网络出版时间:2025-12-05 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.06.017

耐盐砧木‘抗砧3号’对葡萄微嫁接苗光合作用的影响

来英[1],乃国洁[2],闫浩凯[2],马蕾[2],李胜[1,2,3],马绍英[4]

(1 甘肃农业大学 生命科学技术学院,甘肃 兰州 730070;2 甘肃农业大学 园艺学院,甘肃 兰州 730070;3 甘肃省干旱生境作物学重点实验室,甘肃 兰州 730070;4 甘肃农业大学 实验室与实践基地管理中心,甘肃 兰州 730070)

[摘 要] 【目的】系统分析盐胁迫下葡萄耐盐砧木微嫁接苗光合作用的生理及分子响应机制,揭示耐盐砧木微嫁接调控葡萄耐盐性的潜在机制。【方法】以‘黑比诺’盐敏感葡萄为接穗,耐盐的‘抗砧3号’为砧木,通过微嫁接操作获得嫁接苗,将‘黑比诺’自根苗、‘抗砧3号’自根苗及嫁接苗3种葡萄苗移栽到花盆中生长30 d后,用200 mmol/L NaCl处理6 d,测定并比较盐胁迫下‘黑比诺’自根苗和嫁接苗叶片的光合气体交换参数(P_n、G_s、T_r、C_i)、相对叶绿素含量(SPAD)和叶绿素荧光参数(F_0、F_m、F_v/F_m)的变化,并通过转录组测序分析‘黑比诺’自根苗和嫁接苗差异表达基因(DEGs)及其响应特征,基于GO数据库和KEGG数据库对DEGs进行基因功能注释,选择6个DEGs进行RT-qPCR分析,以验证其与转录组数据的匹配性。【结果】在200 mmol/L NaCl处理6 d后,与‘黑比诺’自根苗相比,嫁接苗P_n、G_s、T_r、C_i、SPAD、F_0、F_m、F_v/F_m分别显著提升了101.2%,51.9%,51.4%,81.1%,40.7%,58.4%,51.5%和26.9%。盐胁迫下嫁接苗和‘黑比诺’接穗自根苗共有2 704个共同DEGs。这些DEGs主要富集于生物过程、分子功能和细胞组分3大类别,显著富集于光合作用-天线蛋白通路、光合作用通路和光合生物中的碳固定等通路,光合通路中关键基因*LHCA6*、*LHCA5*、*LHCB4.1*、*LHCB5*、*ATPG*、*ATPD*、*ATPC*、*GAPC2*和*GAPC*在嫁接苗中显著上调表达。RT-qPCR表明,盐胁迫下嫁接苗中关键差异基因*LHCA5*、*LHCB5*、*ATPD*、*ATPC*、*GAPC2*、*GAPCP1*的相对表达水平与转录组测序TPM值变化趋势一致,佐证了转录组数据的可靠性。【结论】在盐胁迫条件下,葡萄嫁接苗光合通路中关键基因上调表达,光能捕获、电子传递效率和ATP/NADPH合成增强,Calvin循环中的碳固定过程得到优化,光能利用效率与碳固定能力增强,光合性能得到显著改善。

[关键词] 葡萄;耐盐砧木;微嫁接;盐胁迫;光合作用;叶绿素荧光;转录组分析

[中图分类号] S663.1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)06-0170-11

Effects of salt-tolerant rootstock ‘Kangzhen No. 3’ on photosynthesis of micro-grafted seedlings of grapevine

LAI Ying[1], NAI Guojie[2], YAN Haokai[2], MA Lei[2], LI Sheng[1,2,3], MA Shaoying[4]

(1 *College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*; 2 *College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*; 3 *Gansu Provincial Key Lab of Arid Land Crop Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*; 4 *Management Center of Laboratories and Practical Bases, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*)

Abstract: 【Objective】 This research aims to systematically analyze the physiological and molecular response mechanisms of photosynthesis in salt-tolerant grape rootstock micro-grafted seedlings under salt stress,

[收稿日期] 2025-04-25 [修回日期] 2025-10-07
[基金项目] 中央引导地方科技发展资金项目(25ZYJA033);甘肃省重点人才项目(2023RCXM23)
[作者简介] 来英(1999—),女,甘肃天祝人,在读硕士,主要从事植物逆境信号生理研究。E-mail:ly182281@163.com
[通信作者] 李胜(1970—),男,甘肃定西人,教授,博士,博士生导师,主要从事植物逆境信号生理和次生代谢调控研究。E-mail:lish@gsau.edu.cn

to reveal the potential mechanisms by which salt-tolerant rootstock micrografting regulates grape salt tolerance.【Method】With ‘Pinot Noir’, a salt-sensitive grape variety, as the scion and ‘Kangzhen No. 3’, which was salt-tolerant, as the rootstock, grafted seedlings were obtained through micrografting operations. Three types of grape seedlings, including ‘Pinot Noir’ own-rooted seedlings, ‘Kangzhen No. 3’ own-rooted seedlings, and grafted seedlings, were transplanted into flowerpots and cultivated for 30 days, then they were treated with 200 mmol/L NaCl for 6 days. The changes in photosynthetic gas exchange parameters (P_n, G_s, T_r, C_i), relative chlorophyll content (SPAD), and chlorophyll fluorescence parameters (F_0, F_m, F_v/F_m) in the leaves of own-rooted ‘Pinot Noir’ seedlings and grafted seedlings under salt stress were determined and compared. Transcriptome sequencing was performed to analyze the differentially expressed genes (DEGs) and their response characteristics between own-rooted ‘Pinot Noir’ seedlings and grafted seedlings. Gene functional annotations of DEGs were conducted based on the GO database and KEGG database. Six DEGs were selected for RT-qPCR analysis to verify their consistency with the transcriptome data.【Result】After 6 days of treatment with 200 mmol/L NaCl, P_n, G_s, T_r, C_i, SPAD, F_0, F_m and F_v/F_m of the grafted seedlings were significantly increased by 101.2%, 51.9%, 51.4%, 81.1%, 40.7%, 58.4%, 51.5% and 26.9% respectively, compared with those of the own-rooted seedlings of ‘Pinot Noir’. Transcriptome sequencing analysis revealed 2 704 common DEGs between grafted seedlings and ‘Pinot Noir’ own-rooted seedlings under salt stress. GO functional annotation showed that these DEGs were mainly enriched in three categories: biological processes, molecular functions, and cellular components. KEGG analysis indicated that they were significantly enriched in pathways such as photosynthesis-antenna proteins pathway, photosynthesis pathway, and pathway of carbon fixation in photosynthetic organisms. Key genes in photosynthetic pathways, including *LHCA6*, *LHCA5*, *LHCB4.1*, *LHCB5*, *ATPG*, *ATPD*, *ATPC*, *GAPC2*, and *GAPC*, were significantly upregulated in grafted seedlings. The RT-qPCR results showed that the relative expression levels of key DEGs *LHCA5*, *LHCB5*, *ATPD*, *ATPC*, *GAPC2*, and *GAPCP1* in grafted seedlings under salt stress were consistent with the change trends of TPM values in transcriptome sequencing, confirming the reliability of the transcriptome data.【Conclusion】Under salt stress conditions, key genes in the photosynthetic pathway of grafted seedlings were up-regulated, enhancing light energy capture, electron transport efficiency, and ATP/NADPH synthesis, optimizing the carbon fixation process in the Calvin cycle, improving light energy utilization and carbon fixation capacity, which indicated that the photosynthetic performance was significantly enhanced.

