

孙龙清, 秦丹丹, 董静, 等. 全基因组水平的小麦渍水、高温及其复合胁迫响应因子鉴定[J]. 水利水电技术(中英文), 2025, 56(10): 243-256. DOI: 10.13928/j.cnki.wrahe.2025.10.019

SUN Longqing, QIN Dandan, DONG Jing, et al. Waterlogging, high temperature and composite stress responsive transcriptome analysis of wheat[J]. Water Resources and Hydropower Engineering, 2025, 56(10): 243-256. DOI: 10.13928/j.cnki.wrahe.2025.10.019

全基因组水平的小麦渍水、高温及其复合胁迫响应因子鉴定

孙龙清^{1,2,3}, 秦丹丹^{1,2,3}, 董静^{1,2,3}, 郑兴飞^{1,2,3}, 程红娜^{1,2,3,4},
付大龙^{1,2,3}, 雷添杰⁵, 徐得泽^{1,2,3}

(1. 农业农村部作物分子育种重点实验室, 湖北 武汉 430064; 2. 粮食作物遗传改良与种质创新湖北重点实验室, 湖北 武汉 430064; 3. 湖北省农业科学院粮食作物研究所, 湖北 武汉 430064; 4. 长江大学农学院, 湖北 荆州 434025; 5. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081)

摘要:【目的】随着全球气候变化加剧, 高温和渍水已成为影响小麦生产的主要非生物胁迫因子。解析小麦响应上述胁迫的关键代谢通路和调控网络, 将为小麦抗逆育种提供理论依据。【方法】以小麦品种鄂麦007为材料, 在三叶一心期分别进行24 h的单一高温(30℃)、单一渍水及二者复合胁迫处理, 以未处理植株为对照, 利用RNA-seq技术对叶片进行转录组测序, 通过DESeq2分析差异表达基因, 并进行GO功能注释和KEGG通路富集分析, 通过qRT-PCR验证关键基因的表达模式。【结果】共鉴定到30 648个差异基因, 渍水、高温、渍水+高温胁迫下分别鉴定到3 088个、13 291个和11 269个差异表达基因。其中, 902个基因在三种胁迫中均差异表达。GO和KEGG富集分析表明, 902个共同响应基因主要参与了烟酰胺代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢等通路。【结论】高温和渍水胁迫通过协同抑制烟酰胺代谢和半胱氨酸代谢通路, 破坏铁离子稳态并削弱抗氧化能力, 从而加剧小麦的氧化损伤, 复合胁迫的效应显著强于单一胁迫, 这为解析小麦抗逆机制提供了新视角, 为分子设计育种提供理论支撑, 对培育适应气候变化的抗逆小麦新品种具有重要实践价值。

关键词: 小麦; 高温; 渍水; 胁迫; 转录组; 影响因素

DOI: 10.13928/j.cnki.wrahe.2025.10.019

开放科学(资源服务)标志码(OSID):

中图分类号: Q37

文献标志码: A

文章编号: 1000-0860(2025)10-0243-14



与作者互动
靳浩清 谢科研

Waterlogging, high temperature and composite stress responsive transcriptome analysis of wheat

SUN Longqing^{1,2,3}, QIN Dandan^{1,2,3}, DONG Jing^{1,2,3}, ZHENG Xingfei^{1,2,3}, CHENG Hongna^{1,2,3,4},
FU Dalong^{1,2,3}, LEI Tianjie⁵, XU Deze^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430064, Hubei, China;
2. Hubei Key Laboratory of Genetic Improvement and Germplasm Innovation of Food Crops, Wuhan 430064, Hubei, China;

收稿日期: 2025-05-15; 修回日期: 2025-06-19; 录用日期: 2025-06-24; 网络出版日期: 2025-08-29

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2300300); 湖北省自然科学基金创新群体项目“小麦适应高湿环境的基因挖掘与育种利用”(2025AFA047)

作者简介: 孙龙清(1984—), 男, 助理研究员, 博士, 主要从事麦类作物耐渍性机理及新种质创制研究。E-mail: sunlqing@163.com

通信作者: 徐得泽(1978—), 男, 研究员, 硕士, 主要从事稻麦种植体系研究。E-mail: dezexu@163.com

雷添杰(1984—), 男, 研究员, 博士, 主要从事天空地大数据应用研究。E-mail: Leitianjie@caas.cn

©Editorial Department of Water Resources and Hydropower Engineering. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license.

3. Institute of Food Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, Hubei, China; 4. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei, China; 5. Institute of Agricultural Environment and Sustainable Development, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: [Objective] Under climate change scenarios, high temperature and waterlogging stresses have emerged as critical constraints for wheat production. Elucidating the molecular mechanisms of stresses resistance in wheat, with particular emphasis on identifying key metabolic pathways and regulatory networks underlying these stresses tolerance, will provide theoretical basis for molecular breeding. [Methods] 24 hours' single high temperature (30 °C), single waterlogging and compound stress treatments were conducted on the wheat variety Emai 007 at the three-leaf one-center stage. Basing on RNA-seq, transcriptome analysis on leaves of Emai 007 under the three treatments was performed, and differentially expressed genes (DEGs) were analyzed by DESeq2, and GO and KEGG pathway enrichment analysis were performed. [Results] Transcriptome profiling identified 30 648 DEGs, including 3 088, 13 291, and 11 269 DEGs responsive to waterlogging, high temperature, and combined stress, respectively. Notably, 902 core DEGs were consistently regulated across all the stress treatments. GO and KEGG enrichment analysis revealed that these core DEGs were predominantly enriched in nicotinamide metabolism and sulfur-containing amino acid (cysteine and methionine) metabolic pathways. [Conclusion] It was demonstrated that the combined stress synergistically exacerbates oxidative damage through coordinated suppression of nicotinamide and sulfur metabolic pathways, leading to disrupted iron homeostasis and compromised antioxidant capacity. The identification of these conserved stress-responsive pathways provides novel insights into adaptation mechanisms of wheat to concurrent abiotic stresses. Furthermore, this study offers valuable theoretical foundations for developing climate-resilient wheat varieties through molecular breeding approaches.

Keywords: wheat; high temperature; waterlogging; stress; transcriptome; influence factors

0 引言

小麦是全球也是我国第二大粮食作物,近年来,极端高温和极端降水天气频繁发生,对小麦生产造成较大影响^[1]。据报道,气温每升高1 °C,小麦产量降低4.1%~6.4%^[2],全球气温的持续上升使高温胁迫已经成为限制小麦产量增长的关键因素。研究表明,高温对小麦生长不同阶段的影响存在差异,在小麦出苗到分蘖阶段,高温主要导致分蘖数量减少;在拔节至开花阶段,高温则使单株穗数、穗粒数和千粒重等关键生长指标降低^[3-4];在开花后至成熟阶段,高温也使得灌浆期缩短,从而引起产量降低,并影响籽粒的品质特性^[5-6]。我国长江中下游麦区是小麦渍害易发生区域,特别是稻茬田中,在小麦生长的各个时期均易遭受渍害胁迫。随着气候变化加剧,长江中下游及黄淮南部麦区的小麦生长中后期土壤渍水和高温胁迫发生的频率和危害程度呈增加趋势,而且常会发生渍水和高温的复合胁迫^[7-8]。

关于小麦渍水和高温的研究已有许多报道。渍水胁迫会导致小麦根系缺氧,无氧呼吸产生的有毒物质会改变根系形态和活力^[9-11],从而降低根系对氮、磷、钾等营养物质的吸收、积累和转运,导致叶片叶绿素含量下降、光合作用机制受损,造成植株早衰^[12-13]。渍水还会引起根系的干重、根系活力和根

系超氧化物歧化酶活性降低,使根系质膜相对透性和膜脂过氧化水平提高,旗叶叶绿素含量、净光合速率、硝酸还原酶活性下降,从而使得单株粒数及千粒重下降,最终导致产量下降^[14-15]。PAN等^[16]发现小麦耐涝性可能与酸性磷酸酶、氧化保护酶、s-腺苷蛋氨酸合成酶1等蛋白质有关。小麦是喜凉作物,高温胁迫使渗透调节物质大幅度降低,细胞内活性氧数量迅速增长,破坏叶绿体结构,抑制小麦光合生产的物质运输,降低籽粒中干物质分配量,最终导致产量降低^[17-18],高温还会抑制小麦花青素合成^[19]。

近年来,转录组技术已广泛应用于作物及小麦抗逆性研究。在小麦热胁迫响应转录组分析方面,HAN等^[20]分析小麦突变体XC-MU201在高温胁迫下的分子响应,发现小麦通过木质素积累提高耐热性。SU等^[21]分析热胁迫下小麦旗叶和籽粒的转录组数据,结果表明小麦籽粒的热激响应比旗叶更敏感,类黄酮生物合成途径可能在小麦对高温胁迫的响应中发挥重要作用。QIN等^[22]利用基因芯片对中国春在不同时间热胁迫处理下的基因表达谱进行分析,发现不同小麦基因型耐热性差异可能与热休克蛋白、转录因子及其他胁迫相关基因的多种过程和机制有关。目前,关于耐渍方面的转录组研究相对较少。在渍水响应方面,SHEN等^[23]通过RNA-Seq分析了淹水处理对不同小麦品种种子萌发过程中的转录组的影响。LI

