

刘艺平,张一琪,苏少文,等.混合盐碱胁迫下不同抗性荷花品种比较转录组分析[J].江苏农业科学,2022,50(3):1-8.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.03.001

# 混合盐碱胁迫下不同抗性荷花品种比较转录组分析

刘艺平<sup>1,2</sup>,张一琪<sup>1</sup>,苏少文<sup>1</sup>,刘红利<sup>1,2</sup>,贺丹<sup>1,2</sup>,孔德政<sup>1,2</sup>

(1.河南农业大学风景园林与艺术学院,河南郑州 450000; 2.河南省优质花卉蔬菜种苗工程研究中心,河南郑州 450000)

**摘要:**为研究荷花的耐盐碱机制,以混合盐碱胁迫处理前后的抗性荷花品种黄帅 TO 及敏感品种台湾磨盘莲 SE 为试验材料,进行转录组测序,并运用 qRT-PCR 法验证测序结果的准确性。2 个品种在混合盐碱胁迫下共检测到 4 916 个差异表达基因,其中,上调表达基因 3 101 个,下调表达基因 1 815 个,对抗性品种的 49 个特有差异基因进行分析发现,与细胞壁合成有关基因在耐盐碱胁迫中起着重要的作用;GO 富集分析发现,敏感品种与抗性品种差异基因富集最多的条目相同,但敏感品种富集的差异基因数目更多,推测不同材料间基因功能的差异在决定材料特性时发挥着重要作用;KEGG 通路分析表明,苯丙烷生物合成通路在抗性品种对盐碱胁迫的响应方面发挥了重要作用,而敏感品种抗性弱主要是由于其碳代谢系统紊乱。qRT-PCR 结果表明,本次转录组测序结果可靠。荷花耐盐碱胁迫过程是一个复杂的生物学过程,包括生物过程、细胞组分和分子功能多个方面的基因参与,细胞壁合成有关基因是提高荷花耐盐碱能力的关键基因,苯丙烷生物合成、碳代谢很可能是造成 2 个荷花品种耐盐碱能力差异大小的重要原因。

**关键词:**荷花;盐碱胁迫;转录组;差异基因;分子机制

**中图分类号:** S682.320.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)03-0001-08

土壤盐碱化是一种严重的非生物胁迫,通过对植物造成氧化应激、离子毒性、渗透应激和代谢干扰而影响植物的生长发育<sup>[1-2]</sup>。基于此,植物已经进化出了一系列的复杂机制来抵御盐碱胁迫,这其中涉及大量具有生物学功能基因的参与和协作<sup>[3-4]</sup>,不同的基因通过调控相应代谢途径均能提高植物的耐盐碱能力,主要包括渗透物质合成基因、抗氧化酶相关基因、离子转运蛋白基因及信号转导相关基因<sup>[5]</sup>,如 *NHX1*,1 种  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因,通过维持植物体内离子平衡来提高植物的耐盐碱能力<sup>[6]</sup>; *APX* 通过减少  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累而减少细胞膜的损伤程度,增强拟南芥的抗盐碱能力<sup>[7]</sup>等。充分了解植物应对盐碱胁迫的复杂机制,有助于植物抗性品种的繁育及盐碱地的利用。

随着高通量测序技术的发展,RNA 测序技术已经广泛应用于观察植物非生物胁迫的应激反应。

Wang 等通过转录组测序发现,筐柳 *SlWRKY28* 在盐碱胁迫下高度上调表达,且过表达 *SlWRKY28* 可以提高植株对盐碱胁迫的耐受程度<sup>[8]</sup>。张飞等利用转录组测序技术对混合盐碱胁迫下不同抗性高粱研究发现,553 个差异基因在 2 个品种中表达模式不同,159 个差异基因在耐盐品种中独特表达,并推测苯丙烷类生物合成、苯丙氨酸代谢、类黄酮生物合成 3 个途径的基因表达很可能是造成盐害的重要原因<sup>[9]</sup>。Sui 等对耐盐型和敏感型转录组测序发现,与敏感品种相比,耐盐品种在受到盐胁迫时有更多差异基因的表达,且主要富集在细胞壁的完整性、ABA 和乙烯信号转导途径<sup>[10]</sup>。表明转录组测序技术的应用有助于揭示植物抗性生理与分子机制,为植物的抗性育种提供依据。