Key words: grapevine; salt-tolerant rootstock; micro-grafting; salt stress; photosynthesis; chlorophyll fluorescence; transcriptome analysis

据估算，全球约20%的灌溉土地受到盐渍化的影响，已对葡萄（*Vitis vinifera* L.）种植构成了重大威胁[1]。在盐胁迫条件下，葡萄光合作用会发生一系列复杂反应，净光合速率（P_n）和气孔导度（G_s）会逐渐下降，并在经历最初的急剧降低后最终趋于稳定[2]；G_s降低又限制了CO_2的吸收，进而导致P_n下降，扰乱碳同化过程[3]；蒸腾速率（T_r）降低是葡萄对盐胁迫的一种适应性反应，较低的蒸腾作用会减少水分的流动，从而将盐分在叶片组织（尤其是气孔处）的积累降至最低[4]。同时，在盐胁迫下，光合色素成分的变化也会进一步影响光合效率[5]。叶绿素含量降低会削弱植物的捕光能力，限制光合能量转换[6]。另外，盐胁迫还会显著影响叶片的叶绿素荧光特性。研究表明，盐胁迫会导致水稻最大光化学效率（F_v/F_m）下降，显示光系统Ⅱ（PSⅡ）的光能转换效率和电子传递能力受到抑制[7]。

面对盐渍化对葡萄光合系统的严重威胁，通过砧木嫁接改善葡萄耐盐性成为研究热点。近年来，学者们发现不同葡萄砧木对盐害的缓解能力表现各异，导致其对盐的敏感程度存在差异[8]。对多种葡萄品种的耐盐性分析显示，在NaCl胁迫下，‘抗砧3号’、‘101-14’和‘贝达’为耐盐品种，而‘5BB’、‘3309M’和‘SO4’则被视为盐敏感品种[9]。选择适合的耐盐砧木进行嫁接能够显著增强接穗的抗逆性[8,10]。微嫁接是一种将植物组织培养和嫁接相结合的技术[11]，该技术在1962年由MURASHIGE

等[12]以柑橘属植物茎尖的病毒根除和植株再生为目标提出。这种技术显著提高了试验的成功率和重复性,减少了试验所需的时间和资源消耗[13],能够有效避免病虫害,并且不受季节和空间的限制[14]。同时,微嫁接结合转录组测序技术,能从基因表达层面解析盐胁迫下光合响应的分子机制,可为耐盐砧穗组合的筛选提供转录水平的理论依据。

现有研究多聚焦于盐胁迫对葡萄砧木的单因素影响及外源物质调控机制等方面,而基于盐胁迫下耐盐砧木微嫁接对接穗光合响应机制影响的研究仍较为匮乏。本研究以葡萄耐盐砧木'抗砧3号'与盐敏感葡萄品种'黑比诺'接穗自根苗及其嫁接苗为材料,通过系统分析盐胁迫下光合作用相关生理及分子层面的变化,揭示耐盐砧木通过微嫁接调控葡萄光合作用以增强其耐盐性的机制,以期为制定葡萄盐胁迫防控策略、推动葡萄产业的可持续发展及创新逆境生理学理论提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用盐敏感型酿酒葡萄'黑比诺'(*Vitis vinifera* L.,'Pinot Noir')作为接穗,高耐盐性'抗砧3号'试管苗作为砧木,二者组合既符合"敏感-耐逆"的砧穗互作研究模型,又对应盐渍化土壤优质品种栽培的实际需求。微嫁接以生长20~30 d的健壮'黑比诺'组培苗为接穗,取中下部单芽茎段,去叶留芽;以生长30~40 d的健壮'抗砧3号'组培苗为砧木,取中下部单芽茎段,去叶去芽;在超净工作台上,用解剖刀(23号手术刀片)和劈接法进行无菌嫁接操作,嫁接苗用1.0 cm×0.5 cm的铝箔锡纸进行绑缚,插入GS培养基直立培养。在培养基中生长30 d后,分别对嫁接苗以及'黑比诺'、'抗砧3号'组培苗进行炼苗移栽,移栽过程参考戴彩虹[15]的方法进行。

1.2 试验设计

移栽到花盆的3种葡萄苗,定期浇灌霍格兰(Hoagland's)营养液,生长30 d后进行盐胁迫处理。处理细节如下:对嫁接苗(HK)、'黑比诺'接穗自根苗(HBN)、'抗砧3号'砧木(K3)自根苗进行200 mmol/L NaCl盐胁迫处理。200 mmol/L NaCl盐胁迫浓度基于团队前期研究成果[16]确定,该浓度既能稳定诱导葡萄产生明显盐胁迫响应,又可避免浓度过高导致植株快速死亡,保障耐盐性差异的有效观测。根据植物盐胁迫分级标准,此浓度属于中度胁迫,利于激发植株耐盐机制并区分不同材料的耐盐能力。本研究中6 d处理时间经前期预试验验证,该时长在设定的盐浓度条件下可显著诱导目标苗木的生理响应,从而确保试验设计的科学性与研究结论的有效性。盐胁迫处理组每2 d向每株葡萄幼苗根际均匀施加200 mL盐溶液,未经盐胁迫组每2 d向每株葡萄幼苗根际浇施200 mL霍格兰营养液。每个处理4株葡萄植株,3次生物学重复,处理第6天时收集叶片混样样本0.5 g,得到未经盐胁迫组(CK)和盐胁迫组(NaCl)植物材料。以盐胁迫6 d后的HBN为对照,分析盐胁迫6 d后HK的各项指标。

1.3 活体叶片光合参数测定

1.3.1 光合气体交换参数 采用美国CID Bio-Science公司的CI-340光合检测系统,测定叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)和胞间二氧化碳浓度(C_i)。测定过程中,光量子通量密度维持在1 000 μmol/(m²·s),参比室中的CO_2浓度控制在(360±20) μmol/mol,叶室温度稳定保持在(25.0±0.5) ℃。选取植株顶部3~5片叶进行测定,每株测定1片叶,每个处理重复3株。

1.3.2 相对叶绿素含量 相对叶绿素含量用TYS-B手持式叶绿素测定仪(浙江托普云农科技股份有限公司)测定。选取植株顶部3~5片叶进行测定,每株测定1片叶,每个处理重复3株。

1.3.3 叶绿素荧光参数 采用FluorPen FP110/D分离叶夹式手持式叶绿素荧光仪(北京易科泰生态技术有限公司),测定叶绿素荧光参数初始荧光(F_0)、最大荧光产量(F_m)以及最大光化学量子产量(F_v/F_m)。测定前活体叶片需进行20 min的暗适应处理。选取植株顶部3~5片叶进行测定,每株测定1片叶,每个处理重复3株。

1.4 转录组测序

为确保数据的可靠性与结果的准确性,针对每个样本类型均设置了3个生物学重复。在文库构建阶段,通过琼脂糖凝胶电泳分析叶片RNA完整性及DNA污染情况,用Nanodrop检测RNA纯度(OD_{260}/OD_{280}和OD_{260}/OD_{230}),用Agilent 2100评估RNA完整性以把控RNA的样本质量,随后利用Illumina Novaseq X Plus对合格文库进行高通量测序。FDR(false discovery rate)是错误发现率,用于衡量差异结果中假阳性的比例,其值越小表示结果越可靠;

FC（fold change）表示倍数的变化，以“处理组表达量/对照组表达量”计算，体现两组表达量的差异，其中 $|\log_2 FC|>1$ 为上调表达，$|\log_2 FC|<1$ 为下调表达。

