

# ‘美人’梅在干旱胁迫下的生理响应及相关基因筛选

王梓煦<sup>1</sup>, 罗春燕<sup>1</sup>, 童宇航<sup>2</sup>, 郑为军<sup>2</sup>, 李庆卫<sup>1\*</sup>

1 北京林业大学 园林学院 林木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083

2 北京市绿地养护管理事务中心, 北京 102211

王梓煦, 罗春燕, 童宇航, 郑为军, 李庆卫. ‘美人’梅在干旱胁迫下的生理响应及相关基因筛选[J]. 生物工程学报, 2025, 41(2): 618-638.

WANG Zixu, LUO Chunyan, TONG Yuhang, ZHENG Weijun, LI Qingwei. Physiological responses and transcriptional regulation of *Prunus mume* ‘Meiren’ under drought stress[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(2): 618-638.

**摘要:** 梅花(*Prunus mume*)是药食同源的生态经济型树种, 然而, 干旱严重限制了梅花在我国北方干旱、半干旱地区的推广栽培。本研究以‘美人’梅为试验材料, 采用自然干旱法进行处理, 测定渗透调节物质、光合参数和抗氧化酶活性等光合生理指标, 并使用转录组测序探究梅花在干旱胁迫下的内在调控机制。结果表明, 随着干旱胁迫程度加深, ‘美人’梅的叶绿素 a (chlorophyll a, Chla)、叶绿素 b (chlorophyll b, Chlb)、叶绿素(a+b) [chlorophyll (a+b), Chl(a+b)]含量以及可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量呈现先上升后下降的趋势, 净光合速率(photosynthetic rate, Pn)、气孔导度(stomatal conductance, Gs)和蒸腾速率(transpiration rate, Tr)以及最大光化学效率(maximum photochemical efficiency, Fv/Fm)、实际光化学电子产量[effective photochemical quantum yield, Y(II)]、光化学猝灭系数(photochemical quenching, qP)、相对电子传递效率(electron transport rate, ETR)均显著下降, 而丙二醛含量(malondialdehyde, MDA)、抗氧化酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、过氧化物酶(peroxidase, POD)和渗透调节物质的积累显著增强。转录组测序共获得 24 853 个高质量基因。GO 富集显示重度干旱下差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)富集程度最高。KEGG(Kyoto encyclopaedia of genes and genomes, KEGG)分析显示次级代谢物的生物合成(biosynthesis of secondary metabolites)、植物与病原体相互作用(plant-pathogen interaction)、植物激素信号传导(plant hormone signal transduction)、淀粉和蔗糖代谢(starch and sucrose metabolism)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路是 4 个

资助项目: 国家重点研发计划(2020YFD1000500); 北京园林绿化增彩延绿科技创新工程(2019-KJC-02-10); 北京市园林绿化局《沙枣培育技术规程》制定标准项目(20211245); 北京林业大学建设世界一流学科和特色发展引导专项资金(2019XKJS0324)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2020YFD1000500), the Beijing Landscaping Color Extension Green Science and Technology Innovation Project (2019-KJC-02-10), the Beijing Municipal Bureau of Landscape Architecture and Greening “Technical Regulations for Cultivation of Jujube” Development Standard Project (20211245), and the Special Funds for Building World-class Disciplines and Characteristic Development Guided by Beijing Forestry University (2019XKJS0324).

\*Corresponding author. E-mail: lqw6809@bjfu.edu.cn

Received: 2024-07-01; Accepted: 2024-11-14; Published online: 2024-11-15

干旱时期中最显著富集的代谢通路。此外,还筛选到16个与‘美人’梅抗旱相关的关键基因。本研究发现梅花可能通过MYB、ERF、bHLH、NAC和WRKY等转录因子(transcription factors, TF)调节抗旱相关基因*SUS*、*P5CS*、*LEA*、*SOD*、*POD*、*SOD1*、*TPPD*、*TPPA*等的表达,促进蔗糖等渗透调节物质积累,提高SOD、POD等抗氧化酶活性,减弱逆境胁迫下活性氧的危害,保护膜系统的结构和功能以抵御干旱。本研究结果为进一步挖掘梅花响应干旱胁迫的候选基因和抗旱育种提供了理论参考。

关键词: 梅花; 干旱胁迫; 生理特性; 转录组

## Physiological responses and transcriptional regulation of *Prunus mume* ‘Meiren’ under drought stress

WANG Zixu<sup>1</sup>, LUO Chunyan<sup>1</sup>, TONG Yuhang<sup>2</sup>, ZHENG Weijun<sup>2</sup>, LI Qingwei<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> National Key Laboratory for Efficient Production of Forest Resources, School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

<sup>2</sup> Beijing Greenland Maintenance and Management Centre, Beijing 102211, China

**Abstract:** *Prunus mume* is an ecologically and economically valuable plant with both medicinal and edible values. However, drought severely limits the promotion and cultivation of *P. mume* in the arid and semi-arid areas in northern China. In this study, we treated *P. mume* ‘Meiren’ with natural drought and then assessed photosynthetic and physiological indexes such as osmoregulatory substances, photosynthetic parameters, and antioxidant enzyme activities. Furthermore, we employed transcriptome sequencing to explore the internal regulatory mechanism of *P. mume* under drought stress. As the drought stress aggravated, the levels of chlorophyll a (Chla), chlorophyll b (Chlb), chlorophyll (a+b)[Chl(a+b)], and soluble protein (SP) in *P. mume* first elevated and then declined. The net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs), transpiration rate (Tr), maximum photochemical efficiency (Fv/Fm), effective photochemical quantum yield [Y(II)], photochemical quenching (qP), and relative electron transport rate (ETR) all kept decreasing, while the levels of malondialdehyde, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and osmoregulatory substances rose. Transcriptome sequencing revealed a total of 24 853 high-quality genes. Gene ontology (GO) enrichment showed that differentially expressed genes (DEGs) were the most under severe drought. Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis showed that the DEGs during the four drought periods were mainly involved in the biosynthesis of secondary metabolites, plant-pathogen interaction, plant hormone signal transduction, starch and sucrose metabolism, and mitogen-activated protein kinase signaling pathways. Furthermore, we identified 16 key genes associated with the drought tolerance of *P. mume* ‘Meiren’. This study discovered that *P. mume* might up-regulate or down-regulate the expression of drought tolerance-related genes such as *SUS*, *P5CS*, *LEA*, *SOD*, *POD*, *SOD1*, *TPPD*, and *TPPA* via

transcription factors like MYB, ERF, bHLH, NAC, and WRKY to promote the accumulation of osmoregulatory substances like sucrose and enhance the activities of antioxidant enzymes such as SOD and POD, thus reducing the harm of reactive oxygen species and protecting the structure and function of the membrane system under drought stress. The findings provide theoretical references for further exploration of candidate genes of *P. mume* in response to drought stress and breeding of drought-tolerant varieties.

**Keywords:** *Prunus mume*; drought stress; physiological characteristics; transcriptome

目前,水资源匮乏是干旱、半干旱地区经济发展的首要阻力,缺水也成为影响植物生长和生产力的主要环境因素之一。梅花是苗木产业中具有耐寒、耐旱特点的生态经济型树种,其杂交种‘美人’梅叶果呈鲜紫红且抗性强,具有极高的观赏价值和应用价值,值得深入探究并发掘其潜在价值。因此,探究‘美人’梅响应干旱胁迫的重要生物过程和遗传基础,对‘美人’梅抗旱性及遗传改良具有重要意义。

植物通过产生在形态、生理、生化、细胞和分子水平上的综合反应来缓解干旱造成的不利影响<sup>[1]</sup>。植物响应干旱胁迫是一个复杂的调控过程,包括光合作用、抗氧化系统、渗透调节系统、膜脂过氧化、激素信号转导、离子信号转导等生理生化过程<sup>[2]</sup>。此外,与干旱相关的表型性状(根系性状、叶片性状)、渗透调节能力、水势、脱落酸(abscisic acid, ABA)含量和细胞膜稳定性,已被作为评价植物抗旱性的指标<sup>[3]</sup>。然而,仅仅依赖于植物自身应对干旱的生理响应来揭示植物抗旱机制远远不够,梅花对于干旱胁迫的响应受到表型、生理生化指标、代谢可塑性和复杂的基因网络的动态平衡调控。近年来,高通量测序技术已经广泛用于植物的抗性研究。转录组测序技术(RNA sequencing, RNA-Seq)利用高通量测序技术,凭借其高分辨率和低成本的特性鉴定和量化转录本种类、丰度及差异表达信息。目前, RNA-Seq 已经广泛应用于多种木本植物响应干旱胁迫的研究,如

枫杨(*Pterocarya stenoptera*)<sup>[4]</sup>、枇杷(*Eriobotrya japonica*)<sup>[5]</sup>、紫穗槐(*Amorpha fruticosa*)<sup>[6]</sup>、黄柏(*Phellodendron chinense Schneid*)<sup>[7]</sup>、砂生槐(*Sophora moorcroftiana*)<sup>[8]</sup>等植物的转录组学研究,解析了这些木本植物响应干旱胁迫的代谢通路和候选基因。干旱胁迫严重制约着梅花产量和品质,限制了梅花产业的市场空间。因此,有必要从生理生化、细胞分子生物学以及组学等层面,多维度挖掘梅花抵御生理干旱和寒冷的机制,从生理、分子到组学等多层次领域的研究对于选育梅花抗逆性新品种、提升梅花产业稳定性方面具有良好的应用潜力。前期关于梅花抗逆性研究主要集中在耐寒、耐热和耐盐碱方面,对梅花耐旱研究较为缺乏。随着梅花产业的发展,关于不同梅花品种对干旱胁迫响应的研究也逐渐增多。Yang 等和 Ding 等筛选出了调控梅花抗干旱的基因 *TPS*<sup>[9]</sup>和 *CCD*<sup>[10]</sup>。也有研究表明, *PmLEA10*、*PmLEA19*、*PmLEA20* 和 *PmLEA29* 基因的过表达可提高梅花耐旱性<sup>[11]</sup>。褪黑素能够有效提升梅花对干旱的适应性,杨永娟<sup>[12]</sup>基于内源激素和生理指标的变化,采用转录组测序技术对‘淡丰后’在干旱胁迫不同阶段及复水后的叶片进行分析,筛选出梅花响应干旱胁迫的重要生物学过程和褪黑素合成相关基因 *PmASMT1*、*PmT5H1*。目前,虽然已经鉴定了一些耐旱基因家族,但是具体的分子调控机理仍不明晰,阐明‘美人’梅响应干旱胁迫的生理和分子机制的联合分析鲜见报道。

本研究以前期筛选的抗旱性强的‘美人’梅为试验材料,利用生理学和转录组学等方法,解析‘美人’梅对干旱胁迫的响应机制,以期为进一步挖掘‘美人’梅响应干旱胁迫的关键通路和候选基因提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验品种及育苗

选择耐旱性强的‘美人’梅三年生扦插苗为试验材料。试验地点位于北京市西北部北京林业大学北林科技梅菊圃半坡温室(116°35'E、40°01'N),属于温带季风气候,年均气温为9–19 °C,试验期间苗圃的平均温度约为35.4 °C,平均湿度约为67.8%。试验材料种植于盆口直径30 cm、深25 cm的聚乙烯塑料盆中,栽培基质为蛭石:珍珠岩:草炭土=1:1:3(体积比)的混合基质,保证每盆基质等量。