荷花(*Nelumbo nucifera*)是我国的传统名花,具有极高的观赏价值及应用价值<sup>[11]</sup>,已有研究表明,荷花具有一定的耐盐性<sup>[12-13]</sup>,但其耐盐的分子机制尚不清楚,且自然状态下的盐胁迫多为由中性盐和碱性盐造成的复合盐碱胁迫<sup>[1]</sup>。本研究拟通过转录组测序技术,对混合盐碱胁迫后的 2 个不同抗性品种进行分析,旨在阐明不同抗性品种在受到盐碱胁迫时的分子响应机制,为其抗性育种提供理论依据。

收稿日期:2021-09-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:31600568);河南省高等学校重点研究项目(编号:21A220003);河南农业大学科技创新基金(编号:KJCX2017C01)。

作者简介:刘艺平(1977—),女,河南温县人,博士,副教授,主要从事荷花耐盐碱胁迫方面的研究。E-mail:lyp\_163@163.com。

通信作者:孔德政,博士,教授,主要从事荷花耐盐碱胁迫方面的研究。E-mail:kdz217@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验于 2020 年 7 月在河南省荥阳市中禾荷花基地进行,以筛选出的抗性品种黄帅(TO)及敏感品种台湾磨盘连(SE)为试验材料,采用盆栽法,单株种植,待长出 3~5 张叶片时,对其进行正常浇水(CK)和混合盐碱(100 mmol/L、NaCl:NaHCO<sub>3</sub> = 2:1)胁迫(处理 T),每个处理(抗性品种对照 CKTO、敏感品种对照 CKSE、抗性品种处理 TTO、敏感品种处理 TSE)3 个重复,处理 7d 后,采其幼叶用去离子水冲洗干净,过液氮后于 -80 ℃ 保存备用。

RNA 的提取与纯化、文库制备及后转录组测序由上海生工生物工程有限公司完成。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 提取及建库测序 使用 Trizol 法提取各样品总 RNA,采用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行 RNA 降解度的初步分析, Nanodrop、Agilent 2100 检验 RNA 的浓度与完整性,质检合格后,用 Oligo(dT)磁珠富集 mRNA,将 mRNA 片段化后,以此为模板合成 cDNA 的第一条链,再以第一条链为模板合成 cDNA 第二条链,并进行纯化、末端修复、加 A,加测序接头和 PCR 扩增,构建 cDNA 文库,使用 Illumina HiSeq 2000 测序平台进行本试验的高通量测序工作。

1.2.2 数据质控及生物信息学分析 对得到的原始数据 Raw dates 进行质控,去除低质量、接头污染

及未知碱基含量过高的 reads,得到 Clean reads。使用 Trinity 软件将样本过滤后的数据进行组装得到 Unigene,将拼接得到的最长转录本作为参考序列,使用 Bowtie2 将质控后的测序序列与参考序列进行比对,并通过 RSeQC 统计比对结果。

1.2.3 差异基因筛选 使用 TPM(Transcripts Per Million)法计算基因表达量,计算公式如下,采用 DEGseq 软件进行差异基因筛选,筛选条件为:表达差异倍数|log<sub>2</sub>FoldChange|>2,显著性 P<0.05 表示差异显著。对筛选出的差异表达基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析。

$$TPM_i = \frac{X_i}{L_i} \times \frac{1}{\sum \frac{X_i}{L_i}} \times 10^6。$$

式中: $X_i = total\ exon\ fragment/reads$ ;  $L_i = \frac{exonlength}{KB}$ 。

1.2.4 差异表达基因的 qRT-PCR 验证 为了确保转录组数据的可靠性,随机在 2 个品种内选取了 6 个试验中检测到的差异基因进行实时荧光定量验证,参照 Primer Script RT reagent Kit with g DNA Eraser(购自日本 TaKaRa 公司)试剂盒进行反转录合成 cDNA,以反转录产物为模板,18S rRNA 为内参,参考 TSINGKE 公司的 2×TSINGKE Master qPCR Mix(SYBR Green I)试剂盒进行实时荧光定量分析,相关基因引物设计与合成由 SunYa 生物技术有限公司完成(表 1),每个样品进行 3 次重复,采用 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup>法计算基因的相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