1.5　RT-qPCR 分析

为了验证转录组测序结果，选取盐胁迫下嫁接苗中显著上调表达的 *LHCA*5、*LHCB*5、*ATPD*、*ATPC*、*GAPC*2 和 *GAPCP*1 6 个差异基因进行 RT-qPCR 分析，以验证其与转录组数据的匹配性。反转录过程按照 FastKing gDNA Dispelling RT SuperMix 试剂盒（天根生化科技有限公司）的说明进行。RT-qPCR 则采用 Talent qPCR PreMix（天根生化科技有限公司）和 LightCycler® 96 实时定量 PCR 仪（Roche）进行，基因特异性引物详见表 1。基因相对表达量通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析，以 *VvGAPDH* 作为参考基因。每个基因进行 3 次技术重复，以确保结果的可靠性和准确性。TPM（transcripts per kilobase million）是对测序数据进行长度校正和文库大小校正后的相对表达量指标。

表 1　RT-qPCR 分析中使用的引物及序列

Table 1　Primer and sequences used in RT-qPCR analysis

基因名称 Gene name	序列（5’→3’） Primer sequences (5’→3’)	基因名称 Gene name	序列（5’→3’） Primer sequences (5’→3’)
*LHCA*5-F	TGCCAGCCTGATTTCTCCCTAC	*ATPC*-R	CGGTGTGACTATTGCGACTACG
*LHCA*5-R	TCCCTCGCTTCACAGACTTGG	*GAPC*2-F	TCATTCAAGAAGCAAGGACACCAG
*LHCB*5-F	CAGCCACAGGAGGAGAAGGAG	*GAPC*2-R	GCCTCCAAGTCATCAGAGTCTAATG
*LHCB*5-R	AGGTTCTTAGTCATCTTGGTTCCATAC	*GAPCP*1-F	GGGAAGGCGACTCAGGAGAAG
ATPD-F	GCCACGGATGCTGCCAAC	*GAPCP*1-R	ATCCGAACCTATCAACGATTCAACC
ATPD-R	GTATAATGTCCACACTCTCCTCCAAC	*GAPDH*-F	AACGAGAAGGAATACAAGCCAGAAC
ATPC-F	GCACGGAATATAGGAGCATCAGG	*GAPDH*-R	ATAAGACCCTCCACAATGCCAAATC

1.6　数据处理

用 SPSS 26.0 软件对试验数据进行统计与分析，并采用邓肯新复极差法进行差异显著性检验（$P<0.05$）。用 Excel 2024 处理数据，使用 GraphPad Prism 8.0 和 TBtools 2.11 绘制图表，用 Adobe Illustrator 2024 编辑图片。

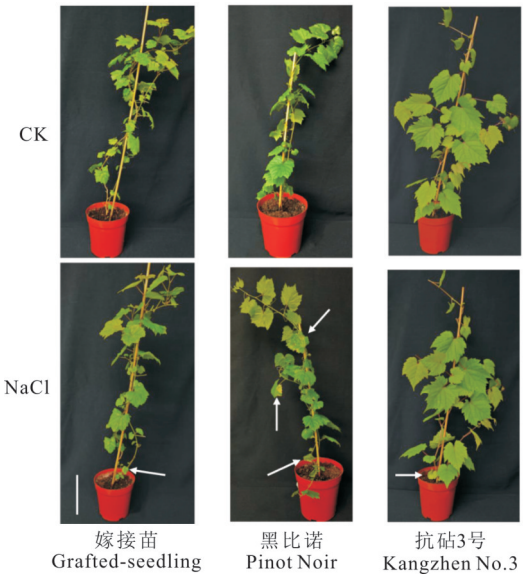
2　结果与分析

2.1　‘抗砧 3 号’微嫁接对盐胁迫葡萄植株表型的影响

图 1 显示，200 mmol/L NaCl 处理 6 d 后，与‘黑比诺’（HBN）相比，嫁接苗（HK）表现出更好的生长状态，仅有少数叶片出现轻微黄化症状（图中箭头所指为黄化叶片，相关表型未呈现出特别显著的特征，拍摄时未捕捉到 HBN 掉落的黄化叶片）。在试验设计中，共对 24 株葡萄植株进行盐胁迫处理，HK、HBN、‘抗砧 3 号’（K3）3 种幼苗出现明显黄化等盐害表型的比率分别为 25.0%，62.5% 和 12.5%。

2.2　‘抗砧 3 号’微嫁接对盐胁迫葡萄叶片光合作用的影响

2.2.1　气体交换参数　图 2 显示，在 CK 条件下，HK 植株叶片的 P_n 稍高于 HBN，T_r、G_s、C_i 均显著高于 HBN；在 200 mmol/L NaCl 处理下，与 HBN 相比，HK 和 K3 植株叶片的 P_n、T_r、G_s、C_i 均显著升高，其中 HK 植株的升幅分别为 101.2%，51.4%，51.9% 和 81.1%。

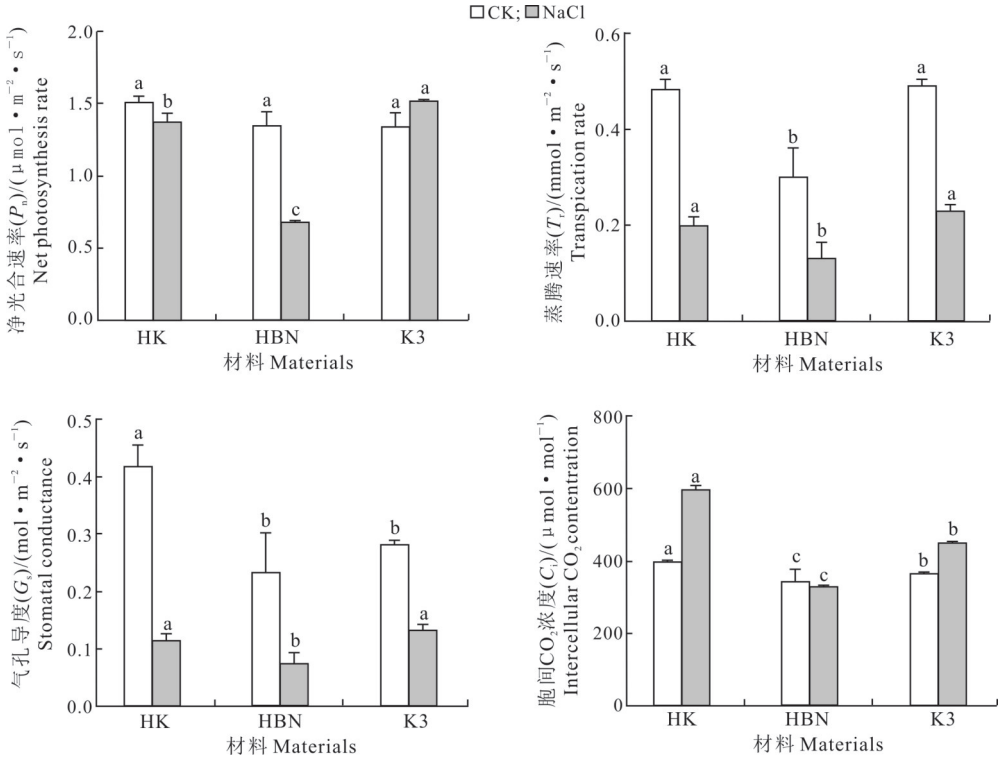


CK. 未进行盐处理；NaCl. 200 mmol/L NaCl 盐胁迫处理。下同。箭头所指为黄化叶片。花盆高度为 15 cm。

CK. No salt treatment; NaCl. Salt stress treatment with 200 mmol/L NaCl. The same below. The arrows point to yellowing leaves. The height of flowerpots was 15 cm.