### 1.2 试验设计

挑选地径2.0–2.5 cm、株高1.5–1.8 cm的‘美人’梅三年生扦插苗27株,于2022年7月15日开始试验。采用自然干旱处理法,于0 d(control, CK)(土壤相对含水量为田间持水量的75%–80%)、14 d(light drought, LD)(土壤相对含水量为田间持水量的40%–45%)、21 d(moderate drought, MD)(土壤相对含水量为田间持水量的30%–35%)、28 d(severe drought, SD)(土壤相对含水量为田间持水量的20%–25%)和复水7 d(recovery water, RW)(土壤相对含水量为田间持水量的75%–80%)测量光合参数和叶绿素荧光参数,并采取枝条中上部功能叶,用锡箔纸包裹带回实验室后立即放入–80 °C冰箱备用测量生理指标。每个处理3次生物学重复,每次3盆植株。

### 1.3 生理指标测定

叶绿素含量(chlorophyll content, Chl)的测定采用丙酮乙醇浸提法<sup>[13]</sup>。光合参数测定,即

在干旱处理后7、14、21、28 d及复水后7 d,采用Li-6400便携式光合测定仪测定植株的光合参数。设定测定时的叶室温度为28 °C,CO<sub>2</sub>浓度为400 μmol/(m<sup>2</sup>·s),相对湿度55%,光照强度为1 500 μmol/(m<sup>2</sup>·s),选取各处理组植株顶端向阳面的第3–5片完全功能叶,做好标记,测定植株叶片的净光合速率(photosynthetic rate, Pn)、气孔导度(stomatal conductance, Gs)、胞间CO<sub>2</sub>浓度(intercellular CO<sub>2</sub> concentration, Ci)和蒸腾速率(transpiration rate, Tr)。每个处理组测定3株,每株测定3片成熟健康叶片,取平均值。叶绿素荧光参数的测定,即在干旱处理后7、14、21、28 d及复水后7 d,使用PAM2500叶绿素荧光仪对植株叶绿素荧光参数进行测定,PamWins-3设置Intense为3, Gain为3,使远红光荧光瞬态(far-red fluorescence transient, Ft)处于200–400。选取植株顶端的第3–5片完全功能叶,每枚叶片在测定前暗处理20 min后,测定最大光化学效率(maximum photochemical efficiency, Fv/Fm)、光化学猝灭系数(photochemical quenching, qP)、实际光化学电子产量[effective photochemical quantum yield, Y(II)]和相对电子传递效率(photosynthetic electron transport rate, ETR)值。每个处理组测定3株,每株测定3片成熟健康叶片,取平均值。丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法<sup>[14]</sup>。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的测定采用氮蓝四唑显色法<sup>[14]</sup>。脯氨酸(free proline, Pro)含量的测定采用酸性茚三酮法<sup>[13]</sup>。可溶性蛋白含量(soluble protein, SP)的测定采用考马斯亮蓝G-250染色法<sup>[13]</sup>。可溶性糖含量(soluble sugar, SS)的测定采用蒽酮比色法<sup>[13]</sup>。

### 1.4 样品采集

选取‘美人’梅在干旱0、14、21、28 d和复水

7 d 的叶片为试验材料, 迅速放入提前准备好的锡纸袋中, 并置于液氮中暂存, 之后放入  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存。委托广州基迪奥生物科技有限公司完成 RNA 的提取、质控、建库及 Illumina HiSeq™ 测序, 每个处理 3 次重复。

### 1.5 文库构建及测序

使用 Trizol 试剂盒提取总 RNA。用 Agilent 2100 生物分析仪评估 RNA 质量。以  $1\text{ }\mu\text{g}$  的 RNA 作为测序原料, 最终获得 cDNA 文库, 所得到的 cDNA 文库使用 Illumina Novaseq 6000 进行测序。对下机的原始测序数据(raw reads) 去除含 N 比例大于 10% 的 reads, 去除全部是 A 碱基的 reads, 去除低质量 reads, 从而得到高质量的测序数据(clean reads)。随后计算 clean reads 的 Q20、Q30 和 GC 含量等, 运用 HISAT2 软件将 clean reads 比对到梅花基因组。利用 DESeq2 软件以  $\log_2|\text{fold change}|\geq 1$  和  $\text{FDR}\leq 0.05$  (false discovery rate, FDR) 为阈值筛选差异基因。

### 1.6 数据处理及分析

使用 Microsoft Excel 2012 软件进行数据整理, SPSS 26.0 统计软件对叶绿素含量等生理光合指标进行数据分析, OriginPro 2018 软件进行柱状图绘制。差异表达基因功能注释通过与 GO 数据库中比对进行 GO 富集分析, 通过与 KEGG 数据库比对进行通路分析,  $P<0.05$  作为显

著性富集的阈值。使用 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 网站筛选与转录因子相似的拟南芥蛋白序列。使用 TBtools 软件的 blast 功能对‘美人’梅和拟南芥基因同源性进行分析, 并使用 MEGA7 软件构建系统进化树。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对梅花生理指标的影响

由表 1 可知, 随着干旱程度的加深, ‘美人’梅的 Chla、Chlb 和 Chl(a+b) 含量都呈先短暂升高后降低的趋势, 并在 SD 时期处于最低水平, RW 时期, ‘美人’梅叶绿素含量与对照之间差异不显著 ( $P<0.05$ )。‘美人’梅的 Chla 值在 LD 时期出现短暂的升高, 提高了 8.2%, 在 SD 时期, 下降了 54.4%。‘美人’梅的 Chlb 值在 LD 时期出现小幅度的升高, 提高了 1.4%, 在 SD 时期, 下降了 42.6%。‘美人’梅的 Chl(a+b) 值在 LD 时期提高了 5.9%, 在 SD 时期下降了 50.5% (表 1)。  
‘美人’梅的 Pn、Gs 和 Tr 以及 Fv/Fm、Y(II)、qP、ETR 值随着干旱程度加深呈极显著下降的趋势, Ci 值呈先显著下降后显著上升的趋势; RW 时期, 各参数有不同程度的恢复 (表 2)。  
‘美人’梅的 MDA 含量随着干旱胁迫程度的加深呈极显著上升。RW 时期, MDA 含量基本能恢复到正常值。随着干旱胁迫程度的加深, ‘美人’梅的 SOD 和 POD 活性、SS、Pro 含量均呈极显著升

表 1 干旱胁迫对‘美人’梅的叶绿素含量的影响

Table 1 Effects of drought stress on chlorophyll content in *P. mume* ‘Meiren’

Group	Chla (mg/g)	Chlb (mg/g)	Chl(a+b) (mg/g)
CK	1.151±0.036A	0.568±0.042A	1.719±0.015A
LD	1.245±0.020A	0.576±0.009A	1.821±0.012A
MD	0.796±0.079B	0.402±0.024B	1.198±0.072B
SD	0.525±0.062C	0.326±0.014C	0.851±0.059C
RW	1.162±0.013A	0.569±0.011A	1.730±0.024A

Different capital letters indicate significant differences ( $P<0.01$ ) in different treatments of the same variety. Chla: Chlorophyll a; Chlb: Chlorophyll b; Chl(a+b): Chlorophyll (a+b).

高的趋势, SP 含量呈先极显著升高后极显著降低的趋势。RW 时期, ‘美人’梅的 SS、Pro 含量仍比 CK 时高, 且 SS 含量有极显著差异; 可溶性蛋白含量和 SOD、POD 活性均能恢复到正常值, 与 CK 差异不显著(表 3)。

## 2.2 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后的差异表达基因的鉴定与 GO 富集分析

通过前期试验筛选出抗旱性强的‘美人’梅, 利用 Illumina 测序平台对不同干旱时间 CK、LD、MD、SD 和 RW 的‘美人’梅进行转录组测序, 为了保证数据分析的质量, 在分析前对原

始数据进行处理, 统计结果见表 4。各样品 GC 含量均在 45.68%以上, Q30 均高于 92.90%。将各样品的高质量测序数据(clean reads)分别与梅花参考基因组进行序列比对, 比对率(mapping rate)均超过 80%, 表明测序质量良好, 数据可以用于后续分析。

FPKM (fragments per kilobase per million mapped, FPKM)<sup>[15]</sup>是利用 RNA-Seq 技术用来定量估计基因表达值的有效工具。‘美人’梅样本中共检测到 24 853 个高质量基因, 在去除 FPKM<0.5 的基因后, 在‘美人’梅干旱时期 CK、

表 2 干旱胁迫对‘美人’梅的光合参数和叶绿素荧光参数的影响

Table 2 Effects of drought stress on photosynthetic and chlorophyll fluorescence parameters in *P. mume* ‘Meiren’

Group	Pn ( $\mu\text{mol CO}_2/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ )	Gs (mol $\text{H}_2\text{O}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ )	Ci ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ )	Tr (mmol $\text{H}_2\text{O}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ )	Fv/Fm	Y(II)	qP	ETR
CK	8.903±0.314A	0.240±0.019A	329.200±18.110A	1.646±0.105A	0.824±0.007A	0.632±0.004A	0.895±0.033A	132.528±3.956A
LD	6.962±0.200B	0.152±0.011B	273.648±16.398B	1.603±0.024AB	0.694±0.009C	0.572±0.007B	0.713±0.026B	125.475±2.411A
MD	5.148±0.305C	0.083±0.011C	320.973±13.679A	1.450±0.057B	0.508±0.021D	0.512±0.009C	0.687±0.027B	117.809±1.611B
SD	3.992±0.127D	0.053±0.012C	335.937±8.187A	1.178±0.094C	0.404±0.018E	0.469±0.016D	0.613±0.034C	105.474±1.865C
RW	6.684±0.146B	0.210±0.014A	359.005±11.626A	1.759±0.023A	0.776±0.012B	0.549±0.011B	0.889±0.010A	129.217±2.637A

Different capital letters indicate significant differences ( $P<0.01$ ) in different treatments of the same variety. Pn: Photosynthetic rate; Gs: Stomatal conductance; Ci: Intercellular  $\text{CO}_2$  concentration; Tr: Transpiration rate; Fv/Fm: Maximum photochemical efficiency; Y(II): Effective photochemical quantum yield; qP: Photochemical quenching; ETR: Relative electron transport rate.

表 3 干旱胁迫对‘美人’梅的丙二醛含量、抗氧化酶活性和渗透调节物质含量的影响

Table 3 Effects of drought stress on malondialdehyde content, antioxidant enzyme activities and osmoregulatory substances in *P. mume* ‘Meiren’

Group	MDA (mmol/g)	SOD (U/mg)	POD (U/g)	SS (mg/g)	SP (mg/g)	Pro ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )
CK	54.527±1.018D	4.903±0.404C	90.675±3.493D	13.571±0.842D	0.887±0.049A	55.143±2.077C
LD	72.751±1.009C	5.755±0.569BC	132.280±9.290C	17.032±0.660BC	1.183±0.106B	120.154±2.865B
MD	97.954±1.577B	6.315±0.026B	185.730±8.997B	18.851±0.947AB	1.311±0.109B	132.85±4.753A
SD	104.433±1.631A	8.870±0.096A	225.144±8.478A	19.694±0.149A	0.698±0.016A	140.862±2.809A
RW	57.760±0.910D	5.244±0.089C	95.778±3.861D	15.890±0.929C	0.788±0.024A	63.055±4.678C

Different capital letters indicate significant differences ( $P<0.01$ ) in different treatments of the same variety. MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase; POD: Peroxidase; SS: Soluble sugar; SP: Soluble protein; Pro: Free proline.

LD、MD、SD 和 RW，共分别检测到 16 833、16 886、16 844、17 228 和 17 231 个转录本。以  $\log_2|\text{fold change}| \geq 1$  和  $\text{FDR} \leq 0.05$  为筛选标准，得到了每 2 个时期比较(即 CK vs. LD、CK vs. MD、CK vs. SD、CK vs. RW)的差异表达基因(DEGs)。如图 1A 所示，共筛选出 7 539 个差异基因，4 个对比组分别有 4 251 个(CK vs. SD)、2 497 个(CK vs. LD)、3 319 个(CK vs. MD)、4 114 个(CK vs. RW)。维恩图突出显示了重叠的 DEGs，4 个对比组分别有 1 147 个(CK vs.