等^[24]也通过 RNA-Seq 分析了不同渍水深度对小麦品种鄂辐麦 1 号苗期叶片的转录组影响。WEI 等^[8]通过对两种小麦品种进行渍水响应的转录组分析, 揭示了不同耐渍性小麦品种在基因表达层面应对渍害的差异。然而, 上述研究都集中于单一胁迫, 在实际生产过程中, 多种胁迫往往同时发生, 目前关于高温和干旱复合胁迫的研究较多, 尚未见到关于高温和渍水复合胁迫的相关研究。

本研究通过高通量测序, 从全基因组层面解析小麦幼苗对单一高温(H)、渍水(W)及高温+渍水(H+W)复合胁迫的响应机制, 为全面明晰小麦耐渍和耐热调控网络和挖掘相关基因奠定基础, 并为利用分子育种等手段选育抗逆性品种提供理论依据, 对提高小麦耐渍、耐热性具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验所用材料为鄂麦 007(鄂审麦 20200010), 由湖北省农业科学院粮食作物研究所选育。挑选饱满的鄂麦 007 种子, 室温浸泡过夜, 将萌动后的种子种在黑色育苗钵(口径 7 cm×7 cm, 底径 5 cm, 高 8 cm)中, 钵中装满蛭石: 营养土=1:3 的育苗基质, 每盆 3 株, 在光照培养箱中进行培养(12 h 光照/12 h 黑暗, 22 °C/18 °C)。三叶一心期, 将一部分育苗钵转移至 20 cm 高的蓝色方型盒中, 在盒中注水至没过钵口 1 cm 处, 从而模拟渍水处理(Waterlogging, W)。另一部分植株转移至 30 °C 培养箱中模拟高温处理(High temperature, H), 并同时开展 30 °C 高温+渍水复合处理(Waterlogging+ High temperature, W+H), 无任何处理的为对照(CK), 每个处理设置三个生物学重复。处理 24 h 后, 剪取全部叶片, 液氮速冻后置于 -80 °C 超低温冰箱中备用。基于 RNA-seq 对不同处理的叶片进行转录组分析。

1.2 RNA 提取与测序

使用 Trizol 法提取总 RNA, 文库构建和转录组测

序分析由天津极智基因科技有限公司完成。将过滤后的 clean reads 使用 Hisat2 软件与小麦参考基因组进行比对, 获取 Reads 在参考基因组上的定位信息, 使用 StringTie 软件(<http://ccb.jhu.edu/software/stringtie/index.shtml>)组装每个样品的转录本并将所有样品的转录本合并为一套新的转录本集。通过 Featurecounts 计算映射到每个基因的表达值(FPKM)。对原始的 read count 进行标准化, 使用 *padj* 对假设检验的 *P*-value 进行校正。差异表达基因(Differentially Expressed Genes, DEG)使用 DESeq2_edgeR 校正后, 以 $|\log_2(\text{FoldChange})| \geq 1.0$ 、 $\text{FDR} \leq 0.05$ 为标准来筛选差异表达基因。并对不同条件处理下的差异基因进行 GO 富集分析和 KEGG 代谢途径富集分析^[25-27]。

1.3 实时荧光定量 PCR 验证

实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)所使用的样品与转录组测序相同。引物设计: 利用 Primer 5.0 软件和 DNAMAN 软件设计基因特异性荧光定量引物(见表 1)。使用 Takara 公司的 TB Green 试剂盒, 以 *TaActin* 为内参基因, 在 Bio-Rad CFX 荧光定量仪上扩增, 每个反应重复 3 次, 反应体系为 10 μL (见表 2), 扩增程序设置如下: 95 °C 预变性 3 min, 接着进行 40 个循环, 每个循环包括 95 °C 变性 15 s、58 °C 退火 30 s、65 °C 延伸 5 s, 最后进行熔解曲线分析, 条件为 95 °C 10 s、60 °C 30 s、95 °C 5 s。利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 转录组数据分析

本试验在 CK、W、H、W+H 4 个不同处理中, 共获得 12 个样品(每种处理三个生物学重复)的转录组数据, 每个样本 raw reads 为 $6.42 \times 10^7 \sim 8.16 \times 10^7$, 质控后 clean reads 为 $6.24 \times 10^7 \sim 7.85 \times 10^7$, Q30 占比 >93%, GC 含量 50%~60%。相同处理的不同重复

表 1 试验所用引物

Table 1 Primers used in the test

基因编号 Gene ID	正向引物序列 Forward primer sequence (5' to 3')	反向引物序列 Reverse primer sequence (3' to 5')
<i>TaActin</i>	GACCGTATGAGCAAGGAGAT	CAATCGCTGGACCTGACTC
LOC123097678	ACGGGCGTGGTGGACAGTA	ATTGGGTACAAACAACACATGACAT
LOC123146117	GCCAGATGGTGGCAGACGT	CGCCTTAAACACCAAAACACTCC
LOC123048357	TCCATGCCTCGCTGATTGAT	CAAAGGTGTACAAGAAATTCGCG
LOC123135099	CTGCGAGGTGGAGAAGGC	AATCGCCATTTATTTTCGGG
LOC123089657	GATCCATCCATCACAACCAT	TTATTCCAGGCACATATACCCTT

间相关系数 R^2 分布在 0.94~1.00 (见图 1), 表明数据可靠。

表 2 荧光定量 PCR 反应体系
Table 2 Real-Time PCR reaction system

组分名称	用量/ μ L
TB Green Premix Ex Taq(2 \times)	5.0
Primer F	0.4
Primer R	0.4
cDNA	1.0
ddH ₂ O	3.2

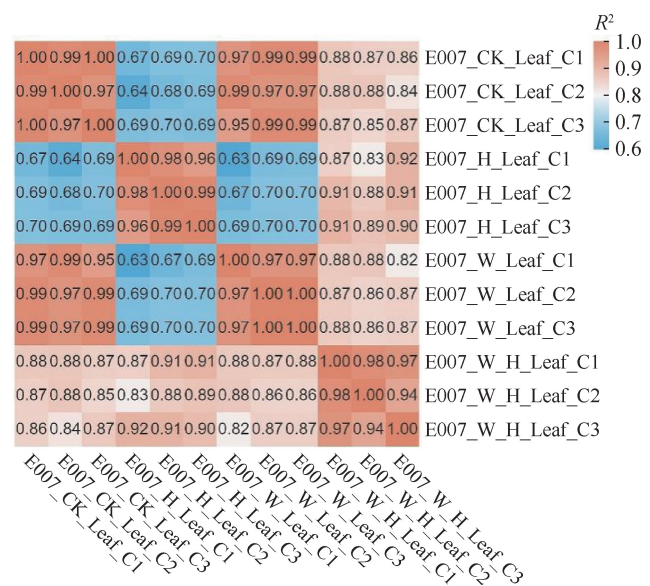


图 1 样品生物学重复相关性热图

Fig. 1 Heatmap of biological repetition correlation of samples

2.2 差异基因分布

与未经任何胁迫处理的对照样品相比, 渍水处理下, 共鉴定到 3 088 个差异表达基因, 其中上调基因 2 066 个, 下调基因 1 022 个[见图 2(a)]; 高温处理下共鉴定到 13 291 个差异表达基因, 6 099 个基因上调, 7 192 个基因下调[见图 2(b)]; 高温+渍水处理共鉴定到 11 269 个差异基因, 其中 6 178 个基因上调, 5 091 个基因下调[见图 2(c)]. 进一步对三种处理分析发现, 共鉴定到 902 个基因在三种胁迫中都差异表达, 而在 W、H 和 W+H 处理中特异响应的差异表达基因分别有 1 178、5 819 和 4 025 个[见图 2(d)].

2.3 三种胁迫协同调控基因的聚类分析

对 902 个在所有处理中均差异表达的基因进行聚类分析发现, 这些差异基因的表达模式大致可分为 5 类, Cluster 1 包含 93 个基因, 这些基因在高温处理中和复合胁迫处理中上调表达, 渍水处理下表达无变

化; Cluster 2 包含的 174 个基因在高温+渍水复合处理中显著上调表达; Cluster 3 包含 501 个基因, 在三种胁迫处理中均下调表达, 其中高温处理和复合处理中显著下调表达, 渍水处理中下调倍数相对较小; Cluster 4 包含 114 个基因, 在渍水处理中上调表达, 在高温处理和高温+渍水复合处理中则下调表达; Cluster 5 包含 20 个基因, 在三种胁迫处理中均上调表达(见图 3)。图中 Z-score 数值越大, 表达量越高, 数值越小, 表达量越低。

2.4 不同胁迫处理响应基因的功能分类

2.4.1 渍水胁迫响应基因的 GO 和 KEGG 分析

GO 分析显示, 生物过程中, 渍水胁迫响应基因主要富集在烟酰胺代谢过程、烟酰胺合成过程和碳水化合物代谢过程[见图 4(a)], 表明渍水胁迫可能导致铁离子毒害和氧化应激响应并诱导植物体从有氧呼吸向无氧呼吸的能量代谢转换; 细胞组分中, 差异基因主要富集在细胞壁和质外体等途径, 说明小麦可能通过调控细胞壁结构和组成响应渍水胁迫; 分子功能中, 差异基因主要在烟酰胺合成酶活性、葡萄糖基转移酶活性和抗氧化活性等途径中显著富集。KEGG 分析发现, 差异基因显著富集在植物-病原体相互作用、脂肪酸延伸途径[见图 4(b)], 在植物-病原体相互作用途径中检测到 10 个差异基因, 其中 1 个上调, 9 个下调, 上调基因编码的是 3-酮酰辅酶 a 合成酶, 下调基因编码包括 WRKY 家族转录因子、钙结合蛋白和 3-酮酰基辅酶 a 合成酶。上述结果表明渍水胁迫能激活小麦的防御机制和维持细胞膜稳定性。