图 1　盐胁迫处理下不同类型葡萄幼苗表型比较

Fig. 1　Phenotypic comparison of different types of grape seedlings under salt stress



HK.‘黑比诺’接穗与‘抗砧3号’砧木嫁接苗;HBN.‘黑比诺’自根苗;K3.‘抗砧3号’自根苗。

各处理均设3次生物学重复,数据以“平均值±标准差”表示。图柱上的不同小写字母表示相同处理不同材料间差异显著($P<0.05$)。下同。

HK. Grafted seedlings of ‘Pinot Noir’ and ‘Kangzhen No. 3’;HBN. Own-rooted seedlings of ‘Pinot Noir’;K3. Own-rooted seedlings of ‘Kangzhen 3’. Three biological replicates were set for each treatment, and the data were expressed as “mean±standard deviation”. Different lowercase letters on the bars indicate significant differences among different materials under the same treatment ($P<0.05$). The same below.

图2 盐胁迫下‘抗砧3号’微嫁接后葡萄叶片光合特性参数的变化

Fig. 2 Changes in photosynthetic characteristic parameters of grape leaves after micro-grafting with ‘Kangzhen No. 3’ under salt stress

2.2.2 相对叶绿素含量 图3表明,HK植株叶片的SPAD值在CK条件下稍高于HBN植株,但未达到显著水平,而在200 mmol/L NaCl处理6 d后显著高于HBN植株,增幅为40.7%。

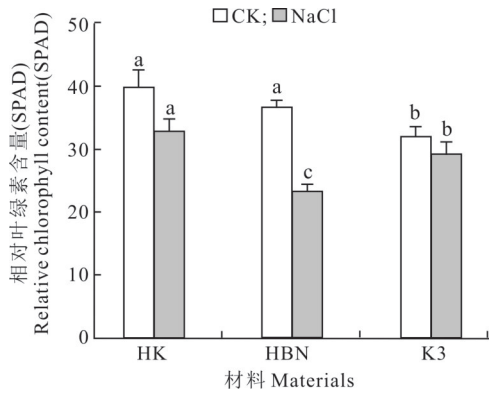


图3 盐胁迫下‘抗砧3号’微嫁接后葡萄叶片相对叶绿素含量的变化

Fig. 3 Changes in the relative chlorophyll content of grape leaves after micro-grafting of ‘Kangzhen 3’ under salt stress

2.2.3 叶绿素荧光参数 由图4可见,HK植株叶片的荧光参数在CK和NaCl处理下均显著高于相应的HBN植株,其叶片的F_0、F_m和F_v/F_m在200 mmol/L NaCl处理6 d后较HBN分别显著升高58.4%,51.5%,26.9%。

2.3 盐胁迫下‘黑比诺’葡萄及其嫁接苗叶片差异表达基因(DEGs)分析

2.3.1 转录组测序数据质量分析 对1.2节收集到的叶片样本进行转录组测序。将每个样品的干净读数与葡萄参考基因组进行比对,结果显示匹配效率为88.16%~95.27%。

2.3.2 DEGs分析 以FDR<0.05和$|\log_2FC|>1$为筛选标准,绘制韦恩图(图5)分析显示,HK处理组与对照组(HK_{CK} vs HK_{NaCl})及HBN处理组与对照(HBN_{CK} vs HBN_{NaCl})2个比较组共有2 704个共同差异表达基因。

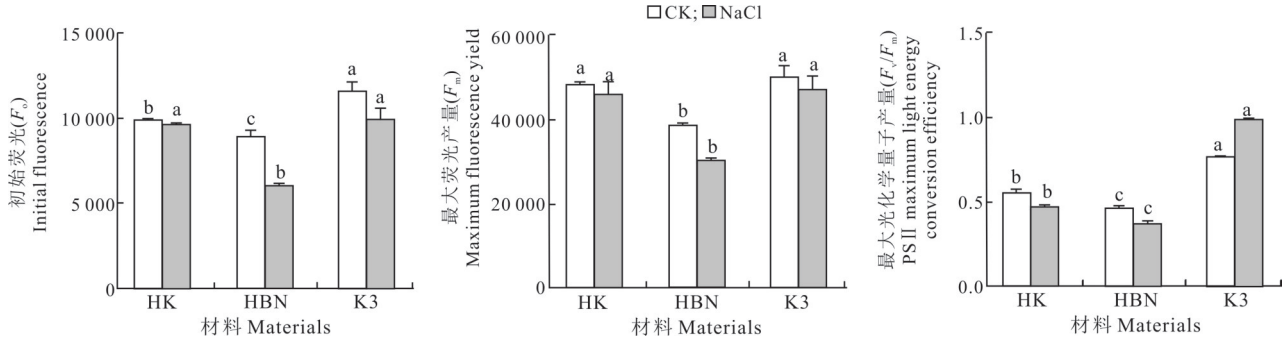


图 4　盐胁迫下‘抗砧 3 号’微嫁接后葡萄叶片叶绿素荧光参数的变化

Fig. 4　Changes in chlorophyll fluorescence parameters of grape leaves after micro-grafting with ‘Kangzhen No. 3’ under salt stress

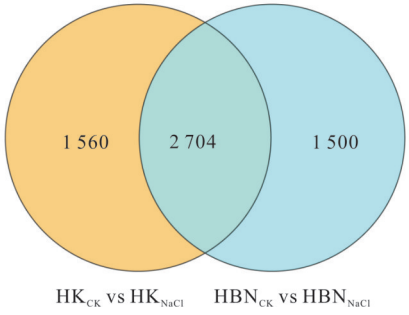


图 5　‘黑比诺’葡萄自根苗及其与‘抗砧 3 号’的嫁接苗差异表达基因的筛选韦恩图

Fig. 5　Venn diagram for screening DEGs between own-rooted seedlings of ‘pinot noir’ grape and its grafted seedlings with ‘Kangzhen No. 3’

2.3.3　叶片 DEGs 的 GO 富集分析　对 2 个比较组中的 2 704 个 DEGs 进行 GO 富集分析,结果(图 6)显示,这些 DEGs 涵盖生物过程、分子功能和细胞组分 3 大主要类别。在生物过程方面,富集的功能包括光合作用、光合作用光捕获和叶绿素代谢过程等,能够帮助葡萄在应对盐胁迫时维持能量供应和代谢平衡。在分子功能方面,显著富集的功能包括叶绿素结合和叶绿素酶活性等,这些功能在葡萄应对盐胁迫中协同作用,通过维持光合作用效率、调节叶绿素代谢和增强抗氧化能力,帮助植株适应高盐环境,减轻盐胁迫对生长发育的不利影响。在细胞组分方面,富集的功能包括光系统、光合膜和叶绿体等,能够帮助葡萄维持光合效率和细胞稳态。总体而言,2 704 个 DEGs 在植株生物过程、分子功能和细胞组分方面均显著富集于与光合作用、叶绿素代谢及抗氧化响应的相关功能,这些功能共同协作,帮助葡萄在盐胁迫条件下维持能量供应、代谢平衡和细胞稳态,从而增强其抗逆性和适应性。