SD)、394 个(CK vs. LD)、1 123 个(CK vs. MD)、930 个(CK vs. RW)基因差异表达。

为了确定 DEGs 在‘美人’梅不同程度干旱胁迫下的功能，还对识别出的 DEGs 进行了 GO 富集分析，主要的 GO 类别如图 2 所示，7 539 个 DEGs 被显著富集在生物过程(biological)、细胞组成(cellular component)和分子功能(molecular function)这 3 个部分。CK vs. LD、CK vs. MD、CK vs. SD 和 CK vs. RW 的差异基因主要富集到细胞进程(cellular process) (1 307、

表 4 转录组测序数据质量分析

Table 4 Transcriptome sequencing data quality analysis

Sample	Clean ratio (%)	Clean bases	Clean reads	GC content (%)	Q30 (%)	Mapping rate (%)
CK-1	99.56	7 152 459 328	47 862 680	46.52	93.20	85.81
CK-2	99.63	6 093 001 507	40 744 934	47.68	93.93	86.62
CK-3	99.63	6 419 016 812	40 744 934	47.50	93.29	83.99
LD-1	99.61	7 065 078 999	47 251 326	47.00	93.53	86.11
LD-2	99.62	6 590 525 085	44 081 376	47.25	93.86	86.14
LD-3	99.61	6 171 243 364	41 230 768	46.77	92.99	85.05
MD-1	99.66	5 662 916 168	37 867 852	47.98	93.56	84.99
MD-2	99.64	6 851 268 388	45 798 348	47.26	93.07	84.43
MD-3	99.65	5 762 606 879	38 515 056	47.26	92.90	84.08
SD-1	99.66	5 456 887 847	36 488 636	47.82	93.12	84.53
SD-2	99.64	6 088 232 520	40 710 926	47.21	93.43	85.24
SD-3	99.61	5 607 132 706	37 485 258	46.19	93.14	84.76
RW-1	99.64	5 833 759 146	39 006 134	45.68	93.45	84.99
RW-2	99.64	6 358 625 032	42 501 820	46.12	92.93	84.14
RW-3	99.57	6 880 796 061	46 050 384	46.07	92.99	85.31

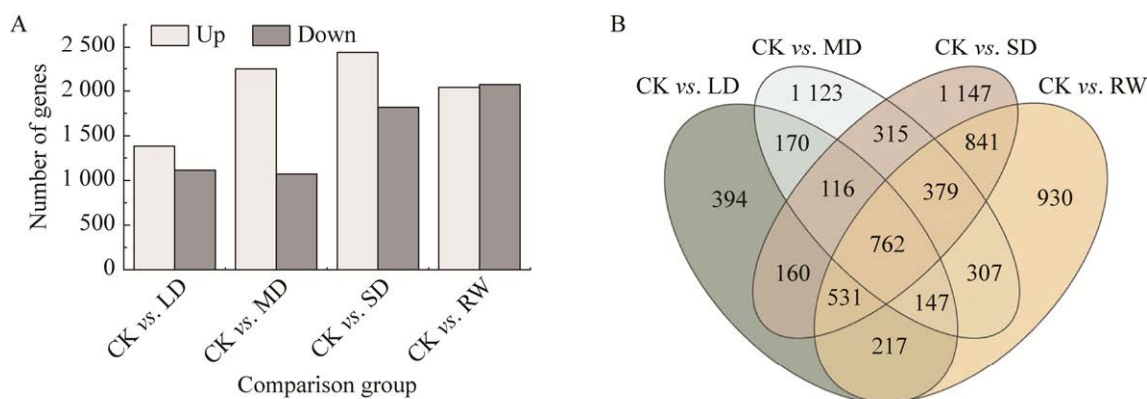


图 1 ‘美人’梅在干旱胁迫及复水后差异基因数量统计图(A)和韦恩图(B)

Figure 1 Differential gene counts (A) and Venn diagram (B) of *P. mume* ‘Meiren’ under drought and rehydration.



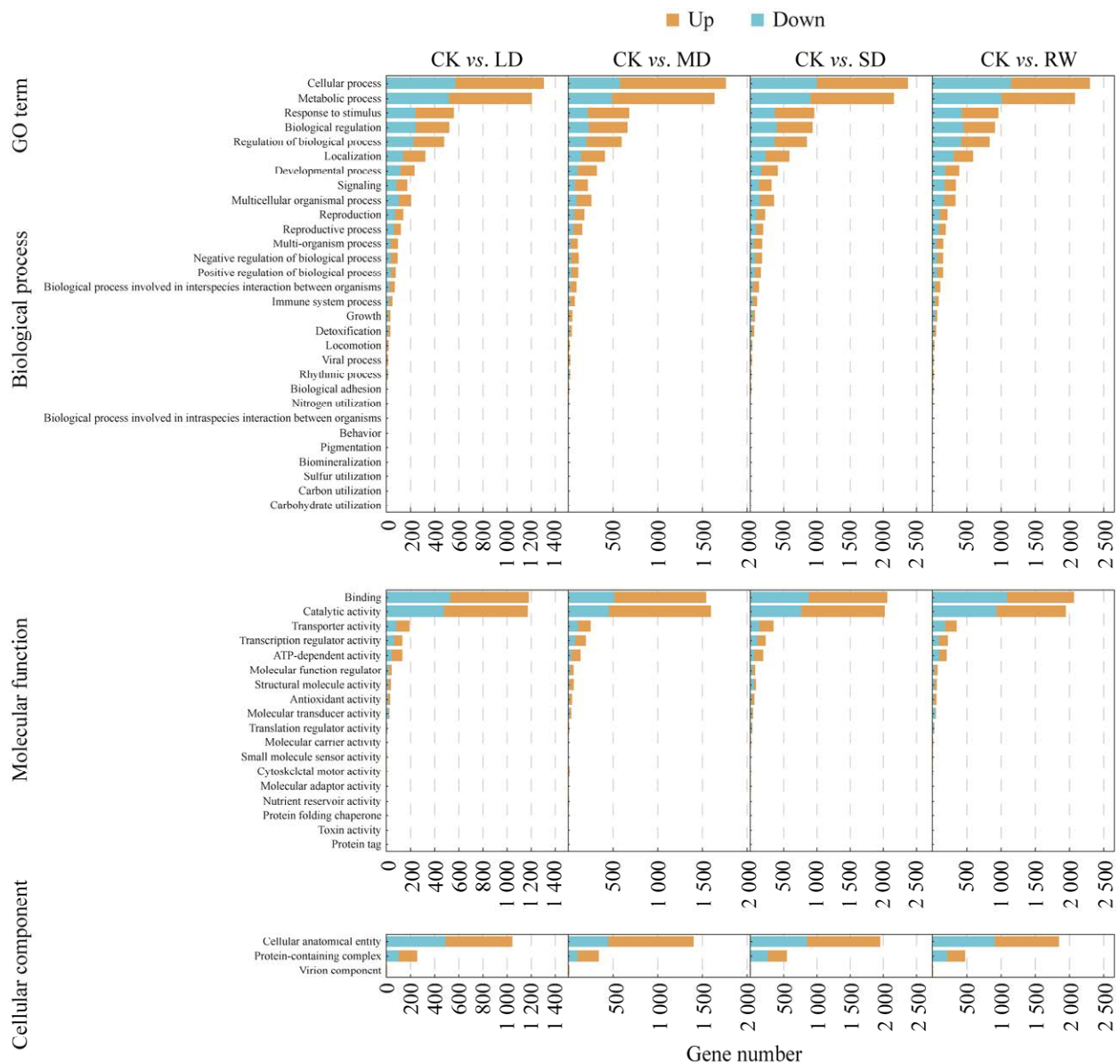


图2 ‘美人’梅在干旱胁迫及复水后差异基因的GO富集分析

Figure 2 GO enrichment analysis of differential genes in *P. mume* 'Meiren' under drought stress and rehydration. CK vs. LD: GO enrichment analysis of differential genes in *P. mume* 'Meiren' under light drought; CK vs. MD: GO enrichment analysis of differential genes in *P. mume* 'Meiren' under mild drought; CK vs. SD: GO enrichment analysis of differential genes in *P. mume* 'Meiren' under severe drought; CK vs. RW: GO enrichment analysis of differential genes of *P. mume* 'Meiren' after rewatering.

1 766、2 374 和 2 302 个 DEGs)、代谢进程 (metabolic process) (1 208、1 639、2 164 和 2 084 个 DEGs)、应激反应(response to stimulus) (561、683、965 和 965 个 DEGs)和生物调控 (biological regulation) (523、665、938 和 915 个

DEGs)等生物过程；细胞解剖实体 (cellular anatomical entity) (1 046、1 406、1 958 和 1 850 个 DEGs)和蛋白质凝结核合物 (protein-containing complex) (257、342、553 和 481 个 DEGs)等细胞组成；催化活动 (catalytic activity) (1 173、



1 598、2 025 和 1 950 个 DEGs)和结合(binding) (1 183、1 546、2 064 和 2 070 个 DEGs)等分子功能。DEGs 的数量随着干旱胁迫程度的加深而增加,在 CK vs. SD 中,DEGs 的通路富集程度最高,RW 富集的 DEGs 较 SD 略微下降。综上,DEGs 分析表明,‘美人’梅在不同程度干旱胁迫下的抗旱性的差异可能与 DEGs 在这些代谢过程中的作用有关。

转录因子(TF)对复杂的非生物胁迫基因进行调控,在‘美人’梅应对干旱胁迫及复水处理的过程中,共鉴定出来自 46 个基因家族的 485 个转录因子(TF),这些转录因子主要归属于 8 个基因家族,包括 MYB (52)、ERF (50)、bHLH (47)、NAC (38)、WRKY (30)、C2H2 (25)、bZIP (19)和 G2-like (17)家族(图 3)。研究表明,MYB、AP2/ERF、NAC 和 bHLH 转录因子家族在植物对干旱、温度、盐度和其他类型非生物胁迫的响应中发挥重要作用<sup>[16-18]</sup>。对这 4 个家族基因的表达情况绘制热图,结果发现,干旱胁迫导致‘美人’梅叶片中部分 TF 的表达产生了差异。编码 MYB 的基因 *PmMYB1* (GenBank 登录号:LOC103320632),与应对干旱的蜡质生物合成

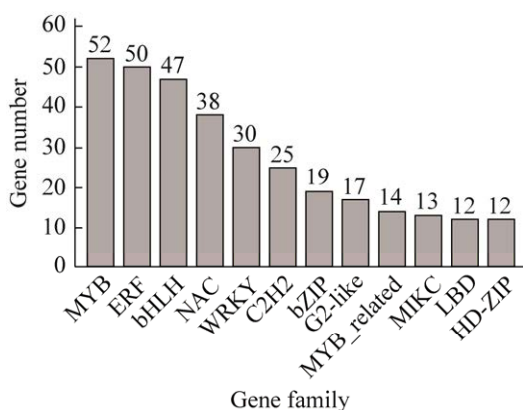


图 3 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后转录因子数量统计

Figure 3 Statistics on the number of transcription factors in *P. mume* ‘Meiren’ under drought stress and after rehydration.

