M L, *et al.* Molecular cloning and functional analysis of GmLACS₂₋₃ reveals its involvement in cutin and suberin biosynthesis along with abiotic stress tolerance [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9175.
- [25] Wang X C, Tian X, Zhang H R, *et al.* Genome-wide analysis of the maize LACS gene family and functional characterization of the *ZmLACS9* responses to heat stress [J]. *Plant Stress*, 2023, 10: 100271.
- [26] Su R, Luo J K, Wang Y F, *et al.* GDSL lipase gene *HTAI* negatively regulates heat tolerance in rice seedlings by regulating reactive oxygen species accumulation [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(5): 592.