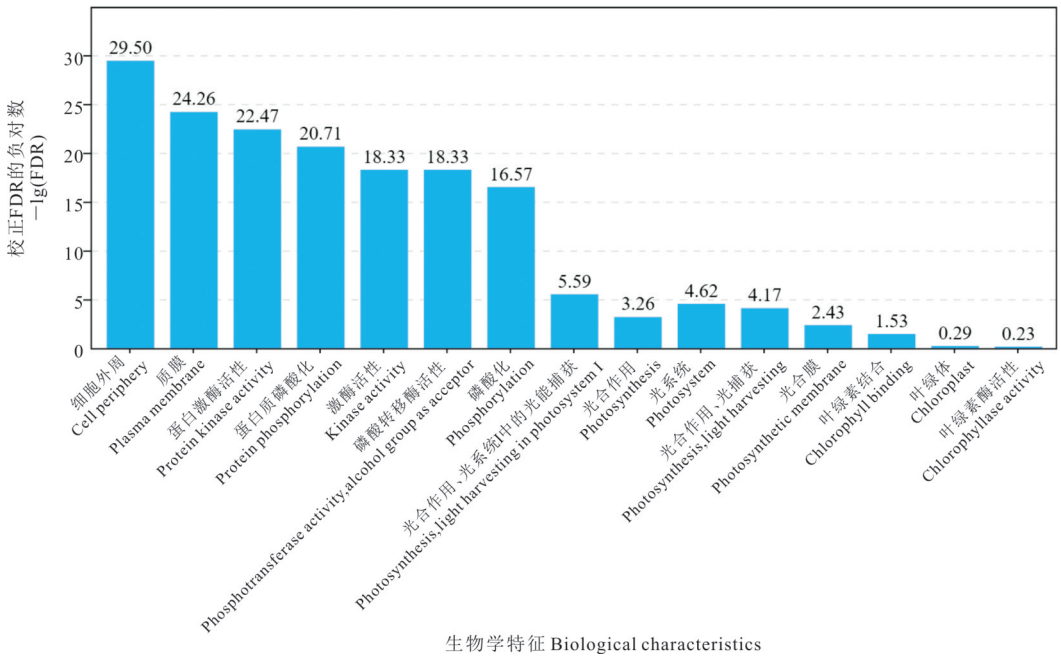
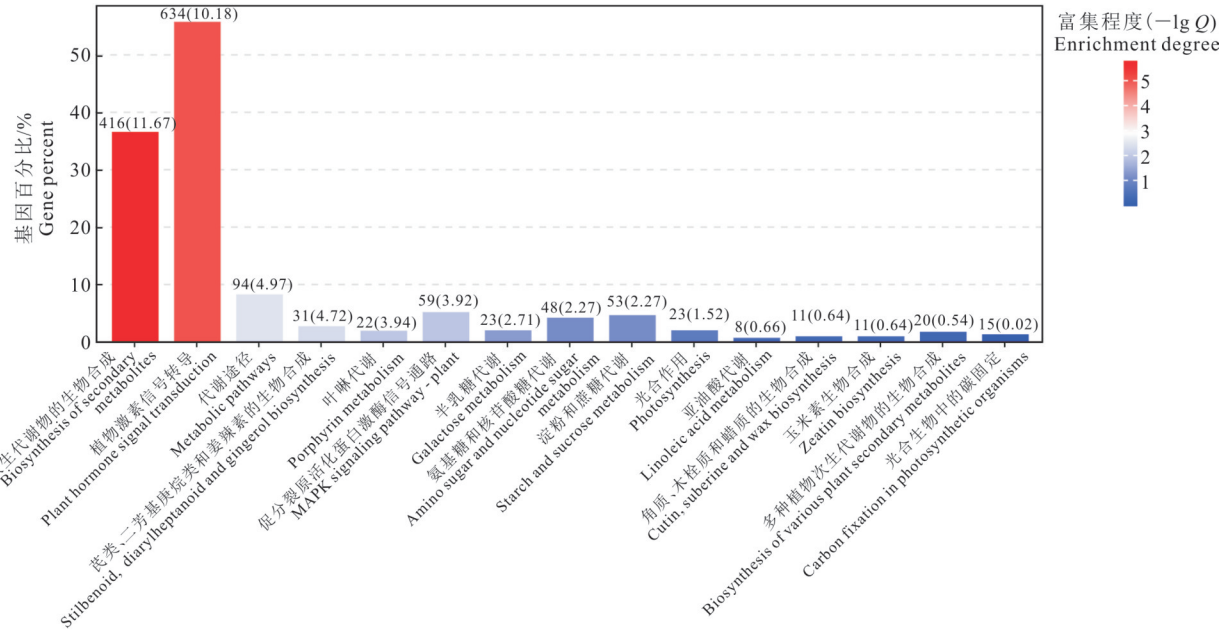


图 6　盐胁迫下‘黑比诺’自根苗和嫁接苗叶片 DEGs 的 GO 富集分析

Fig. 6　GO enrichment analysis of DEGs in leaves of own-rooted ‘Pinot Noir’ seedlings and grafted seedlings under salt stress

2.3.4 叶片DEGs的KEGG富集分析 对2 704个共同DEGs进行KEGG通路富集分析,结果(图7)显示,光合作用相关基因显著富集于光合作用-天线蛋白通路、光合作用通路和光合生物中的碳固定通路等。该结果表明,葡萄在应对盐胁迫时,光合作用相关通路可能发挥了关键作用。光合作用-天线蛋白通路的富集表明,盐胁迫可能影响了葡萄叶片中光能的捕获和传递效率。光合作用通路的显著富集证实了盐胁迫对葡萄植株光合作用过程的广泛影响,包括光系统Ⅱ和Ⅰ的功能、电子传递链以及ATP合成等关键步骤可能都受到不同程度的调控。此外,光合生物中碳固定通路的富集提示,在盐胁迫条件下,葡萄植株需要重新调整碳同化策略,以维持光合作用效率和碳代谢平衡。进一步的研究可以聚焦于这些通路中关键基因的表达调控机制及其相互作用网络等方面。



图中柱子顶端数字表示富集到Pathway内的目标基因数,括号内的数字表示检验值(−lg(FDR))。

The numbers at the top of the columns in the figure represent the number of target genes enriched in the pathway, and the numbers in parentheses indicate the test values (−lg(FDR)).