和积累的主转录激活因子 *AtMYB94*、调控类黄酮生物合成以提高拟南芥抗旱性的 *AtMYB12*、在干旱胁迫下依赖 ABA 显著上调的 *AtMYB41* 具有较高的同源性<sup>[19]</sup>,相似度分别为 64.35%、66.39%、67.54%。*PmMYB2* (GenBank 登录号:LOC103337067),与 *AtMYB41*、*AtMYB12* 具有较高的同源性,分别为 63.21%、61.9%,*AtMYB7*<sup>[20]</sup>通过调节核运输来调控植物对 ABA 的反应过程中 ABI5 的表达,从而影响拟南芥耐旱性,本研究发现 *PmMYB2* (GenBank 登录号:LOC103327641)与 *AtMYB7* 具有较高同源性,相似度为 77.35%。*PmMYB61* (GenBank 登录号:LOC103344517)与参与 UPB1 调控的拟南芥根生长系统从而抵御干旱的转录因子 *AtMYB50*<sup>[21]</sup> 具有极高的同源性,同源性高达 90.08%。*PmMYB123* (GenBank 登录号:LOC103340566)与抗旱基因 *AtMYB7*<sup>[20]</sup> 具有较高的同源性,为 73.28%。*PmMYB306* (GenBank 登录号:LOC103338717)与调控干旱胁迫关键通路苯丙类生物合成途径相关蛋白 *AtMYB3*<sup>[22]</sup> 具有较高的同源性,为 76.19%,以上 *PmMYB* 基因均在重度干旱处理时上调,复水后下调(图 4)。

### 2.3 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后的差异基因 KEGG 通路分析

为了鉴别在代谢或信号通路中显著富集的相关基因,对不同时期差异表达基因(DEGs)进行 KEGG 通路分析,结果表明,共 5 052 个 DEGs 被富集于 124 条 KEGG 通路中,前 20 条代谢通路可归为 4 大类,如环境信息处理(environmental information processing)、遗传信息处理(genetic information processing)、代谢机制(metabolism)、有机系统(organismal systems)和组织系统(organismal systems)。其中代谢机制占比最多为 70%。对照组与不同干旱程度和复水的差异基因在代谢通路(metabolic pathway)上富集基因最多,分别有

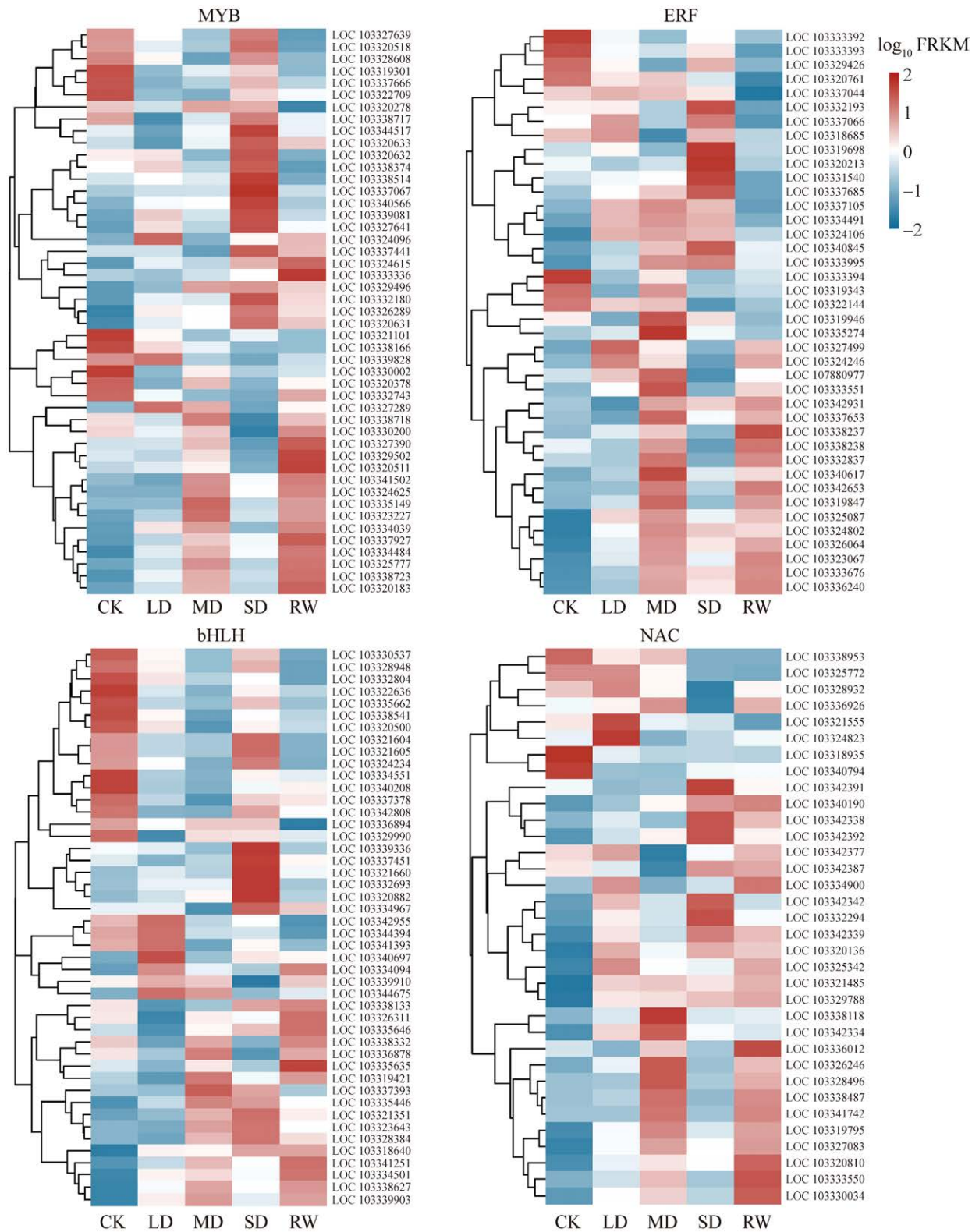


图4 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后转录因子表达热图

Figure 4 Heat map of transcription factor expression in *P. mume* 'Meiren' under drought stress and after rehydration.

287、386、555 和 491 个 DEGs, 且都是极显著富集 ( $P < 0.01$ )。其次是次级代谢物的生物合成 (biosynthesis of secondary metabolites)、植物与病原体相互作用 (plant-pathogen interaction)、植物激素信号传导 (plant hormone signal transduction)、淀粉和蔗糖代谢 (starch and sucrose metabolism)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitosolysis activates protein kinase, MAPK) 信号通路等 (图 5)。

## 2.4 ‘美人’梅干旱胁迫下及复水后的关键差异表达基因分析

MapMan 软件 (3.5.1R2)<sup>[23]</sup> 显示了干旱胁迫下 8 442 个差异基因在代谢途径和次生代谢途径中的表达通路 (图 6A、6B)。在注释的途径中重点关注了与干旱密切相关的途径, 包括植物激素信号传导 (plant hormone signal transduction)、淀粉和蔗糖代谢 (starch and sucrose metabolism)、

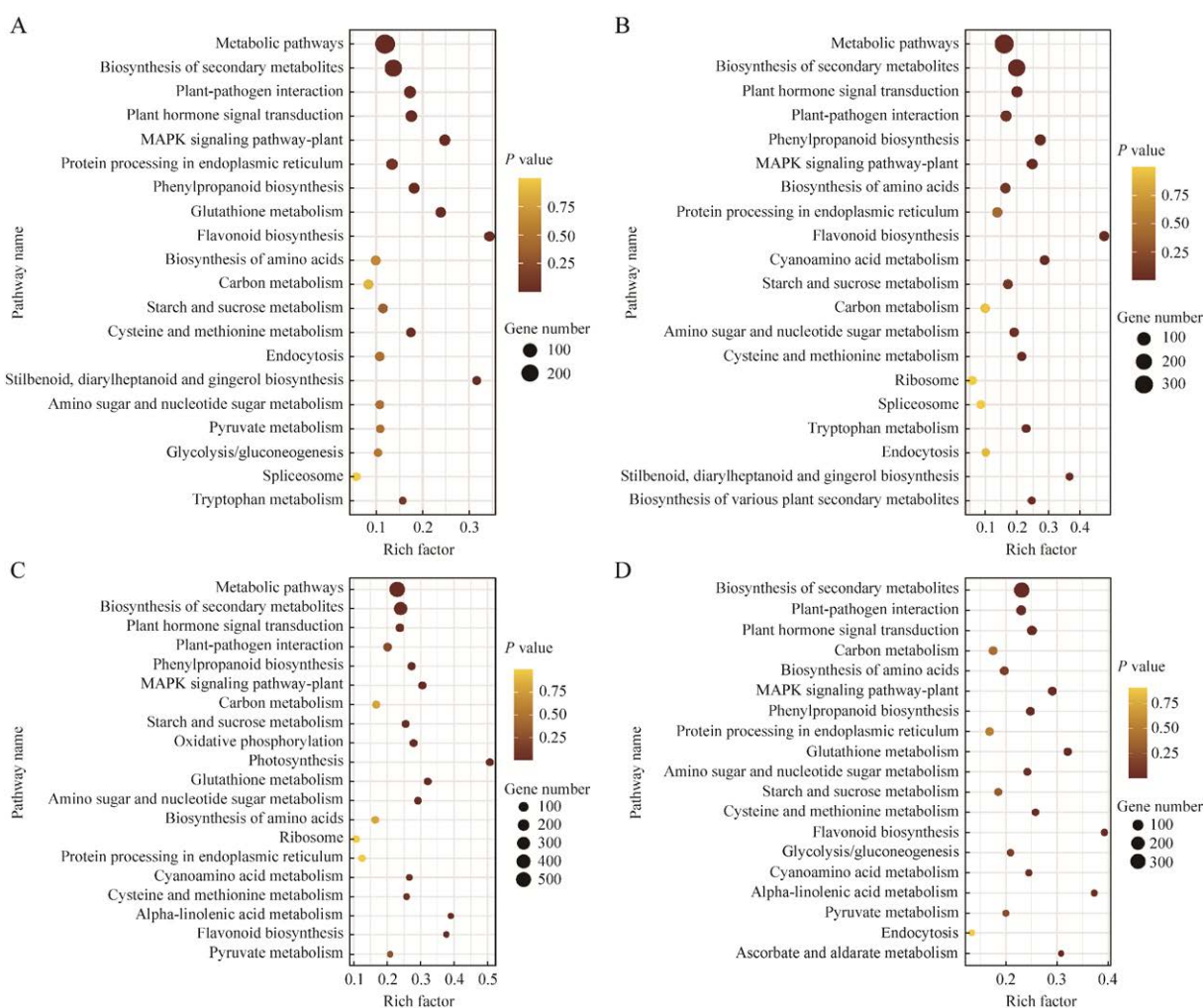


图 5 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后差异基因的 KEGG 通路富集分析

Figure 5 KEGG pathway enrichment analysis of differential genes in *P. mume* ‘Meiren’ under drought stress and after rehydration. A: KEGG pathway enrichment analysis of differential genes in *P. mume* ‘Meiren’ under light drought. B: KEGG pathway enrichment analysis of differential genes in *P. mume* ‘Meiren’ under mild drought. C: KEGG pathway enrichment analysis of differential genes in *P. mume* ‘Meiren’ under severe drought. D: KEGG pathway enrichment analysis of *P. mume* ‘Meiren’ after rewatering.