2.4.2 高温胁迫响应基因的 GO 和 KEGG 分析

对高温胁迫处理下的差异基因进行 GO 分析发现, 生物过程中差异基因主要富集在光合作用途径、烟酰胺代谢过程和烟酰胺生物合成过程[见图 5(a)]; 细胞组分中差异基因主要富集在类囊体、光合系统和光合膜途径; 分子功能主要富集在烟酰胺合成酶活性、维生素结合和转移酶活性途径。KEGG 分析发现, 叶片差异基因主要富集在与光合作用相关的途径和碳代谢相关途径[见图 5(b)], 且下调基因数目显著多于上调基因数目, 表明高温胁迫显著抑制光合系统 II 基因和卡尔文循环关键酶。

2.4.3 高温+渍水处理响应基因的 GO 和 KEGG 分析

复合处理下的差异基因 GO 分析表明, 生物过程中, 叶片差异基因主要富集在烟酰胺代谢过程、烟酰胺生物合成过程和三羧酸生物合成过程[见图 6(a)], 细胞组分中基因主要富集在胞外区、细胞

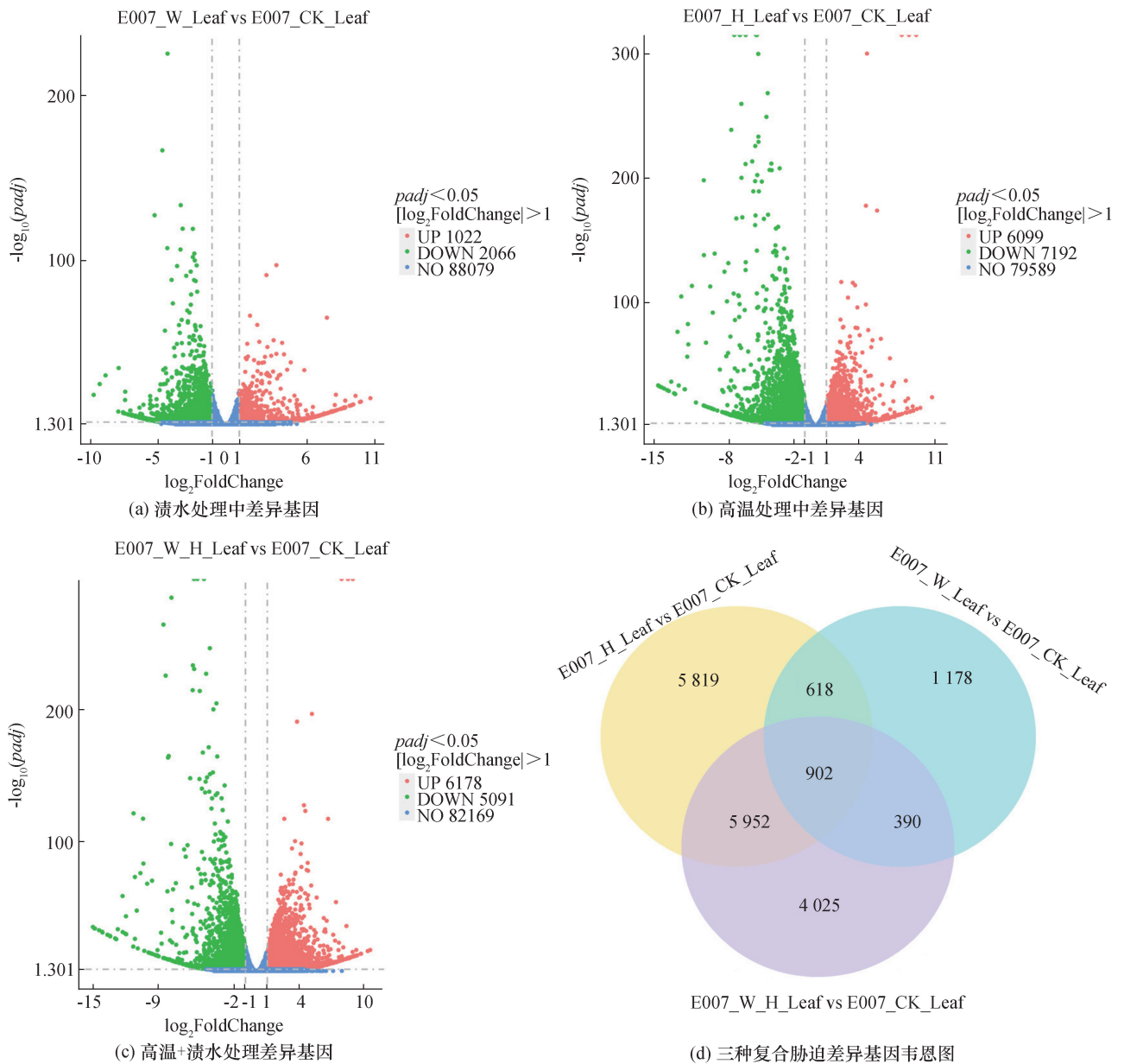


图2 差异基因分析

Fig. 2 Differential gene analysis diagram

壁和质外体途径, 分子功能中主要富集在烟酰胺合成酶活性、维生素结合和磷酸吡哆醛结合途径。KEGG分析表明, 高温+渍水处理条件下的差异基因主要富集在托烷类、哌啶类和吡啶类生物碱生物合成、卟啉代谢和半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路[见图6(b)]。

2.4.4 三种胁迫共同响应基因的GO和KEGG分析

对902个三种胁迫处理共同响应的差异基因进行GO分析发现[见图7(a)], 生物过程中差异基因主要富集在烟酰胺代谢过程、烟酰胺生物合成过程和三羧酸生物合成过程, 细胞组分中基因主要富集在胞外区、细胞壁和质外体途径, 分子功能中主要富集在烟

酰胺合成酶活性和转移酶活性途径。KEGG分析表明差异基因主要富集在半胱氨酸和蛋氨酸代谢和各种植物次生代谢产物的生物合成通路[见图7(b)]。

2.5 烟酰胺代谢途径相关基因的鉴定

分析三种不同处理条件下的差异基因发现, 烟酰胺代谢途径在三种处理中均显著下调并显著富集, 说明烟酰胺的生物合成和代谢途径与植物响应渍水和高温胁迫有关[见图7(a)]。进一步分析表明, 在三种处理下共鉴定到27个差异表达的烟酰胺合成酶基因, 其中17个对三种胁迫均可响应(见表2), 说明烟酰胺可能在小麦响应上述三种胁迫中发挥关键作用。