图7 盐胁迫下'黑比诺'自根苗和嫁接苗叶片DEGs的KEGG富集分析

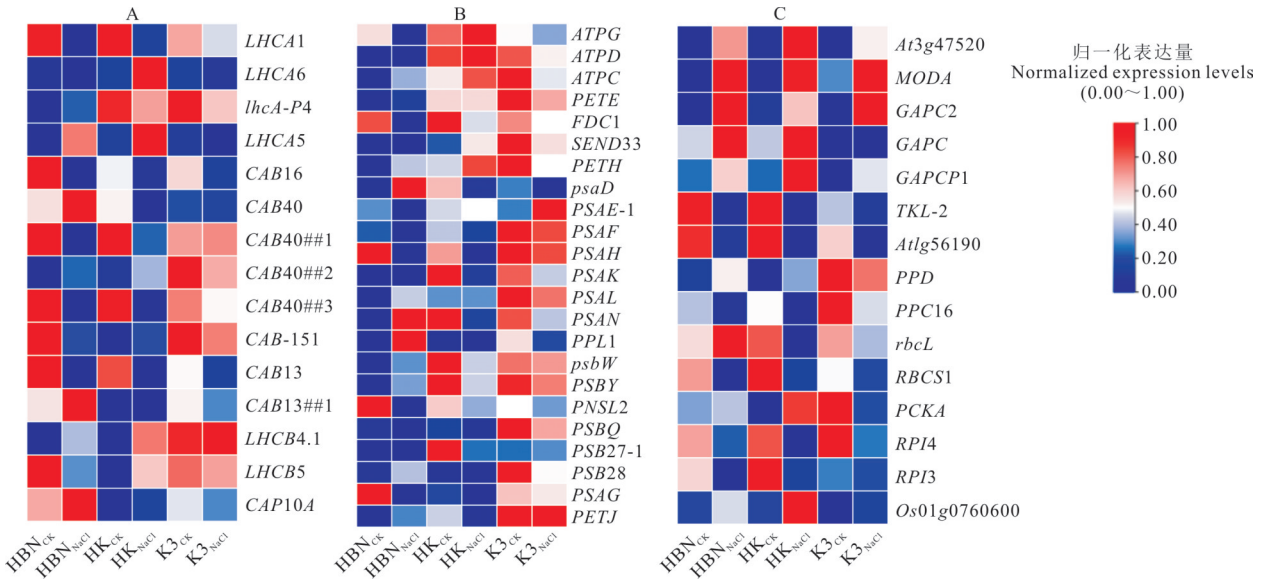
Fig. 7 KEGG enrichment analysis of DEGs in the leaves of own-rooted 'Pinot Noir' seedlings and grafted seedlings under salt stress

2.3.5 光合作用相关DEGs的分析 光合作用-天线蛋白通路主要涉及光能的捕获和传递,DEGs集中在编码天线蛋白的基因上,这些基因的差异表达可能影响光能的吸收,进而影响光合作用的整体效率。编码叶绿素a/b结合蛋白的基因,在光系统Ⅱ(PSⅡ)和光系统Ⅰ(PSⅠ)中起关键作用。光合作用相关DEGs的热图分析结果(图8-A)显示,*LHCA6*、*LHCA5*、*LHCB4.1*、*LHCB5*基因在嫁接苗中的表达显著上调,表明编码叶绿素a/b结合蛋白的这些基因在光能捕获和传递过程中发挥了重要作用。

光合作用通路涵盖了光合作用的整个过程,包括光反应和暗反应。本研究中上调表达的基因与光合作用中的能量转换和电子传递过程密切相关。图8-B显示,编码ATP合酶亚基的基因*ATPG*、*ATPD*、*ATPC*在嫁接苗中显著上调表达,其负责将质子梯度势能转化为ATP,增强了ATP的合成能力。编码质体蓝素的基因*PETH*在嫁接苗中显著上调表达,其负责将电子从细胞色素b6f复合体传递到PSⅠ。总体而言,通过增强ATP合成和电子传递的效率来优化光合作用的光反应过程,使葡萄能够更高效地利用光能,生成更多的ATP和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate,NADPH),从而为暗反应(卡尔文循环)提供充足的能量和还原力。

光合作用中的碳固定通路是植物将无机碳(CO_2)转化为有机碳(如糖类)的核心代谢过程,主要通过Calvin循环实现。图8-C显示,编码甘油醛

-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）的基因 *GAPC*2 和 *GAPC* 在嫁接苗中显著上调表达，二者是卡尔文循环中的关键酶，负责催化 1，3-二磷酸甘油酸（1，3-bisphosphoglyceric acid，1，3-BPGA）还原为甘油醛-3-磷酸（glyceraldehyde-3-phosphate，G3P），同时生成 $NADP^+$；编码甘油醛-3-磷酸代谢相关酶的基因 *GAPCP*1 在嫁接苗中也显著上调，进一步优化了卡尔文循环中 G3P 的利用效率，确保碳固定过程的顺利进行。总体来看，光合作用中碳固定通路的相关 DEGs 显著增强了 Calvin 循环中碳固定和代谢的效率。



A. 光合作用-天线蛋白通路；B. 光合作用通路；C. 光合作用中的碳固定通路。HBN_{CK}. ‘黑比诺’对照；HBN_{NaCl}. ‘黑比诺’盐胁迫处理；HK_{CK}. 嫁接苗对照；HK_{NaCl}. 嫁接苗盐胁迫处理；$K3_{CK}$. ‘抗砧 3 号’对照；$K3_{NaCl}$. ‘抗砧 3 号’盐胁迫处理。

A. Photosynthesis-antenna protein pathway；B. Photosynthesis pathway；C. Pathway of carbon fixation in photosynthesis. HBN_{CK}. ‘Pinot Noir’ as the control；HBN_{NaCl}. ‘Pinot Noir’ under salt stress treatment；HK_{CK}. Grafted seedling as the control；HK_{NaCl}. Grafted seedling under salt stress treatment；$K3_{CK}$. ‘Kangzhen No. 3’ as the control；$K3_{NaCl}$. ‘Kangzhen No. 3’ under salt stress treatment.

图 8　光合作用相关差异表达基因的热图分析

Fig. 8　Heatmap analysis of photosynthesis-related DEGs

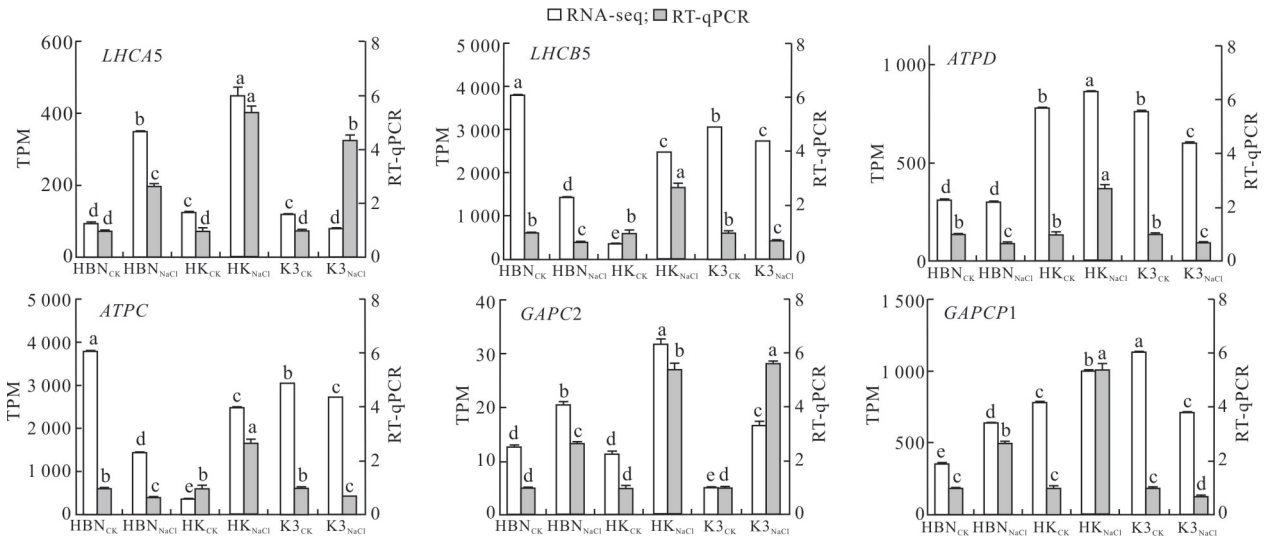
2.3.6　RT-qPCR 分析　分别从 2.3.5 节的 3 个通路中，选取盐胁迫条件下嫁接苗中显著上调表达的 6 个差异基因，即 *LHCA*5、*LHCB*5、*ATPD*、*ATPC*、*GAPC*2、*GAPCP*1 等进行 RT-qPCR 验证，结果（图 9）发现，这些基因的相对表达水平与转录组测序得到的 TPM 值表现出相似的趋势，进一步证实了转录组数据的可靠性。