丝裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway-plant)、编码抗氧化酶(antioxidant enzyme)、编码功能蛋白(encode functional proteins)途径。共筛选出了抗氧化酶差异表达相关超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)、过氧化物酶(peroxidase)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)和谷胱甘肽巯基转移酶(glutathione S-transferase, GST)基因 54 个,植物激素如生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、细胞分裂素(cytokinin, CTK)信号传导调控相关基因 77 个,渗透调节物质相关基因 21 个,丝裂原活化蛋白激酶信号通路相关差异基因 7 个,光合作用通路差异基因 39 个,功能蛋白差异基因水通道蛋白(aquaporin protein, AQP)、热激蛋白(heat shock protein, HSP)、胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA)相关差异基因 19 个(图 7)。

本研究进一步分析了 6 类在耐旱应答中起关键作用的基因的表达(图 8),分别为参与编码抗氧化酶(SOD)的基因 *PmSOD* (GenBank 登录号: LOC103332881),在轻度干旱下上调,在重度干旱下显著上调。参与编码抗氧化酶(POD)的基因 *PmPOD1* (GenBank 登录号: LOC103320968),在重度干旱下显著上调;*PmPOD* (GenBank 登录号: LOC103327561)从轻度干旱到重度干旱都显著上调,这与测定的 SOD 和 POD 活性一致。与渗透调节物质海藻糖磷酸化酶(trehalose-6-phosphate phosphatase, TPP)相关的基因 *PmTPPD* (GenBank 登录号: LOC103333663)和 *PmTPPA* (GenBank 登录号: LOC103333353)在重度干旱下显著上调,复水后下调。与渗透调节物质蔗糖合成(sucrose synthase, SUS)相关的基因 *PmSUS2* (GenBank 登录号: LOC103344298)在重

度干旱下显著上调,复水后下调,这与在干旱胁迫下‘美人’梅可溶性糖含量的变化一致。与渗透调节物质脯氨酸合成相关的关键酶 1-吡咯啉-5-羧酸合成酶(pyrraline-5-carboxylate synthetase, P5CS)基因 *PmP5CS* (GenBank 登录号: LOC103338868)在中度和重度干旱胁迫下表达上调。与光合作用相关的基因 *PmAtpF* (GenBank 登录号: LOC18668003)以及 *PmAtpE* (GenBank 登录号: LOC18668037)在重度干旱下下调表达,复水后上调表达。AQP 是位于细胞膜专一性运送水分的蛋白,共有类 NOD26 膜内在蛋白(nodulin 26-like intrinsic protein, NIP)、质膜内在蛋白(plasma membrane intrinsic protein, PIP)、碱性小内在蛋白(small and basic intrinsic protein, SIP)和液泡膜内在蛋白(tonoplast intrinsic protein, TIP)这 4 个亚族,AQP 相关基因 *PmPIP1-2* (GenBank 登录号: LOC103337532)、*PmSIP1-1* (GenBank 登录号: LOC103329293)和 *PmTIP1-3* (GenBank 登录号: LOC103332605)在重度干旱下显著下调表达,复水后上调表达。HSP 相关的基因 *PmHSP90-6* (GenBank 登录号: LOC103329233)在重度干旱时下调,复水后上调。LEA 相关的基因 *PmLEA41* (GenBank 登录号: LOC103323031)在中重度干旱下显著下调表达,复水后上调表达。丝裂原活化蛋白激酶基因 *PmMAPKKK18* (GenBank 登录号: LOC103324470)在重度干旱下显著上调,复水后下调。参与植物激素调节的 ABA 信号传导的 *PmABI5* (GenBank 登录号: LOC103339691)在重度干旱下显著上调表达,复水后显著下调表达。

根据已有的差异表达基因,筛选出相应的拟南芥抗旱基因,并对其氨基酸序列进行同源比对,构建系统进化树(图 9)。结果显示,梅花 *PmSUS2* (GenBank 登录号: LOC103344298),与 Dejardin 等<sup>[24]</sup>鉴定出的拟南芥抗旱基因

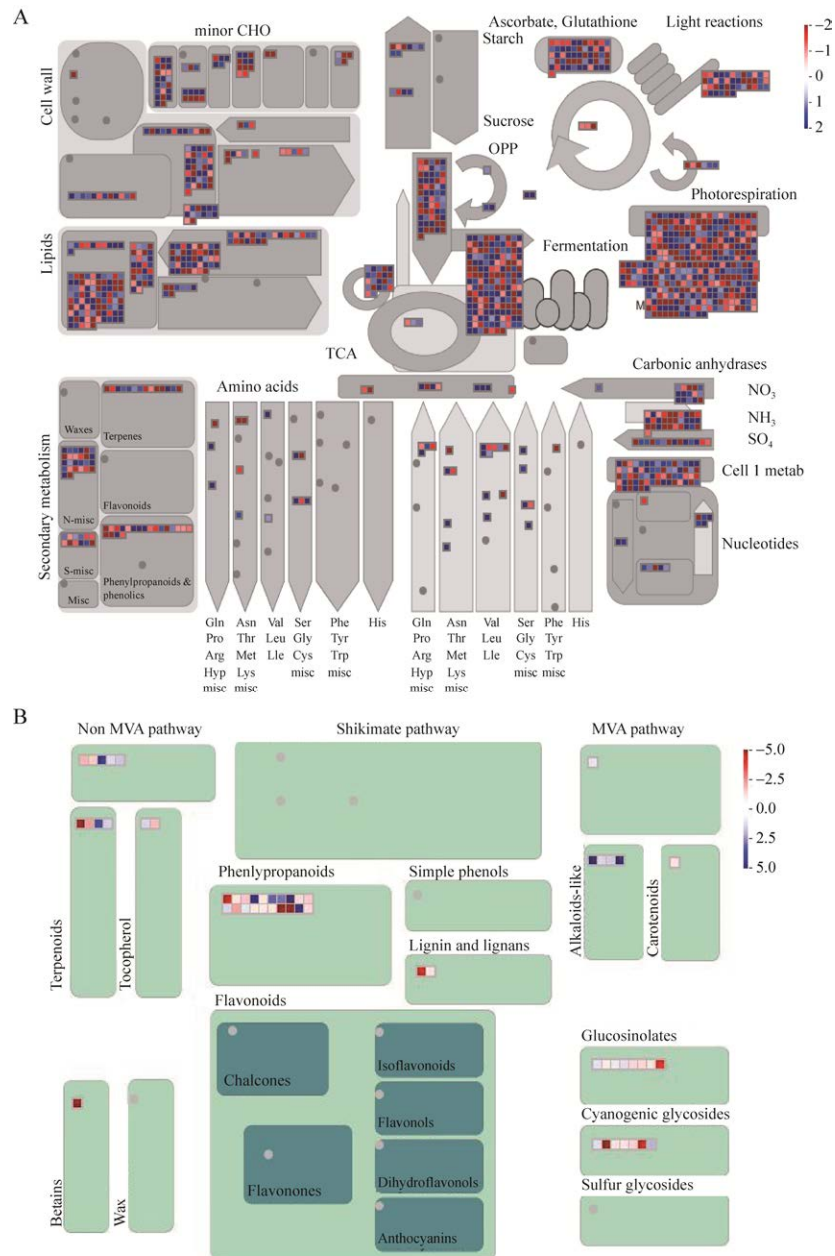
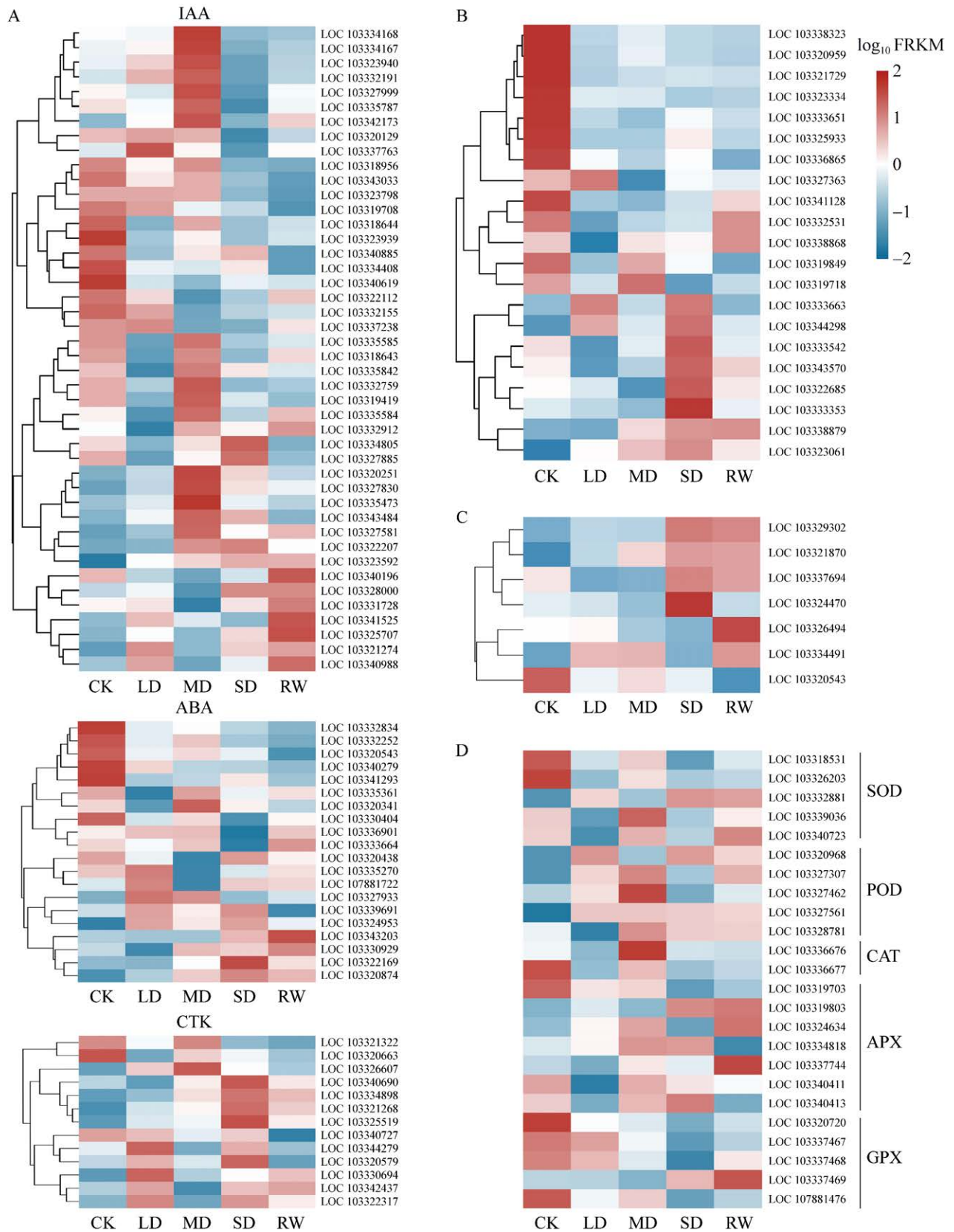


图 6 ‘美人’梅在干旱胁迫下的代谢途径中上调(红色)和下调(蓝色)基因在代谢途径(A)和次生代谢途径(B)中的分布 使用 MapMan 生成‘美人’梅代谢途径的表达变化图, 显示了满足  $\log_2 |\text{fold change}| \geq 1$  的差异基因 DEGs。

Figure 6 Distribution of upper (red) and lower (blue) regulated genes in metabolic pathways in *P. mume* ‘Meiren’ under drought stress in metabolic pathway (A) and secondary metabolic pathway (B). MapMan was used to generate expression change maps of *P. mume* ‘Meiren’ metabolic pathways, showing differential gene DEGs that satisfy  $\log_2 |\text{fold change}| \geq 1$ . MVA pathway: Mevalonate pathway; TCA: Tricarboxylic acid cycle; OPP: O-phenylphenol; CHO: Chinese hamster ovary; MISC: Miscellaneous; Thr: Threonine; Gln: Glutamine; Pro: Proline; Arg: Arginine; Hyp: Hydroxyproline; Asn: Asparagine; Met: Methionine; Lys: Lysine; Val: Valine; Leu: Leucine; Ile: Isoleucine; Ser: Serine; Gly: Glycine; Gys: Cysteine; Phe: Phenylalanine; Tyr: Tyrosine; Trp: Tryptophane; His: Histidine.