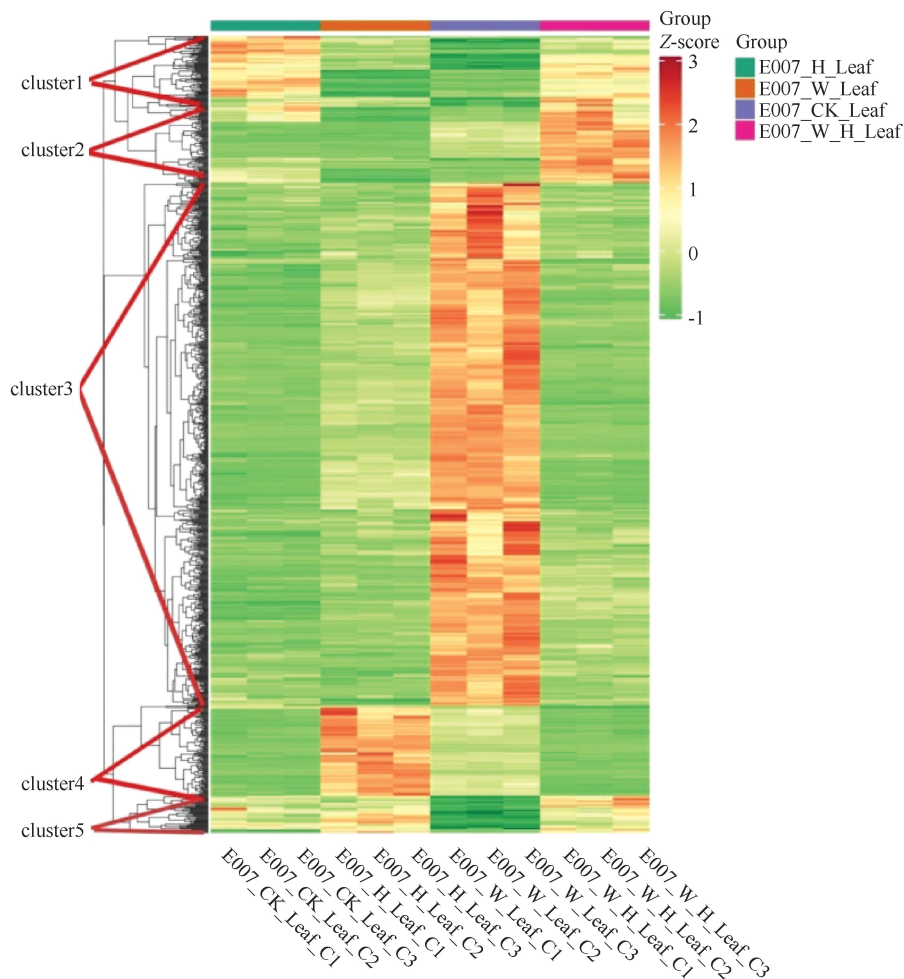


图3 三种胁迫共同响应基因的聚类图

Fig. 3 Clustering diagram of 902 overlapped DEGs in three stresses

2.6 半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路分析

KEGG 富集分析表明, 三种胁迫显著影响了小麦叶片中半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路。在该通路中共鉴定到 6 个差异基因, 在三种处理中均下调表达。其中, 与蛋氨酸合成酶相关基因 LOC123154591 在高温和复合胁迫中分别下调 12.7 倍和 13.4 倍, 表明这两种胁迫可能抑制甲基供体 S-腺苷蛋氨酸(SAM)的合成, 进而影响植物的甲基化反应和抗氧化物质的生成。半胱氨酸合成酶基因 LOC123131371, 在三种胁迫处理中下调倍数相近, 表明半胱氨酸供应受限可能导致 GSH 前体 γ -谷氨酰半胱氨酸合成减少, 加剧氧化应激。这些结果说明, 半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路通过调控抗氧化防御系统, 在小麦抗逆性中发挥关键作用, 其功能受损可能是复合胁迫协同效应的分子基础之一。

2.7 实时荧光定量验证

为验证 RAN-Seq 结果的准确性, 从鉴定到的差异表达基因中挑选了 6 个进行实时荧光定量验证(见

图 8)。结果发现, 6 个基因的表达模式均与转录组测序结果相符, 表明转录组测序的结果可靠, 可用于后续分析。

3 结果讨论

目前, 关于小麦高温响应和渍水响应的转录组分析已有很多报道, 但尚未见到二者复合胁迫对小麦转录水平影响的相关研究。我国长江中下游地区小麦生长季节内, 阴雨天气后往往会伴随着高温发生, 从而加剧渍害对小麦生长的影响。因此, 开展单一高温、渍水和二者复合胁迫下小麦转录组的比较分析, 有助于我们更全面揭示小麦应对单一和复合胁迫的内在机制, 为进行目标性状的高效改良提供依据。

3.1 小麦对不同胁迫的响应机制

本研究首次通过转录组分析比较了小麦对高温(H)、渍水(W)及其复合胁迫(H+W)的分子响应机制, 结果发现小麦基因对三种胁迫的响应无论是在数目还是功能方面都存在显著差异。如光合系统相

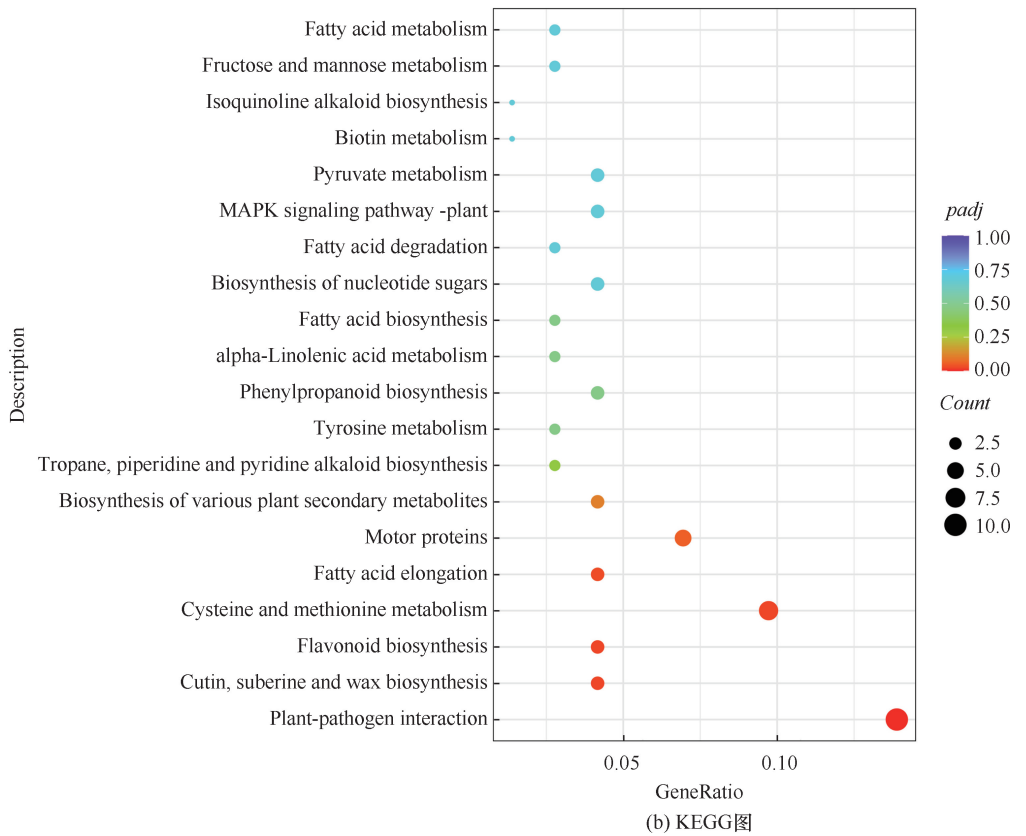
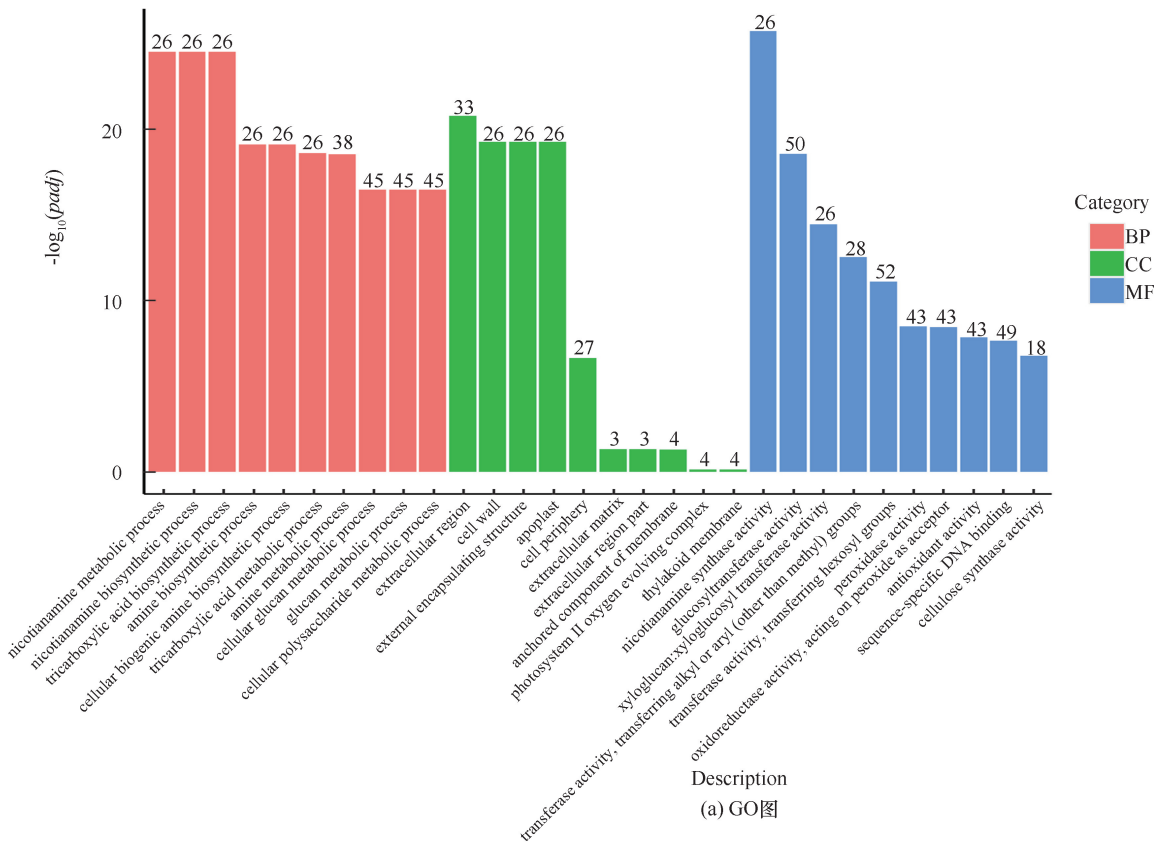