3　讨论与结论

不同品种葡萄的耐盐性存在差异，选用优良抗性砧木可提升接穗的抗盐性。研究发现，‘抗砧 3 号’属耐盐类型砧木[10]。在 NaCl 胁迫下，葡萄砧木通常表现为光合速率降低、气孔阻力升高[17-18]，本研究结果也表现出一致的规律。本研究表明，与未经盐胁迫处理相比，NaCl 胁迫处理后‘黑比诺’自根苗叶片的光合气体交换参数（P_n、G_s、T_r、C_i）、相对叶绿素含量及叶绿素荧光参数（F_0、F_m、F_v/F_m）均显著降低。以往研究表明，叶片光合速率的降低主要受气孔因素与非气孔因素的共同调控[1, 19]。在盐胁迫初期，气孔限制是导致光合速率下降的主要因素。这是因为盐胁迫引发渗透胁迫，使植株处于生理干旱状态，水势降低导致气孔关闭，细胞间隙的 CO_2 减少，最终抑制了光合作用的正常进行[20]。判断这一情况的主要依据，为盐胁迫下植株叶片的 C_i 和 G_s 同时下降[21-22]。在本试验中，在盐胁迫处理 6 d 后，与‘黑比诺’接穗自根苗相比，嫁接苗葡萄叶片 P_n、G_s 和 C_i 的降低幅度更小，说明耐盐砧木微嫁接能够有效提升葡萄嫁接苗对盐胁迫的适应能力。

叶绿素在植物光合作用的能量捕获与传递环节扮演着极为关键的角色[23]，其含量多少直接关联着植物光合作用的效率，进而对植物的生长发育进程产生重要影响[24]。通常情况下，盐胁迫会导致植物光合色素含量大幅降低[25]。在本研究中，当处于盐胁迫 6 d 时，相较于‘黑比诺’自根苗，嫁接苗中的

叶绿素含量下降幅度更小,表明耐盐砧木微嫁接能够削弱盐胁迫对葡萄叶绿素代谢酶活性的负面作用,减轻盐胁迫对叶绿素降解的影响以及对叶绿素合成的阻碍,使葡萄在盐胁迫环境下仍能维持较强的光合能力。



TPM. 转录组测序基因的相对表达量;RT-qPCR. 实时荧光定量PCR基因的相对表达量。

图柱上的不同小写字母表示材料间差异显著($P<0.05$)。

TPM. Relative expression levels of genes in transcriptome sequencing; RT-qPCR. Relative expression levels of genes in real-time quantitative PCR. Different lowercase letters on the bars in each figure indicate significant differences among materials ($P<0.05$).

图9 盐胁迫下葡萄叶片中6个关键DEGs的RT-qPCR验证

Fig. 9 RT-qPCR validation of 6 key DEGs in grape leaves under salt stress

植物叶绿素荧光参数蕴含着大量与PSⅡ反应中心原初光化学反应相关的关键信息[26]。F_v/F_m表示PSⅡ的潜在最大光化学量子产量[27-28]。本研究中,在盐胁迫处理6 d后,与'黑比诺'自根苗相比,嫁接苗叶片F_0、F_m以及F_v/F_m的降低幅度更小,说明利用耐盐砧木进行微嫁接能够有效减轻盐胁迫对PSⅡ反应中心的损害,增强葡萄嫁接苗植株在盐胁迫环境下的耐受性[29]。

本研究中,光合作用相关基因*ATPG*、*ATPD*、*PETH*和*ATPC*的上调表达,揭示了盐胁迫下葡萄光合作用光反应阶段的适应性调控机制。*ATPG*、*ATPD*和*ATPC*基因分别编码ATP合酶的γ、δ和ε亚基,是光反应中ATP合成的关键组分[30-31]。其上调表达表明,盐胁迫下植物通过增强ATP合酶的活性来维持较高的ATP生成效率,以支持碳固定和其他代谢过程对能量的需求[32]。与此同时,*PETH*基因编码质体蓝素,在光合电子传递链中负责将电子从细胞色素b6f复合体传递至PSⅠ[33]。其上调表达优化了电子传递效率,确保PSⅠ和PSⅡ之间的电子传递更加顺畅,从而减少能量损失并维持较高的光化学反应效率[34]。此外,ATP和NADPH的协同生成是光反应的核心目标,ATP合酶活性的增强和电子传递效率的提升共同促进了NADPH的合成,为卡尔文循环提供了充足的还原力[35-36]。这些基因的协同上调表达,反映了植物在盐胁迫下通过增强ATP和NADPH的合成效率来维持光合作用光反应功能的适应性策略。

综上所述,本研究通过测定葡萄盐敏感接穗'黑比诺'自根苗及其与耐盐砧木'抗砧3号'嫁接苗光合作用相关生理指标,并结合转录组学测序技术,深入探究耐盐砧木微嫁接对盐胁迫下葡萄嫁接苗光合作用的影响机制。结果表明,耐盐砧木微嫁接能够显著提升盐胁迫葡萄嫁接苗叶片的光合性能,并通过对光合作用相关关键基因的上调表达来强化光能利用效率与碳固定能力,从而在盐胁迫环境下保持较高的光合效率,增强嫁接苗的耐盐性。

[参考文献]

[1] 霍英东. 底物质量对滨海盐渍土有机碳矿化、微生物群落组成及功能基因的影响[D]. 山东泰安:山东农业大学,2023.
HUO Y D. Effects of substrate quality on organic carbon mineralization, microbial community composition and functional genes in coastal saline soil[D]. Taian, Shandong: Shandong Agricultural University, 2023.

[2] 刘迎. 不同耐盐葡萄砧木对NaCl胁迫的生理响应[D]. 新疆

石河子：石河子大学，2023.
LIU Y. Physiological responses of different salt-tolerant grape rootstocks to NaCl stress[D]. Shihezi, Xinjiang: Shihezi University, 2023.

[3] SHARMA A, KUMAR V, SHAHZAD B, et al. Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2020, 39(2): 509-531.

[4] GUAN L, HAIDER M S, KHAN N, et al. Transcriptome sequence analysis elaborates a complex defensive mechanism of grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12): 4019.

[5] ZAHRA N, AL HINAI M S, HAFEEZ M B, et al. Regulation of photosynthesis under salt stress and associated tolerance mechanisms[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 178: 55-69.

[6] WALKER B J, DREWRY D T, SLATTERY R A, et al. Chlorophyll can be reduced in crop canopies with little penalty to photosynthesis[J]. Plant Physiology, 2018, 176(2): 1215-1232.

[7] MORADI F, ISMAIL A M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice[J]. Annals of Botany, 2007, 99(6): 1161-1173.

[8] GAJJAR P, ISMAIL A, ISIAM T, et al. Physiological comparison of two salt-excluder hybrid grapevine rootstocks under salinity reveals different adaptation qualities[J]. Plants-Basel, 2023, 12(18): 3247.

[9] 陈丽靓，鲁倩君，马媛媛，等. 不同葡萄品种的耐盐性比较分析[J]. 新疆农业科学，2023，60(4)：880-888.
CHEN L L, LU Q J, MA Y Y, et al. Comparative analysis of salt tolerance in different grape varieties[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2023, 60(4): 880-888.