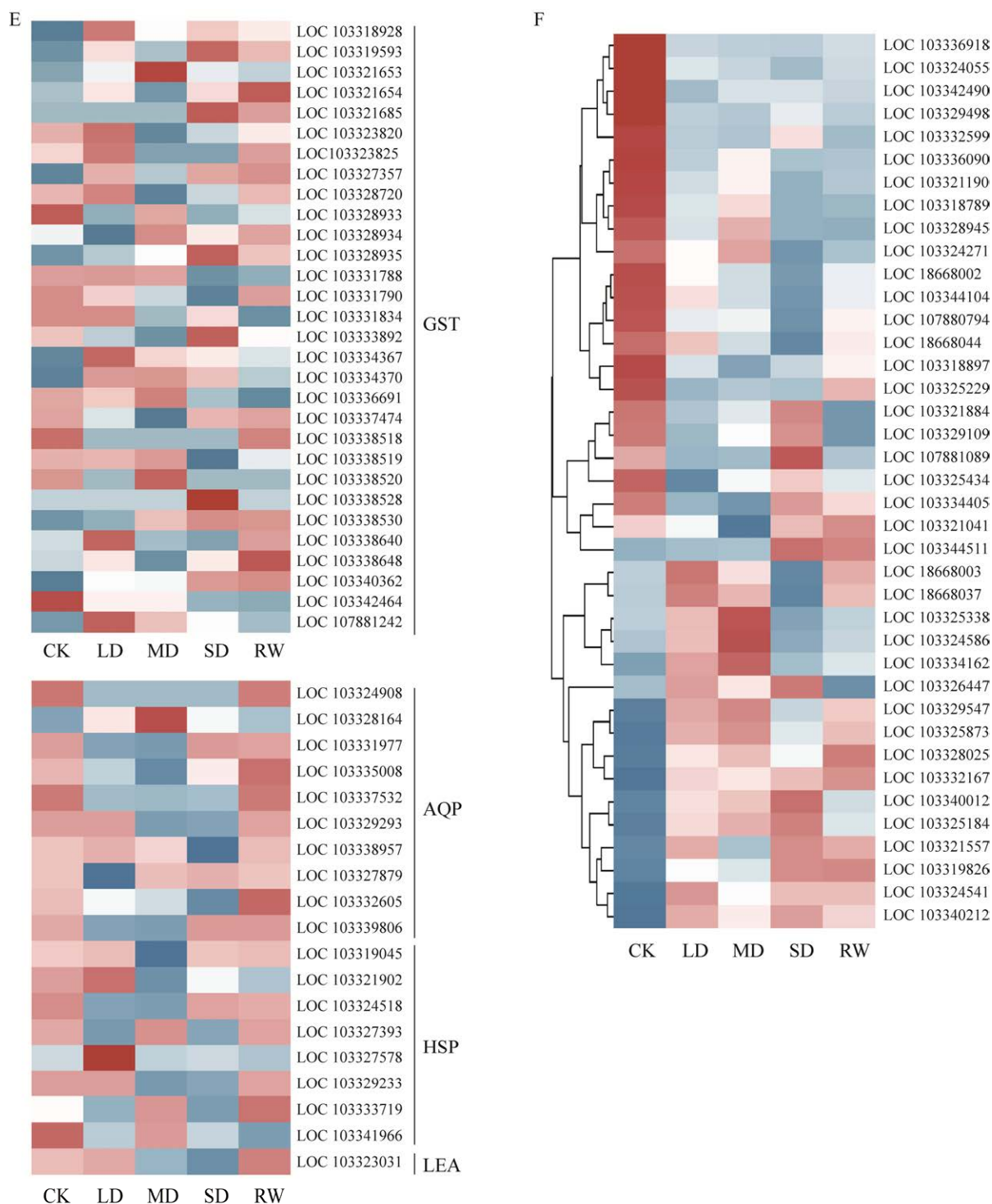


图7 ‘美人’梅在干旱胁迫下及复水后植物激素信号传导(A)、渗透调节物质(B)、MAPK 信号传导(C)、抗氧化酶(D)、功能蛋白差异(E)和光合作用(F)相关基因的表达热图

Figure 7 Heat map of plant hormone signal transduction (A), osmoregulatory substance (B), MAPK signaling pathway key (C), antioxidant enzyme (D), functional protein (E) and photosynthesis (F) differential genes in *P. mume* ‘Meiren’ under drought stress and after rehydration.



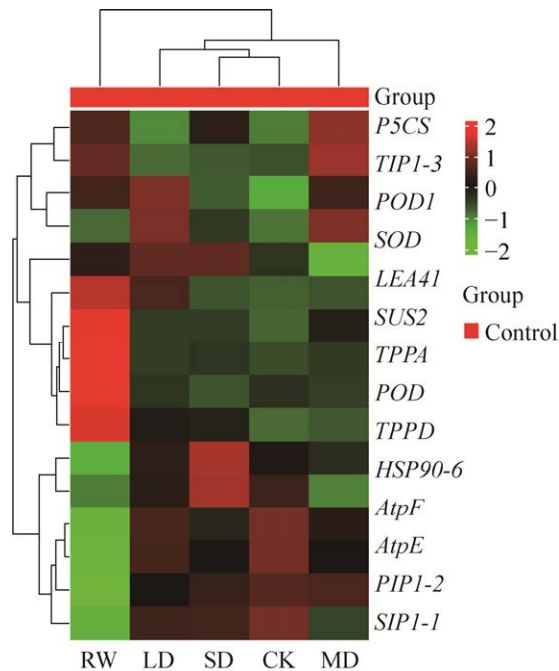


图8 干旱胁迫下的相关差异基因表达水平值热图  
Figure 8 Heatmap of the differential expressed genes under drought stress.

*AT5G49190* 亲缘关系较近。Blast 的结果显示, 其相似度高达 85.766%。梅花 *PmTIP1-3* (GenBank 登录号: LOC103332605), 与 Liu 等<sup>[25]</sup>鉴定出的拟南芥抗旱基因 *AT4G01470* 亲缘关系较近, 其相似度达 84.524%, 梅花 *PmTPPA* (GenBank 登录号: LOC103333353) 与 Ramon 等<sup>[26]</sup>鉴定出的拟南芥抗旱基因 *AT5G51460* 亲缘关系较近, 其相似度为 69.072%。梅花 *PmP5CS* (GenBank 登录号: LOC103338868) 与 Yamada 等<sup>[27]</sup>鉴定出的拟南芥抗旱基因 *AT3G55610* 和 *AT2G39800* 亲缘关系较近, 分别为 75.766%、75.348%。梅花 AQP 相关基因 *PmPIP1-2* (GenBank 登录号: LOC103337532) 与 Liu 等<sup>[25]</sup>鉴定出的拟南芥抗旱基因 *AT2G45960* 亲缘关系较近, 相似度高达 89.825%。进一步推测梅花 *PmPIP1-2*、*PmTIP1-3*、*PmSUS2*、*PmTPPA*、*PmP5CS* 基因为 *PIP1-2*、*TIP1-3*、*SUS2*、*TPPA*、*P5CS* 的同源基因。

### 3 讨论

#### 3.1 干旱胁迫对‘美人’梅生长及光合特性的影响

植物在遭受干旱胁迫时, 会导致气孔关闭, 细胞壁或质膜的成分等发生变化, 可作为触发适应反应的信号<sup>[28]</sup>。与此同时, 植物通过重新编码基因表达, 调控对应的生理生化和分子反应, 以抵御干旱胁迫<sup>[29]</sup>。叶绿素含量在干旱初期呈上升趋势, 说明‘美人’梅可以耐受轻度干旱, 通过增加叶绿素含量来积累光合产物从而调节。在重度胁迫下, 叶绿素含量有所下降, 与光合作用相关的 ATP 合酶编码基因 *PmAtpF*、*PmAtpE* 在重度干旱下下调表达, 复水后上调表达, 推测是由于 *PmAtpF* 和 *PmAtpE* 基因调控 ATP 合酶含量下降, 无法产生光合作用所需的足够的能量, 从而导致吸收和转化光能的叶绿素含量下降<sup>[30]</sup>。另一方面, 类囊体膜上主要的膜蛋白复合物包括 PSI、PSII、细胞色素 b6f 复合体以及 ATP 酶复合体, 也可能是类囊体膜因为水分和能量的缺乏而被破坏, 导致叶绿素含量降低<sup>[31]</sup>。同时, 本研究发现, Gs 的下降幅度大于 Pn 和 Tr 值, Gs 与 Pn 和 Tr 呈正相关关系, 且 Gs 对 Pn 的影响要高于 Tr, 这与 Zhang 等<sup>[32]</sup>对草本植物、灌木、乔木和藤本植物这 4 种植物类型的研究结果一致。气孔开张程度对梅等 C3 植物维持碳吸收和蒸腾平衡至关重要, 推测梅可能通过调节气孔开张度以适应干旱, 保护传导系统免受水力衰竭的影响<sup>[33]</sup>。本研究中 Fv/Fm、Y(II)、qP、ETR 值均呈显著下降, 推测是由于叶绿素含量下调使得对发射的荧光的再吸收率降低, 使得避免光损伤的能力受到损坏, 最终导致了最大光合电子传递势(ETR)降低、光抑制损伤和 PSII 的可逆失活或下调。Y(II) 与叶片同化 CO<sub>2</sub> 的速率直接相关, Y(II) 随着干旱程度加深而下降, 说明光合作用的 CO<sub>2</sub> 同化

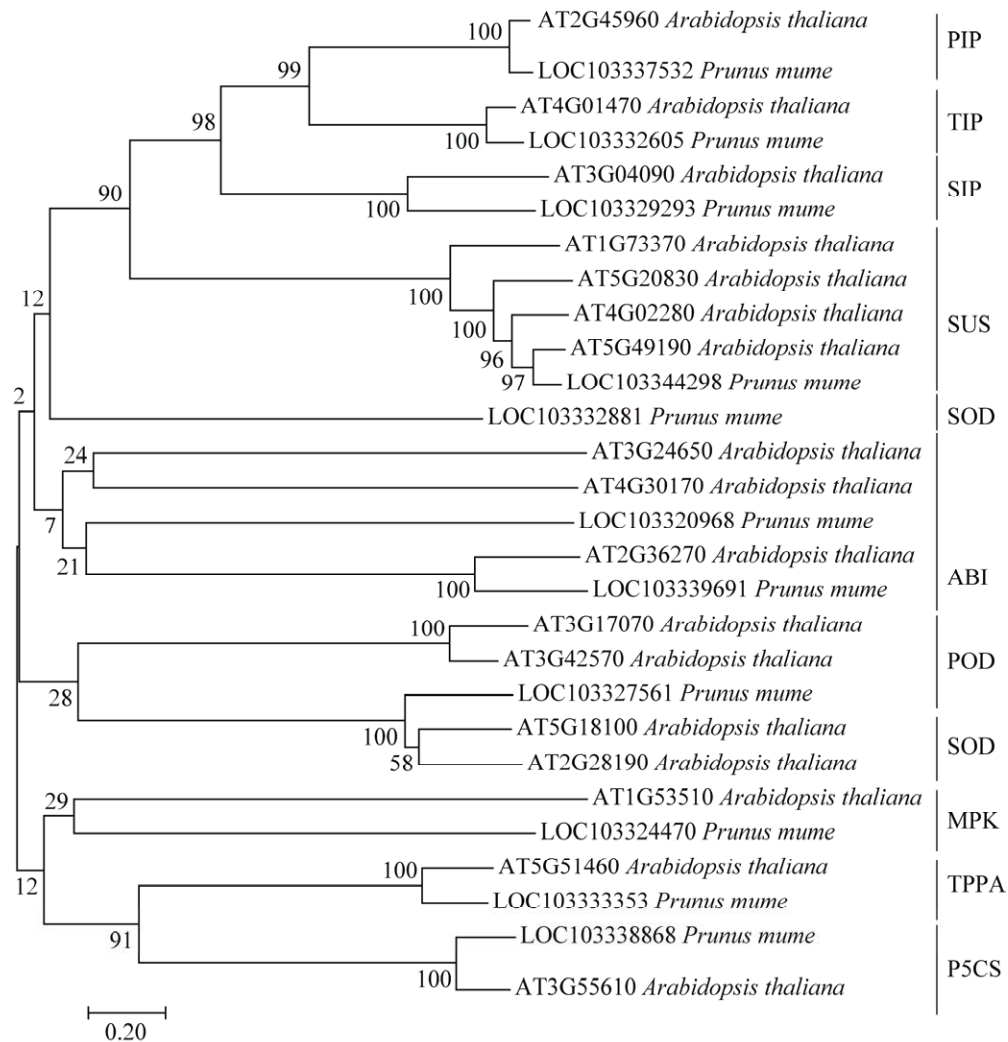


图9 ‘美人’梅 16 个差异基因蛋白序列与对应拟南芥蛋白的系统进化树分析

Figure 9 Phylogenetic tree analysis of 16 differential gene protein sequences of *Prunus mume* ‘Meiren’ and corresponding *Arabidopsis thaliana* proteins.