图 4 小麦渍水胁迫处理响应基因的 GO 和 KEGG 富集分析

Fig. 4 GO and KEGG enrichment analysis of DEGs under waterlogging stress

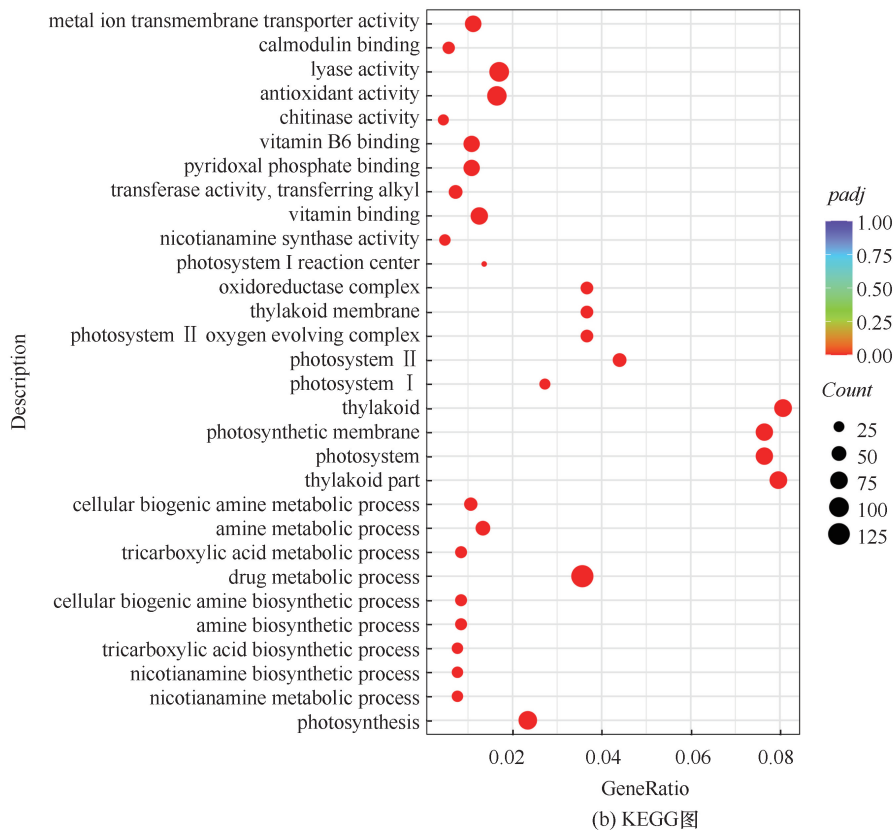
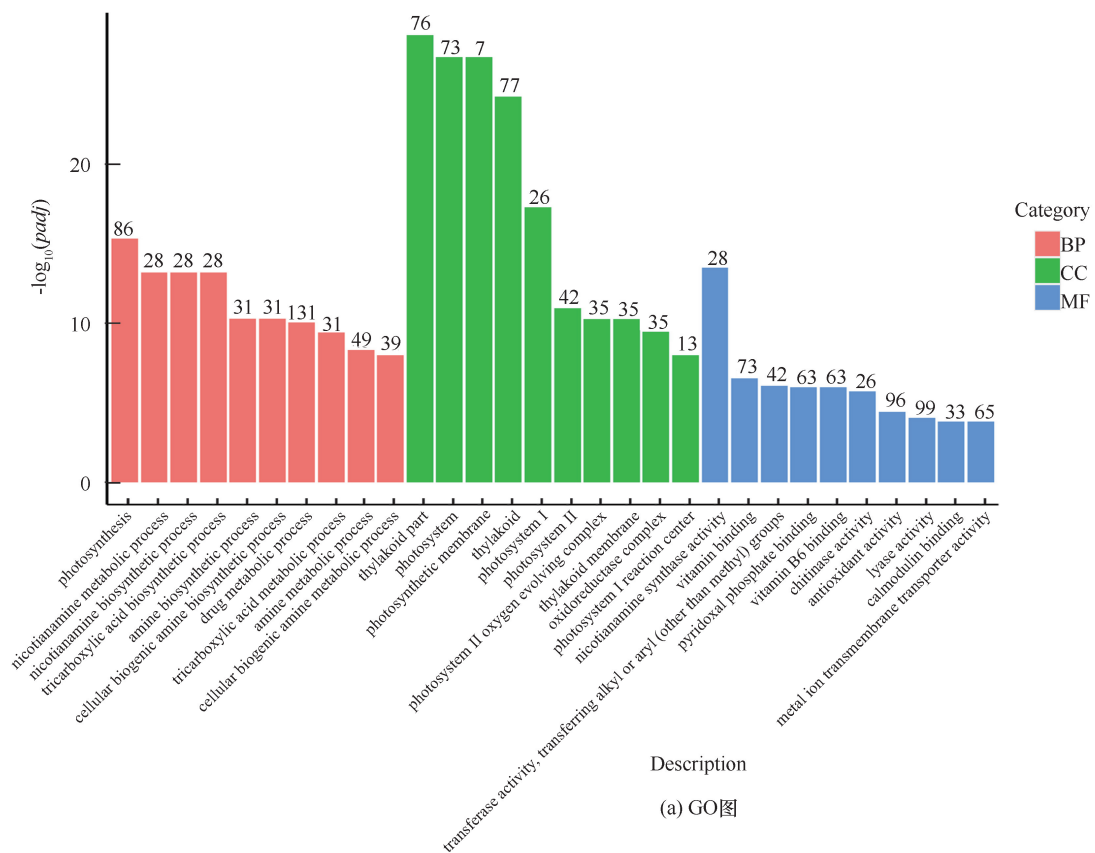


图5 小麦高温胁迫处理响应基因的GO和KEGG富集分析

Fig. 5 GO and KEGG enrichment analysis of DEGs under high temperature stress treatment

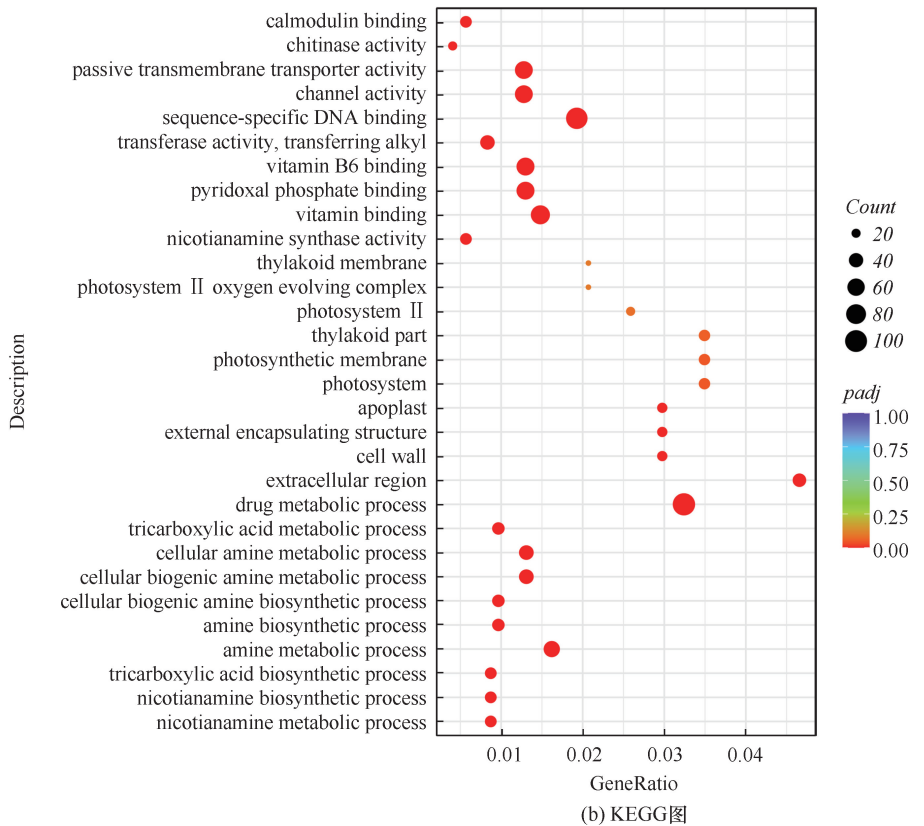
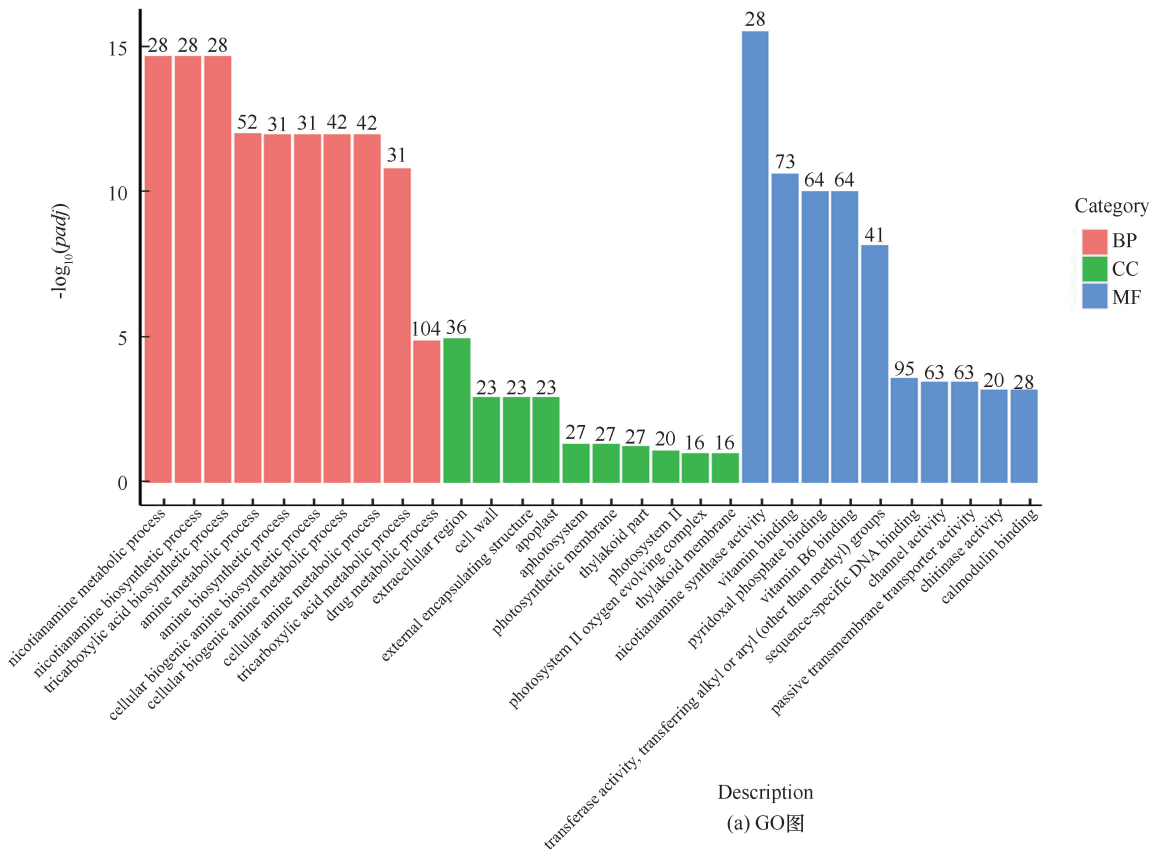