[10] 白世践，户金鸽，蔡军社，等. 砧木对极端干旱区马瑟兰葡萄光合及酿酒特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2021，49(3)：129-137.
BAI S J, HU J G, CAI J S, et al. Effect of rootstocks on photosynthetic and winemaking characteristics of Marselan grape in extreme arid area[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2021, 49(3): 129-137.

[11] 陈利东，沈妮，赵懿琛，等. 茶树组培苗微嫁接研究[J]. 种子，2022，41(10)：11-18.
CHEN L D, SHEN N, ZHAO Y C, et al. Study on micrografting of tea plant tissue culture seedlings[J]. Seed, 2022, 41(10): 11-18.

[12] KOUFAN M, MAZRI M A, ESSATTE A, et al. A novel regeneration system through micrografting for *Argania spinosa* (L.) Skeels, and confirmation of successful rootstock-scion union by histological analysis[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2020, 142: 369-378.

[13] 王佳琦. 微嫁接影响番茄砧木和接穗间茉莉酸及其相关基因不对称响应的探究[D]. 黑龙江大庆：黑龙江八一农垦大学，2020.
WANG J Q. Micrografting affects asymmetric responses of jasmonic acid and its related genes between tomato rootstock and scion[D]. Daqing, Heilongjiang: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2020.

[14] 杨德婴. 鲜食枣优系组培快繁技术体系建立和微嫁接技术的研究[D]. 新疆阿拉尔：塔里木大学，2023.
YANG D Z. Construction of tissue culture technology and micro grafting techniques of table jujube varieties of fresh jujube[D]. Alar, Xinjiang: Tarim University, 2023.

[15] 戴彩虹. 山葡萄组织培养与离体嫁接亲和性研究[D]. 兰州：甘肃农业大学，2014.
DAI C H. Tissue culture and micro-grafting affinity of *Vitis amurensis*[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.

[16] ZHANG C C, LU X, YAN H K, et al. Nitrogen application improves salt tolerance of grape seedlings via regulating hormone metabolism[J]. Physiologia Plantarum, 2023, 175(2): e13896.

[17] 朱新广，张其德. NaCl对光合作用影响的研究进展[J]. 植物学通报，1999，34(4)：332-338.
ZHU X G, ZHANG Q D. Advances in the research on the effects of NaCl on photosynthesis[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 34(4): 332-338.

[18] 秦玲，康文怀，齐艳玲，等. 盐胁迫对酿酒葡萄叶片细胞结构及光合特性的影响[J]. 中国农业科学，2012，45(20)：4233-4241.
QIN L, KANG W H, QI Y L, et al. Effects of salt stress on mesophyll cell structures and photosynthetic characteristics in leaves of wine grape (*Vitis* spp.)[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(20): 4233-4241.

[19] 李蒙，束胜，郭世荣，等. 24-表油菜素内酯对樱桃番茄光合特性和果实品质的影响[J]. 西北植物学报，2015，35(1)：138-145.
LI M, SHU S, GUO S R, et al. Effect of 24-brassinolides on photosynthetic characteristics and fruit quality of cherry tomato[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(1): 138-145.

[20] 王硕硕. 西瓜砧木筛选及其嫁接对西瓜幼苗盐胁迫耐受性的影响[D]. 山东泰安：山东农业大学，2015.
WANG S S. Screening of rootstocks and effects on the grafted watermelon tolerance to salt stress[D]. Taian, Shandong: Shandong Agricultural University, 2015.

[21] 孙璐，周宇飞，李丰先，等. 盐胁迫对高粱幼苗光合作用和荧光特性的影响[J]. 中国农业科学，2012，45(16)：3265-3272.
SUN L, ZHOU Y F, LI F X, et al. Impacts of salt stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of sorghum seedlings[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(16): 3265-3272.

[22] 王刚，肖强，衣艳君，等. 甘薯幼苗对NaCl胁迫的生理响应及外源钙的缓解效应[J]. 植物生理学报，2014，50(3)：338-346.
WANG G, XIAO Q, YI Y J, et al. Alleviatory function of exogenous calcium in responses of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) seedlings to NaCl stress[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(3): 338-346.

[23] SIMKIN A J, KAPOOR L, DOSS C G P, et al. The role of photosynthesis related pigments in light harvesting, photoprotection and enhancement of photosynthetic yield in planta[J]. Photosynthesis Research, 2022, 152(1): 23-42.

[24] 束胜,郭世荣,孙锦,等. 盐胁迫下植物光合作用的研究进展[J]. 中国蔬菜,2012(18):53-61.
SHU S, GUO S R, SUN J, et al. Research progress on photosynthesis under salt stress[J]. China Vegetables, 2012(18): 53-61.

[25] 杨秀玲. 黄瓜嫁接幼苗耐盐光合特性和WSC代谢生理调控研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2015.
YANG X L. Physiological regulation of salt tolerance on photosynthesis and WSC metabolism in grafted cucumber seedlings[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015.

[26] BAKER N R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 89-113.

[27] DOS SANTOS C M, VERISSIMO V, DE LINS WANDERLEY FILHO H C, et al. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 41: 203-213.

[28] 谢丰璞,王楠,高静,等. 干旱及复水循环对苗期药用大黄叶片光合碳同化功能和光化学活性的影响[J]. 西北植物学报,2023,43(11):1872-1887.
XIE F P, WANG N, GAO J, et al. Effects of drought and rewatering cycle on photosynthetic carbon assimilation function and photochemical activity of *Rheum officinale* leaves at seedling stage [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2023, 43(11): 1872-1887.

[29] GONG B, LI X, BLOSZIES S, et al. Sodic alkaline stress mitigation by interaction of nitric oxide and polyamines involves antioxidants and physiological strategies in *Solanum lycopersicum* [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2014, 71: 36-48.

[30] YI S Y, GUO X, LOU W J, et al. Structure, regulation, and significance of cyanobacterial and chloroplast adenosine triphosphate synthase in the adaptability of oxygenic photosynthetic organisms[J]. Microorganisms, 2024, 12(5): 940.

[31] PECINA P, NŮSKOVÁ H, KARBANOVÁ V, et al. Role of the mitochondrial ATP synthase central stalk subunits γ and δ in the activity and assembly of the mammalian enzyme[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 2018, 1859(5): 374-381.

[32] RÜHLE T, LEISTER D, PASCH V. Chloroplast ATP synthase: from structure to engineering free[J]. The Plant Cell, 2024, 36(10): 3974-3996.

[33] WEIGEL M, VAROTTO C, PESARESI P, et al. Plastocyanin is indispensable for photosynthetic electron flow in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(33): 31286-31289.

[34] BAE N, SHIM S H, ALAVILLI H, et al. Enhanced salt stress tolerance in plants without growth penalty through increased photosynthesis activity by plastocyanin from Antarctic moss [J]. Plant Journal, 2025, 121(1): e17168.

[35] SHARMA S, JOSHI J, KATARIA S, et al. Regulation of the Calvin cycle under abiotic stresses: an overview[C]//TRIPATHI D K, PRATAP SINGH V, CHAUHAN D K, et al. Plant life under changing environment. Cambridge: Academic Press, 2020: 681-717.

[36] CHEN P F, LIU X, GU C H, et al. A plant-derived natural photosynthetic system for improving cell anabolism [J]. Nature, 2022, 612(7940): 546-554.

(责任编辑:裴阿卫 温晓平)