过程受到严重抑制。相关研究表明,光化学猝灭系数(qP)与光合作用电子传递的主要产物 NADPH 和 ATP 的消耗速率直接相关, NADPH 和 ATP 的消耗速率的降低会导致 qP 也随之降低,而与此同时胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci)在重度干旱下升高,推测 qP 与 Ci 存在相关性关系,该结论印证了 Li 等<sup>[34]</sup>发现升高的 CO<sub>2</sub> 浓度都会显著增加 qP ( $P < 0.001$ ),与干旱程度无关,且水分处理与 CO<sub>2</sub> 浓度之间对 qP 有显著的交互影响 ( $P < 0.01$ )的结论。

### 3.2 干旱胁迫对‘美人’梅生理特性的影响

干旱诱导的代谢失调促进了活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的产生,进而影响细胞的氧化还原调节状态<sup>[35]</sup>。在本研究中,随着干旱胁迫程度的加深, SOD 和 POD 的酶活性与调控 SOD 和 POD 活性的基因 *PmSOD*、*PmPOD* 表达变化趋势基本一致,这与祁伟亮等<sup>[36]</sup>对桑树(*Morus alba*)的研究结果相似。MDA 含量的变化是评价

植物抗逆性强弱的重要指标,MDA 含量越高,表明植物细胞膜脂质过氧化越严重,‘美人’梅 MDA 含量呈持续上升的趋势,这是因为梅花叶片细胞受到伤害时,导致膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的产生以适应干旱条件,细胞结构破坏,代谢系统紊乱,从而细胞膜脂质过氧化程度加深<sup>[37]</sup>。相关研究表明,干旱胁迫提高了脱落酸(abscisic acid, ABA)、水杨酸(salicylic acid, SA)和乙烯(ethylene, ET)等植物激素的水平,但降低了细胞分裂素(cytokinin, CTK)等活性物质的水平,表明存在抑制性信号<sup>[38]</sup>。ABA 通过提高水分利用效率来调节植物对非生物胁迫的响应<sup>[39]</sup>。ABA 信号途径是以 PYLs 受体介导的信号通路,核心元件为 PYLs、PP2Cs 和 SnRK2s 蛋白,在本研究中,随着干旱胁迫程度的加深,与 PP2C 和 SnRK2 有关的基因上调表达,这有可能是因为累积的 ABA 被活化,使下游相关抗性基因被诱导表达,这与崔思宇等<sup>[40]</sup>对燕麦(*Avena sativa*)在干旱胁迫下的研究结果一致。研究表明在拟南芥中过表达 *AtPYL2* 基因可提高转基因植株的抗旱性<sup>[41]</sup>,本研究中发现 *PmPYL12* 基因的表达与前人研究结果<sup>[33]</sup>一致。渗透保护物如糖、糖醇和脯氨酸等能通过渗透调节来降低水势,以提高植物对干旱的耐受性<sup>[42]</sup>。蔗糖合成酶(SUS)能合成和分解蔗糖,是植物渗透调节中的关键物质,在本研究中,值得关注的是, *PmSUS2* 基因在重度干旱下显著上调,复水后下调,这与可溶性糖的变化趋势一致,表明‘美人’梅通过增强蔗糖合成酶活性来促进蔗糖积累,从而抵御干旱胁迫。Lin 等<sup>[43]</sup>发现 TPP 家族参与植物叶片气孔调节,拟南芥的海藻糖-6-磷酸磷酸酶异构酶(trehalose-6-phosphatephosphatase, TPPI)基因能增强植物的耐旱能力。研究表明 1-吡咯啉-5-羧酸合成酶(pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)和鸟

氨酸转移酶(ornithine aminotransferase, OAT)是植物脯氨酸合成的 2 条途径<sup>[44]</sup>。本研究中‘美人’梅的 *PmP5CS* 基因在中度和重度干旱胁迫下上调表达,而 OAT 的表达水平保持稳定未出现显著变化,表明‘美人’梅在遭受干旱胁迫时主要通过 P5CS 途径促进脯氨酸的合成,这与刘声传<sup>[45]</sup>对茶树(*Camellia sinensis*)在干旱胁迫下的研究结果一致。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联途径通过对底物蛋白质丝氨酸/苏氨酸位点的磷酸化将受体感知的胞外刺激信号整合放大传递至下游,引起不同的应答过程<sup>[46]</sup>。本研究中 *PmMAPKKK18* 也在重度干旱下显著上调,复水后下调,与李媛媛<sup>[47]</sup>对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的研究结果一致,表明‘美人’梅在遭受干旱胁迫时,首先会促进 ABA 的合成进而激活 ABA 信号通路,这时位于信号通路下游的转录因子 ABI4 和 ABI5 同样会被激活,激活的 MAPKKK18 启动子区的结合元件增强 MAPKKK18 在转录水平上的表达,进而激活体内的 MAPK 级联信号传导途径,来促进植物体内气孔的快速关闭以及水分散失速率的降低,最终增强‘美人’梅对干旱胁迫的耐受力。

水通道蛋白(AQP)通过调节细胞和组织间的水分运动和离子稳态,增强植物对胁迫的耐受性<sup>[48]</sup>。目前, AQP 研究最广泛的是液泡膜内在蛋白(TIP)和质膜内在蛋白(PIP) 2 个亚族。本研究中的 *PmPIPI-2* (LOC103337532)和 *PmTIP1-3* (LOC103332605)基因在重度干旱下显著下调表达,复水后上调表达,与 Zupin 等<sup>[49]</sup>对菜豆的研究结果相似,表明‘美人’梅在转录水平上表达下降导致蛋白活性下降,降低植物体内水分流失以维持水稳态,保证植物体正常的生命活动。热激蛋白(HSP)主要功能是参与细胞内蛋白质稳态调控、底物蛋白的激活和热激因子的

调控<sup>[50]</sup>。按分子量大小可将 HSPs 分为 HSP20、HSP60、HSP70、HSP90 和 HSP100 5 个基因家族。植物 HSP90 是 HSP 蛋白家族中分子量较大的一类参与各种逆境胁迫响应的持家蛋白。在本研究中,随着干旱胁迫程度的加深,*PmHSP90-2* 和 *PmHSP21* 呈先下调后上调的趋势,其余呈下调的趋势,表明 HSP 基因不全部受干旱胁迫诱导上调表达,HSP90 和 HSP21 基因家族对提高‘美人’梅耐旱性至关重要,这与前人在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)<sup>[51]</sup>、谷子 (*Foxtail millet*)<sup>[52]</sup> 中得到的研究结论一致。胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA)是植物在受到逆境胁迫时诱导合成的一类功能蛋白,在植物抗逆境中发挥重要的作用。本研究中,*PmLEA41* 在中重度干旱下显著下调表达,复水后上调表达,这与金莲花(*Trollius chinensis*)的 LEA 基因在干旱胁迫下全部上调的研究结果不一致<sup>[53]</sup>,推测干旱胁迫的严重程度、持续时间和植物内在因素(如个体、生长阶段和植物类型)都有可能成为 LEA 基因表达差异的影响因素。有关‘美人’梅具体的抗旱分子机制以及差异基因验证还有待进一步研究。

## 4 结论

本研究运用生理分析结合转录组分析,初步揭示了‘美人’梅的抗旱分子机制。筛选出分别与抗氧化酶、植物激素、渗透调节物质、MAPK 植物信号、光合作用和功能蛋白相关差异基因 54、77、21、7、39、19 个。推测‘美人’梅受体感受到外界干旱信号后,激素如 ABA 等积极参与信号传导,随后通过 MYB、ERF、bHLH、NAC 和 WRKY 等转录因子调节 *PmSOD* 和 *PmPOD* 等抗氧化酶基因、*PmAtpF* 和 *PmAtpE* 等光合作用基因、*PmSUS2* 和 *PmP5C5* 等渗透调节基因、*PmPIP1-2* 和 *PmLEA41* 等功能蛋白基因上调或下调表达,从而出现了抗氧化酶活

性降低、光合作用能力降低和渗透调节变弱等生理响应以抵御干旱胁迫。

## REFERENCES

- [1] WANG XY, LI XM, ZHAO W, HOU XM, DONG SK. Current views of drought research: experimental methods, adaptation mechanisms and regulatory strategies[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1371895.
- [2] BASHIR SS, HUSSAIN A, HUSSAIN SJ, ALI WANI O, ZAHID NABI S, DAR NA, BALOCH FS, MANSOOR S. Plant drought stress tolerance: understanding its physiological, biochemical and molecular mechanisms[J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2021, 35(1): 1912-1925.
- [3] BANDURSKA H. Drought stress responses: coping strategy and resistance[J]. *Plants*, 2022, 11(7): 922.
- [4] ZHANG W, WANG SC, LI Y. Molecular mechanism of thiamine in mitigating drought stress in Chinese wingnut (*Pterocarya stenoptera*): insights from transcriptomics[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 263: 115307.
- [5] WANG D, CHEN QY, CHEN WW, GUO QG, XIA Y, WANG SM, JING DL, LIANG GL. Physiological and transcription analyses reveal the regulatory mechanism of melatonin in inducing drought resistance in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) seedlings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 181: 104291.
- [6] SUN XZ, HU SM, WANG X, LIU H, ZHOU YW, GUAN QJ. De novo assembly of *Amorpha fruticosa* L. transcriptome in response to drought stress provides insight into the tolerance mechanisms[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11044.
- [7] ZHANG XJ, SUN WK, CHEN XY, CHEN LL, LV ZC, HE HJ, YAN WD. Integrated physiological and transcriptomic analysis reveals mechanism of leaf in *Phellodendron* Chinese Schneid seedlings response to drought stress[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 198: 116679.
- [8] LI HE, YAO WJ, FU YR, LI SK, GUO QQ. De novo assembly and discovery of genes that are involved in drought tolerance in Tibetan *Sophora moorcroftiana*[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e111054.
- [9] YANG YJ, MA KF, ZHANG TX, LI LL, WANG J, CHENG TR, ZHANG QX. Characteristics and expression analyses of trehalose-6-phosphate synthase family in *Prunus mume* reveal genes involved in trehalose biosynthesis and drought response[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(10): 1358.
- [10] DING AQ, BAO F, CHENG WH, CHENG TR, ZHANG QX. Phylogeny of *PmCCD* gene family and expression analysis of flower coloration and stress response in *Prunus mume*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(18): 13950.
- [11] BAO F, DU DL, AN Y, YANG WR, WANG J, CHENG TR, ZHANG QX. Overexpression of *Prunus mume* dehydrin genes in tobacco enhances tolerance to cold and drought[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 151.
- [12] 杨永娟. 梅花品种耐旱性差异分析及褪黑素合成基因功能研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2021.