图6 小麦高温+渍水胁迫处理响应基因的GO和KEGG富集分析

Fig. 6 GO and KEGG enrichment analysis of DEGs under high temperature + water logging stress

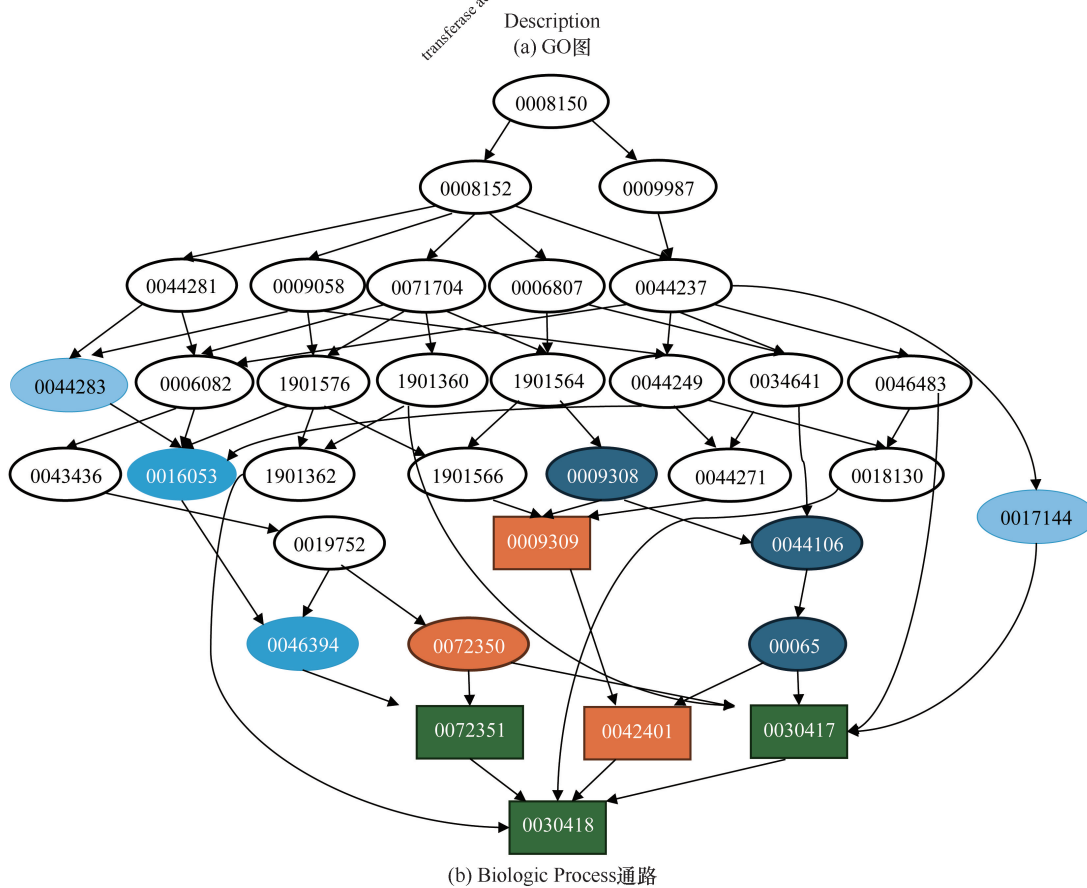
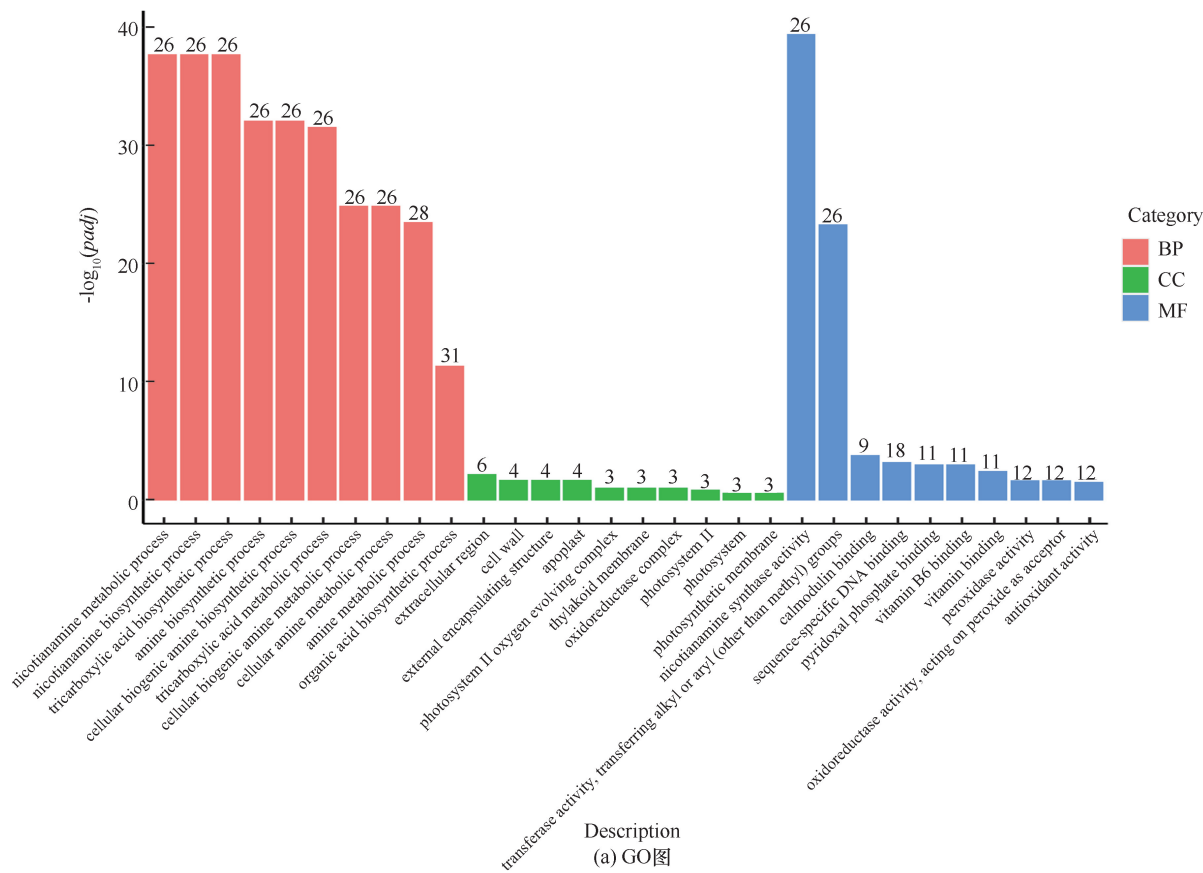


图 7 902 个三种胁迫共同响应基因的 GO 富集分析和 Biologic Process 通路

Fig. 7 GO analysis and Biologic Process analysis of the 902 overlapped genes in the three treatments

表3 烟酰胺合成相关基因在不同处理中的表达模式

Table 3 Expression of DEGs related to nicotinamide synthesis in different treatments