- YANG YJ. Difference analysis of drought tolerance in cultivars of *Prunus mume* and function study of genes in melatonin biosynthesis[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2021 (in Chinese).
- [13] 李合生. 现代植物生理学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- Li HS. Modern Plant Physiology[M]. 3rd edition. Beijing: Higher Education Press, 2012 (in Chinese).
- [14] 李庆卫. 川、滇、藏、黔野梅种质资源调查和梅花抗寒品种区域试验的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2010.
- LI QW. Studies on investigation of wild Mei germplasm resources of Sichuan, Yunnan, Xizang and Guizhou as well as regional tests of hardy Mei cultivars in North China[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2010 (in Chinese).
- [15] TRAPNELL C, WILLIAMS BA, PERTEA G, MORTAZAVI A, KWAN G, van BAREN MJ, SALZBERG SL, WOLD BJ, PACHTER L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(5): 511-515.
- [16] ZHANG M, WANG LF, ZHANG K, LIU FZ, WAN YS. Drought-induced responses of organic osmolytes and proline metabolism during pre-flowering stage in leaves of peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, 16(10): 2197-2205.
- [17] HOEKSTRA FA, GOLOVINA EA, BUITINK J. Mechanisms of plant desiccation tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(9): 431-438.
- [18] 牛欣益, 马瑞. 红砂幼苗叶片生理特性对干旱胁迫的响应[J]. 草业科学, 2023, 40(10): 2483-2492.
- NIU XY, MA R. Effects of drought stress on leaf physiology of *Reaumuria soongorica* seedlings during the growing season[J]. Pratacultural Science, 2023, 40(10): 2483-2492 (in Chinese).
- [19] BALDONI E, GENGA A, COMINELLI E. Plant MYB transcription factors: their role in drought response mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(7): 15811-15851.
- [20] YANG J, HE RQ, QU ZP, GU JB, JIANG LY, ZHAN XQ, GAO Y, ADELSON DL, LI SS, WANG ZY, ZHU YL, WANG D. Long noncoding RNA *ARTA* controls ABA response through MYB7 nuclear trafficking in *Arabidopsis*[J]. Developmental Cell, 2023, 58(13): 1206-1217.
- [21] MASE K, MIZUNO H, NAKAMICHI N, SUZUKI T, KOJIMA T, KAMIYA S, TAKEUCHI T, KONDO C, YAMASHITA H, SAKAOKA S, MORIKAMI A, TSUKAGOSHI H. AtMYB50 regulates root cell elongation by upregulating *PECTIN METHYLESTERASE INHIBITOR 8* in *Arabidopsis thaliana*[J]. PLoS One, 2023, 18(12): e0285241.
- [22] MONDAL SK, ROY S. Genome-wide sequential, evolutionary, organizational and expression analyses of phenylpropanoid biosynthesis associated MYB domain transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2018, 36(6): 1577-1601.
- [23] USADEL B, POREE F, NAGEL A, LOHSE M, CZEDIK-EYSENBERG A, STITT M. A guide to using MapMan to visualize and compare Omics data in plants: a case study in the crop species, Maize[J]. Plant, Cell & Environment, 2009, 32(9): 1211-1229.
- [24] DÉJARDIN A, SOKOLOV LN, KLECZKOWSKI LA. Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthase genes in *Arabidopsis*[J]. The Biochemical Journal, 1999, 344(Pt 2): 503-509.
- [25] LIU ZY, WANG CF, YANG JJ, LIU X, LI LJ, CHENG LB, LI SY. Molecular cloning and functional analysis of lotus salt-induced *NnDREB2C*, *NnPIP1-2* and *NnPIP2-1* in *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(1): 497-506.
- [26] RAMON M, De SMET I, VANDESTEEENE L, NAUDTS M, LEYMAN B, Van DIJCK P, ROLLAND F, BEECKMAN T, THEVELEIN JM. Extensive expression regulation and lack of heterologous enzymatic activity of the Class II trehalose metabolism proteins from *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant, Cell & Environment, 2009, 32(8): 1015-1032.
- [27] YAMADA M, MORISHITA H, URANO K, SHIOZAKI N, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K, YOSHIBA Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 417(56): 1975-1981.
- [28] KIZIS D, LUMBRERAS V, PAGÈS M. Role of AP2/EREBP transcription factors in gene regulation during abiotic stress[J]. FEBS Letters, 2001, 498(2/3): 187-189.
- [29] ABDEL-GHANY SE, ULLAH F, BEN-HUR A, REDDY ASN. Transcriptome analysis of drought-resistant and drought-sensitive *Sorghum* (*Sorghum bicolor*) genotypes in response to PEG-induced drought stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 772.
- [30] WANG SZ, CHEN WY, YANG CD, YAO J, XIAO WF, XIN Y, QIU JR, HU WM, YAO HG, YING W, FU YP, TONG JX, CHEN ZZ, RUAN SL, MA HS. Comparative proteomic analysis reveals alterations in development and photosynthesis-related proteins in diploid and triploid rice[J]. BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 199.
- [31] 赵雷, 靳海笛, 曹晓云, 邓文辉, 杜灵娟. 六个东方铁筷子品种对于干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[J]. 应用生态学报, 2023, 34(10): 2644-2654.
- ZHAO L, JIN HD, CAO XY, DENG WH, DU LJ. Physiological response to drought stress and drought resistance of six *Helleborus orientalis* cultivars[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2023, 34(10): 2644-2654 (in Chinese).
- [32] ZHANG JM, JIANG H, SONG XZ, JIN JX, ZHANG XY. The responses of plant leaf CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O exchange and water use efficiency to drought: a meta-analysis[J]. Sustainability, 2018, 10(2): 551.
- [33] McDOWELL N, POCKMAN WT, ALLEN CD, BRESHEARS DD, COBB N, KOLB T, PLAUT J, SPERRY J, WEST A, WILLIAMS DG, YEPEZ EA. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?[J]. The New Phytologist, 2008,

- 178(4): 719-739.
- [34] LI QM, LIU BB, WU Y, ZOU ZR. Interactive effects of drought stresses and elevated CO<sub>2</sub> concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50(10): 1307-1317.
- [35] LAXA M, LIEBTHAL M, TELMAN W, CHIBANI K, DIETZ KJ. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance[J]. *Antioxidants*, 2019, 8(4): 94.
- [36] 祁伟亮, 任迎虹, 杨财容, 乔岩, 曾睿, 黄仁维, 乔义林. 干旱胁迫下桑树活性氧信号传导及转录组分析[J]. *干旱地区农业研究*, 2023, 41(2): 50-60.
- QI WL, REN YH, YANG CL, QIAO Y, ZENG R, HUANG RW, QIAO YL. Signal transduction and transcriptome analysis of reactive oxygen species in mulberry under drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2023, 41(2): 50-60 (in Chinese).
- [37] 双王, 鹏亮, 钟顺清. 汞胁迫对不同品种有色水稻根系生长及汞积累的影响[J/OL]. *生态学杂志*. [2025-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240605.1636.008.html>.
- SHUANG W, PENG L, ZHONG SQ. Effect of mercury stress on root growth and mercury accumulation in different color rice cultivars.[J/OL]. *Chinese Journal of Ecology*. [2025-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240605.1636.008.html> (in Chinese).
- [38] ABBAS K, LI JR, GONG BB, LU YS, WU XL, LÜ GY, GAO HB. Drought stress tolerance in vegetables: the functional role of structural features, key gene pathways, and exogenous hormones[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(18): 13876.
- [39] PERVAIZ T, LIU SW, UDDIN S, AMJID MW, NIU SH, WU HX. The transcriptional landscape and hub genes associated with physiological responses to drought stress in *Pinus tabulaeformis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9604.
- [40] 崔思宇, 张志芬, 付晓峰, 刘俊青, 杨海顺. 燕麦植物激素信号转导通路中响应干旱胁迫的关键基因[J]. *麦类作物学报*, 2023, 43(11): 1384-1393.
- CUI SY, ZHANG ZF, FU XF, LIU JQ, YANG HS. Key genes in response to drought stress in plant hormone signal transduction pathway of oat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2023, 43(11): 1384-1393 (in Chinese).
- [41] CAO MJ, ZHANG YL, LIU X, HUANG H, ZHOU XE, WANG WL, ZENG A, ZHAO CZ, SI T, DU JM, WU WW, WANG FX, XU HE, ZHU JK. Combining chemical and genetic approaches to increase drought resistance in plants[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1183.
- [42] KLEIN T, HOCH G, YAKIR D, KÖRNER C. Drought stress, growth and nonstructural carbohydrate dynamics of pine trees in a semi-arid forest[J]. *Tree Physiology*, 2014, 34(9): 981-992.
- [43] LIN QF, WANG S, DAO YH, WANG JY, WANG K. *Arabidopsis thaliana* trehalose-6-phosphate phosphatase gene *TPPI* enhances drought tolerance by regulating stomatal apertures[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(14): 4285-4297.
- [44] XU YJ, GAO S, YANG YJ, HUANG MY, CHENG LN, WEI Q, FEI ZJ, GAO JP, HONG B. Transcriptome sequencing and whole genome expression profiling of chrysanthemum under dehydration stress[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 662.
- [45] 刘声传. 茶树对干旱胁迫和复水响应的生理、分子机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- LIU SC. Physiological and molecular mechanisms of tea plants' response to drought stress and rehydration[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015 (in Chinese).
- [46] 尚孟笛, 王秋霞. 蛋白激酶在药用植物非生物胁迫中的作用机制研究[J]. *中药材*, 2024, 6: 1583-1592.
- SHANG MD, WANG QX. Studies on the mechanism of protein kinase action in abiotic stress of medicinal plants[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2024, 6: 1583-1592 (in Chinese).
- [47] 李媛媛. *AtMAPKKK18* 调节干旱胁迫抗性的分子机理研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- LI YY. Study on molecular mechanism of *AtMAPKKK18* regulating drought stress resistance[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [48] 李燕, 李良良, 丁贵杰. 植物水通道蛋白对高温干旱胁迫的响应[J/OL]. *分子植物育种*. [2025-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240422.1440.007.html>.
- LI Y, LI LL, DING GJ. Research progress on the response of plant aquaporin to high temperature and drought stress[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*. [2025-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240422.1440.007.html> (in Chinese).
- [49] ZUPIN M, SEDLAR A, KIDRIC M, MEGLIC V. Drought-induced expression of aquaporin genes in leaves of two common bean cultivars differing in tolerance to drought stress[J]. *Journal of Plant Research*, 2017, 130(4): 735-745.
- [50] 杨芳, 乔岩, 王永强, 李茜, 李丹, 王亚士, 柴薇薇. 马铃薯 HSP90 基因家族的全基因组鉴定及高温干旱胁迫下的表达分析[J]. *西北农业学报*, 2022, 31(6): 690-702.
- YANG F, QIAO Y, WANG YQ, LI Q, LI D, WANG YS, CHAI WW. Genome-wide identification of *HSP90* genes and expression analysis under high temperature and drought stresses in potato[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2022, 31(6): 690-702 (in Chinese).
- [51] SONG HM, ZHAO RM, FAN PX, WANG XC, CHEN XY, LI YX. Overexpression of *AtHsp90.2*, *AtHsp90.5* and *AtHsp90.7* in *Arabidopsis thaliana* enhances plant sensitivity to salt and drought stresses[J]. *Planta*, 2009, 229(4): 955-964.
- [52] 桑璐曼, 汤沙, 张仁梁, 贾小平, 刁现民. 谷子热激蛋白 HSP90 基因家族鉴定及分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2022, 23(4): 1085-1097.
- SAN LM, TANG S, ZHANG RL, JIA XP, DIAO XM. Identification and analysis of heat shock protein HSP90 family genes in foxtail millet[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(4): 1085-1097 (in Chinese).
- [53] 徐文艺. 金莲花幼苗对干旱-复水的生理响应及转录组分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2024.
- XU WY. Physiological and transcriptome analysis of *Trollius chinensis* seedlings in response to drought and rehydration[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2024 (in Chinese).