基因编号 Gene ID	基因描述 Gene description	差异倍数 $\log_2(FC)$		
		渍水 W	高温 H	渍水+高温 (W+H)
LOC123130501	nicotianamine synthase 1-like	-2.821 702 639	-12.098 518 950	-11.940 055 650
LOC123146117	probable nicotianamine synthase 4	-1.937 573 603	-12.783 812 410	-14.845 415 620
LOC123130503	nicotianamine synthase 1-like	-1.414 332 337	-8.096 859 786	-11.289 159 380
LOC123106176	probable nicotianamine synthase 2	-1.845 505 244	-8.862 418 175	-10.390 836 910
LOC123130517	nicotianamine synthase 1-like	-2.414 328 423	-7.335 604 395	-8.100 409 143
LOC123135012	probable nicotianamine synthase 4	-1.603 129 348	-11.783 189 750	-14.804 124 580
LOC123064661	probable nicotianamine synthase 6	-1.409 561 806	-7.805 024 499	-8.520 811 496
LOC123133995	nicotianamine synthase 1-like	-2.181 942 760	-9.754 594 949	-13.394 581 090
LOC123144159	nicotianamine synthase 1-like	-2.250 006 691	-13.098 729 540	-12.945 995 740
LOC123141358	nicotianamine synthase 1-like	-2.180 319 117	—	—
LOC123130292	probable nicotianamine synthase 4	-1.718 001 442	-13.364 890 740	-14.101 926 710
LOC123135099	nicotianamine synthase-like 5	-4.476 025 384	-7.719 910 860	-8.529 073 138
LOC123048357	probable nicotianamine synthase 2	-2.658 464 552	-13.590 813 600	-11.957 153 430
LOC123097678	probable nicotianamine synthase 6	-1.955 908 249	-10.339 455 640	-12.265 376 530
LOC123099216	probable nicotianamine synthase 2	-1.721 581 958	-7.883 901 059	-6.621 419 927
LOC123040191	probable nicotianamine synthase 2	-2.660 970 346	-12.995 003 640	-12.842 331 270
LOC123133989	nicotianamine synthase 1-like	-2.108 850 890	-12.128 669 240	-10.970 647 370
LOC123131371	nicotianamine synthase-like 5 protein	-7.525 307 782	-7.881 986 365	-7.729 155 994
LOC123141357	nicotianamine synthase 1-like	-3.323 833 534	—	—
LOC123059244	nicotianamine synthase-like 5 protein	—	-7.603 284 275	-7.450 621 052
LOC123187039	nicotianamine synthase-like 5 protein	—	-1.361 724 561	-1.327 768 363
LOC123094885	probable nicotianamine synthase 6	—	-11.448 356 340	-8.316 309 332
LOC123051093	nicotianamine synthase-like 5 protein%2C	—	-1.371 965 368	-1.255 094 439
LOC123130503	nicotianamine synthase 1-like	—	-8.096 859 786	—
LOC123083766	probable nicotianamine synthase 6	—	-7.580 282 237	-7.819 792 673
LOC123099214	probable nicotianamine synthase 2	—	-9.518 393 452	-10.013 249 880
LOC123184397	probable nicotianamine synthase 2	—	-12.670 678 750	-13.408 184 180

关基因在高温胁迫下显著富集, 包括叶绿素合成、光合作用相关基因等。本人前期研究也表明, 小麦光合系统相关基因对高温胁迫比较敏感^[18-23]。但是, 上述家族基因虽然对复合胁迫也有响应, 但是数目明显少于高温胁迫, 而渍水胁迫对上述基因的影响较小。这可能是由于本研究所采取的处理时间为 24 h, 复合处理中渍水和高温同时处理, 渍水可能在一定程度上缓解了高温对小麦光合系统的影响。而且推测 24 h 的渍水处理可能对根系的影响较大, 尚未引起光合系统的改变, 因此有必要在后续研究中对根系中响应上述胁迫的基因表达谱进行深入分析。

3.2 烟酰胺代谢的调控作用

烟酰胺是一种非蛋白编码氨基酸, 在植物金属离子的转用和稳定中发挥重要作用^[28], 烟酰胺合成酶主要负责由 S-腺苷-L-甲硫氨酸到烟酰胺的转化。现有研究表明, 烟酰胺合成酶在植物应对铁离子胁迫中起着重要作用^[29], 越来越多的试验也表明烟酰胺合成酶在植物生物和非生物胁迫中都起着关键作

用^[30-32]。本研究发现烟酰胺代谢途径相关基因在三种胁迫处理下都下调表达并显著富集, 而且在复合胁迫中的抑制作用更为明显, 暗示着这些基因以及烟酰胺可能在小麦应答和适应上述胁迫的过程中发挥功能。

3.3 半胱氨酸和蛋氨酸代谢在复合胁迫中的调控作用

本研究首次揭示了半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路在小麦响应高温+复合胁迫中的关键作用。该通路中关键基因 LOC123154591 和 LOC123131371 的显著下调可能导致甲基供体 SAM 和抗氧化物质 GSH 合成受限, 进而影响甲基化反应和氧化还原平衡^[33], 表明硫代谢紊乱会加剧植物在逆境中的氧化损伤^[34]。复合胁迫对半胱氨酸代谢的抑制效应显著, 可能与高温加剧渍水导致的缺氧有关, H₂S 作为重要的气体信号分子, 其合成关键基因 LOC123187039 在复合胁迫中下调, 可能会抑制细胞的抗氧化能力^[35]。

半胱氨酸和蛋氨酸代谢与烟酰胺代谢通路存在交叉调控。本研究中, 烟酰胺合成酶基因与半胱氨

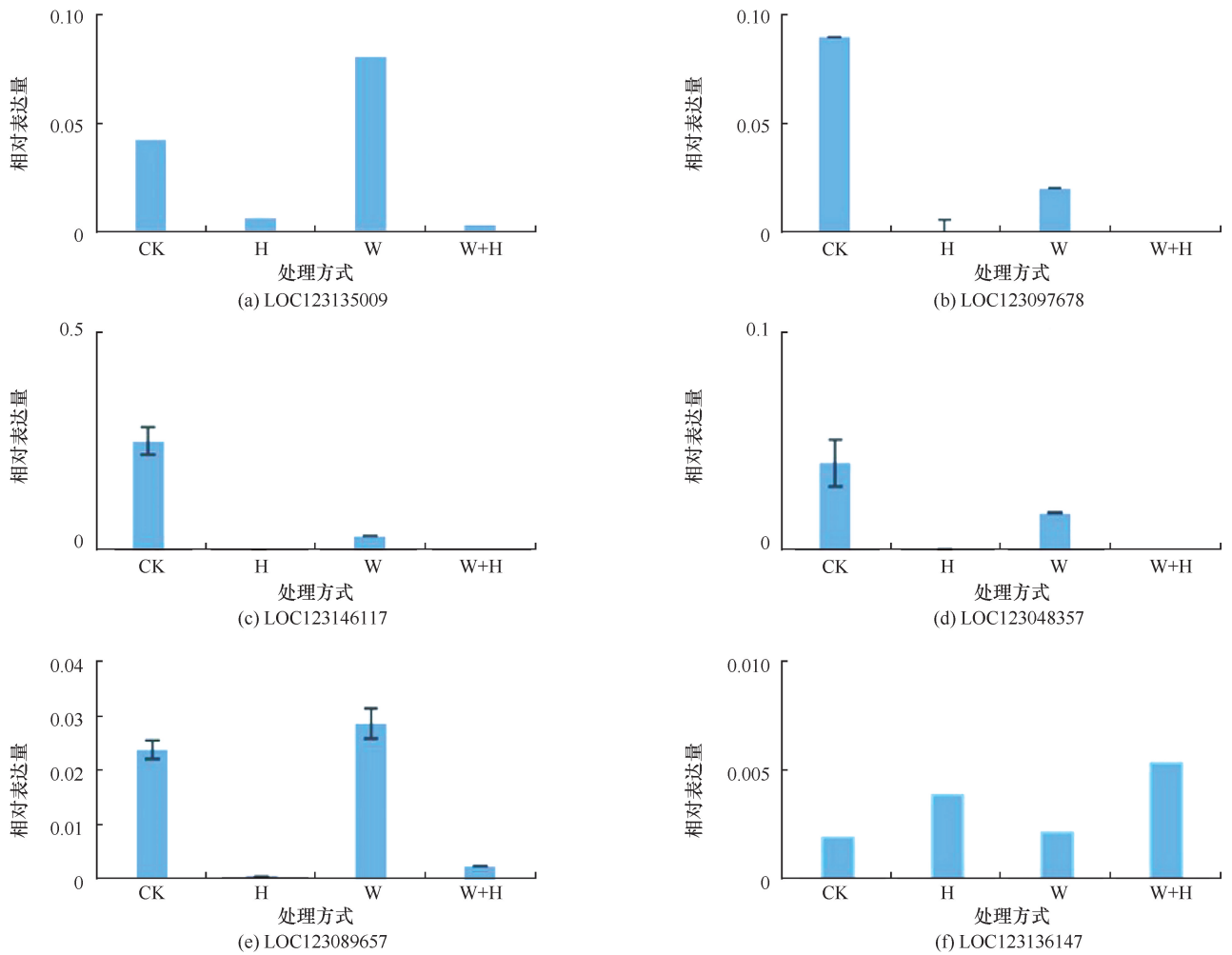


图 8 差异表达基因的实时定量 PCR 验证

Fig. 8 Real-time PCR analysis of DEGs

酸代谢基因同步下调, 这种多通路协同抑制现象可能是复合胁迫下小麦抗氧化能力下降的主要原因。结合 GO 富集结果, 推测烟酰胺代谢可能通过调控 GSH 合成维持氧化还原平衡, 具体结论有待进一步验证。

4 结论

本研究得出如下结论。

(1) 高温通过抑制烟酰胺合成和光合作用, 加剧渍水导致的铁毒害和影响能量代谢。

(2) 烟酰胺合成酶基因下调可能通过破坏铁稳态和 GSH 合成, 调控氧化还原平衡。

(3) 复合胁迫通过协同抑制光合作用和半胱氨酸代谢通路, 导致能量供应不足和抗氧化能力下降。

参考文献 (References):

[1] MOHAN N, JHANDAI S, BHADU S, et al. Acclimation response

and management strategies to combat heat stress in wheat for sustainable agriculture: A state-of-the-art review [J]. *Plant Science*, 2023, 336: 111834.

[2] 王妍, 张晓龙, 石嘉丽, 等. 中国冬小麦主产区气候变化及其对小麦产量影响研究 [J]. *中国生态农业学报 (中英文)*, 2022, 30 (5): 723-734.

WANG Y, ZHANG X L, SHI J L, et al. Climate change and its effect on winter wheat yield in the main winter wheat production areas of China [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30 (5): 723-734.

[3] LI Y B, TAO F L, HAO Y F, et al. Traits and the associated loci in wheat favoring extreme high temperature tolerance [J]. *European Journal of Agronomy*, 2023, 145: 126776.

[4] FAN Y H, LV Z Y, LI Y X, et al. Salicylic acid reduces wheat yield loss caused by high temperature stress by enhancing the photosynthetic performance of the flag leaves [J]. *Agronomy*, 2022, 12 (6): 1386.

[5] 陶源, 赵凯敏, 代存虎, 等. 花后短暂高低温胁迫对小麦产量形成的影响及减灾调控 [J]. *麦类作物学报*, 2022, 42 (12): 1557-

- 1566.
- TAO Y, ZHAO K M, DAI C H, et al. Effects of short-term low or high temperature stress after anthesis on yield formation and its regulation of disaster mitigation [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2022, 42(12): 1557-1566.
- [6] 曹彩云, 党红凯, 郑春莲, 等. 阶段高温对不同小麦品种产量的影响及其耐热性差异研究[J]. *麦类作物学报*, 2020, 40(3): 351-364.
- CAO C Y, DANG H K, ZHENG C L, et al. Impacts of high temperature in different periods on yield and evaluation of heat tolerance in wheat varieties[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(3): 351-364.
- [7] 吴进东, 李金才, 魏凤珍, 等. 花后渍水高温交互效应对冬小麦旗叶光合特性及产量的影响[J]. *作物学报*, 2012, 38(6): 1071-1079.
- WU J D, LI J C, WEI F Z, et al. Effect of interaction of waterlogging and high temperature after anthesis on photosynthetic characteristics of flag leaf and yield in winter wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(6): 1071-1079.
- [8] WEI M M, LI X, YANG R, et al. Novel insights into genetic responses for waterlogging stress in two local wheat cultivars in Yangtze River Basin[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 681680.
- [9] CID G A, FRANCIOLI D, KOLB S, et al. Transcriptomic and metabolomic approaches elucidate the systemic response of wheat plants under waterlogging[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2024, 75(5): 1510-1529.
- [10] 盖盼盼, 马尚宇, 耿兵婕, 等. 渍水和增温对小麦根系形态、生理和地上部物质积累的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2022, 45(4): 637-646.
- GAI P P, MA S Y, GENG B J, et al. Effects of waterlogging and increasing temperature on the morphology of roots, physiology and above-ground matter accumulation of wheat [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2022, 45(4): 637-646.
- [11] 谭维娜, 戴廷波, 荆奇, 等. 花后渍水对小麦旗叶光合特性及产量的影响[J]. *麦类作物学报*, 2007, 27(2): 314-317.
- TAN W N, DAI T B, JING Q, et al. Effect of post-anthesis waterlogging on flag leaf photosynthetic characteristics and yield in wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2007, 27(2): 314-317.
- [12] 魏凤珍, 李金才, 尹钧, 等. 不同生育时期根际土壤渍水逆境对冬小麦 N、P、K 素营养的影响[J]. *水土保持学报*, 2006, 20(3): 162-165.
- WEI F Z, LI J C, YIN J, et al. Effects of waterlogging stress on nitrogen and phosphorus, potassium nutrition in winter wheat at different stages[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2006, 20(3): 162-165.
- [13] 李金才, 魏凤珍, 王成雨, 等. 孕穗期土壤渍水逆境对冬小麦根系衰老的影响[J]. *作物学报*, 2006, 32(9): 1355-1360.
- LI J C, WEI F Z, WANG C Y, et al. Effects of waterlogging on senescence of root system at booting stage in winter wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(9): 1355-1360.
- [14] 周广生, 朱旭彤. 湿害后小麦生理变化与品种耐湿性的关系[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(7): 777-783.
- ZHOU G S, ZHU X T. Changes of physiological characters of wheat after waterlogging and relations between physiological characters and waterlogging tolerance of different varieties [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(7): 777-783.
- [15] SCHWEIGER R, MAIDEL A M, RENZIEHAUSEN T, et al. Effects of drought, subsequent waterlogging and redrying on growth, physiology and metabolism of wheat [J]. *Physiologia Plantarum*, 2023, 175(2): e13874.
- [16] PAN R, HE D L, XU L, et al. Proteomic analysis reveals response of differential wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to oxygen deficiency stress [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 60.
- [17] 姚珊, 康建宏, 王学龙, 等. 花后不同时段高温对春小麦籽粒活力的影响[J]. *西北农业学报*, 2013, 22(9): 41-47.
- YAO S, KANG J H, WANG X L, et al. The impact of different high temperatures on grain viability after anthesis of spring wheat [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2013, 22(9): 41-47.
- [18] 侯泽豪, 张迎新, 王欢, 等. 高温胁迫对小麦花药叶绿素质量分数及 RuBP 羧化酶基因表达的影响[J]. *西北农业学报*, 2018, 27(9): 1280-1286.
- HOU Z H, ZHANG Y X, WANG H, et al. Effects of high-temperature stress on chlorophyll mass fraction and RuBP carboxylase gene expression in wheat (*triticum aestivum* L.) [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2018, 27(9): 1280-1286.
- [19] 柯燧, 高飞, 金韬, 等. 温度对植物花青素苷合成影响研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2015, 31(19): 101-105.
- KE Y, GAO F, JIN T, et al. Review of temperature effect on anthocyanin synthesis [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(19): 101-105.
- [20] HAN J J, WANG Z L, WU X H, et al. Deciphering high-temperature-induced lignin biosynthesis in wheat through comprehensive transcriptome analysis [J]. *Plants*, 2024, 13(13): 1832.
- [21] SU P P, JIANG C, QIN H, et al. Identification of potential genes responsible for thermotolerance in wheat under high temperature stress [J]. *Genes*, 2019, 10(2): 174.
- [22] QIN D D, WU H Y, PENG H R, et al. Heat stress-responsive transcriptome analysis in heat susceptible and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) by using Wheat Genome Array [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 432.
- [23] SHEN C W, YUAN J P, QIAO H, et al. Transcriptomic and anatomic profiling reveal the germination process of different wheat varieties in response to waterlogging stress [J]. *BMC Genetics*, 2020,

- 21(1): 93.
- [24] LI B, HUA W, ZHANG S, et al. Physiological, epigenetic, and transcriptome analyses provide insights into the responses of wheat seedling leaves to different water depths under flooding conditions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(23): 16785.
- [25] ANDERS S, HUBER W. Differential expression analysis for sequence count data[J]. *Nature Precedings*, 2010; 1.
- [26] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 550.
- [27] ROBINSON M D, MCCARTHY D J, SMYTH G K. edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 139-140.
- [28] KYOKO HIGUCHI K S. Cloning of nicotianamine synthase genes, novel genes involved in the biosynthesis of phytosiderophores [J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(2): 471-479.
- [29] REGON P, DEY S, REHMAN M, et al. Transcriptomic analysis revealed reactive oxygen species scavenging mechanisms associated with ferrous iron toxicity in aromatic keteki joha rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 798580.
- [30] ZHENG S L, QI J, FU T W, et al. Novel mechanisms of cadmium tolerance and Cd-induced fungal stress in wheat: Transcriptomic and metagenomic insights [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 256: 114842.
- [31] BHUIYAN N H, LIU W P, LIU G S, et al. Transcriptional regulation of genes involved in the pathways of biosynthesis and supply of methyl units in response to powdery mildew attack and abiotic stresses in wheat[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 64(3): 305-318.
- [32] ZHOU M L, QI L P, PANG J F, et al. Nicotianamine synthase gene family as central components in heavy metal and phytohormone response in maize[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2013, 13(2): 229-239.
- [33] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, et al. MYB transcription factors in Arabidopsis [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(10): 573-581.
- [34] 袁成. 淹水胁迫下小麦发育籽粒转录组学和代谢组学分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- YUAN C. Transcriptional and Metabolic Changes in Wheat Developing Seeds under Waterlo[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023.
- [35] SZABÓ C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2007, 6(11): 917-935.

(责任编辑 王璐)