基因 ID	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
DN41251_c2_g1	CTAAAGTTGAAGTGTTGCGATG	TGAAGGTATAGGCAGTCCAGAG
DN46616_c2_g1	CGGGAGACTTCCGTTTACTGC	CGTTCTGGCTCTCTTTGCTTG
DN43227_c1_g1	CATCTGTAGGGCATCGTCAA	CCACTCTAATATCTCTCTCTTCTCTC
DN45120_c1_g7	AACTCCCTCTTCCTTCAGCA	CATCACTTACAAC TCACACACACGAC
DN44848_c0_g2	GTCGTGGTTGAGACGGTTGA	GTCGTGGTTGAGACGGTTGA
DN43496_c0_g5	TCAACTCATAGAAAAC TTACCCAG	AGGAGAATCATCGGCACACG

2 结果与分析

2.1 转录组数据质控分析

本次测序共获得 564 481 710 个原始 reads,经过过滤后获得高质量数据 547 338 444 个 reads,12 个样品 Q20 碱基在 97% 以上,Q30 碱基在 90% 左右,测序错误率小,GC 含量在 46.74%~54.54%,各样品与参考序列比对率在 94.40%~96.26%(表 2),

说明本次 RNA-seq 的 reads 整体测序质量好,可用于后续相关分析。

2.2 差异表达基因的分析

以 P<0.05 且差异倍数|Fold Change|>2 为筛选条件,统计 2 个荷花品种混合盐碱胁迫处理前后差异基因表达情况(图 1)。与对照组相比,混合盐碱胁迫处理后,在 2 个品种内共检测到 4 916 个差异表达基因,其中,3 101 个基因上调表达,1 815 个



表 3 抗性品种耐盐碱相关基因及功能描述

基因名称	log <sub>2</sub>  FC  值	结果	功能
TRINITY_DN38501_c1_g1	4.842	up	转录调控、调节苯丙烷生物合成及木质素生成过程
TRINITY_DN41806_c4_g2	3.259	up	转录调控、细胞分化、根形态发生调控、离子稳态
TRINITY_DN44276_c0_g6	2.655	up	纤维素生物合成、植物初生壁、次生壁生物形成、细胞壁组织
TRINITY_DN45019_c1_g1	2.164	up	纤维素生物合成、植物初生壁生物合成、皮质维管组织
TRINITY_DN42546_c2_g3	3.180	up	木葡聚糖代谢、细胞壁生物合成
TRINITY_DN42546_c1_g2	5.536	up	木葡聚糖代谢、细胞壁生物合成
TRINITY_DN41630_c1_g3	4.243	up	细胞壁生物合成、响应 BR 应激
TRINITY_DN39141_c0_g1	3.748	up	Ca <sup>2+</sup> 传感器
TRINITY_DN38416_c2_g1	3.412	up	参与氧化应激、木质素生物合成
TRINITY_DN46616_c2_g1	2.910	up	木质素分解代谢
TRINITY_DN38635_c0_g1	2.349	up	尿素转运、细胞膜组成成分
TRINITY_DN40390_c1_g3	2.148	up	Aux/IAA 家族蛋白,参与生长素激活信号通路、转录调控
TRINITY_DN44792_c2_g6	2.012	up	开花,应激反应,转录调控
TRINITY_DN42283_c0_g2	-3.711	down	ER 应激、细菌、真菌防御反应

差异基因进行了 GO 功能分析(图 2)发现,抗性品种中共有 568 条差异基因被富集到 3 个主类中的 39 个亚类中,主要富集在生物学过程的细胞过程、代谢过程、刺激反应,细胞组分的细胞部分、细胞、细胞膜、膜、以及细胞器以及分子功能的催化活性和结合。敏感品种共有 3 639 条差异基因被富集到 3 个主类的 47 个亚类中,主要富集亚类与抗性品种相同,但差异基因数量远远高于抗性品种。

2.4 差异基因 KEGG 富集分析

通过 KEGG 通路富集分析发现,抗性品种与敏

感品种在应对盐碱胁迫时所触发的生理代谢机制存在较大差异(图 3)。耐盐品种主要在苯丙酸类生物合成、苯丙氨酸代谢通路中显著富集,其次是植物 MAPK 信号通路、植物病原体相互作用等 12 个通路,但差异基因较少;敏感品种显著富集通路有苯丙酸类生物合成、碳代谢及光合系统固碳,其次是淀粉和蔗糖代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、类黄酮生物合成等途径。

2.5 苯丙烷生物合成途径

苯丙烷生物合成途径是植物中重要的次生产

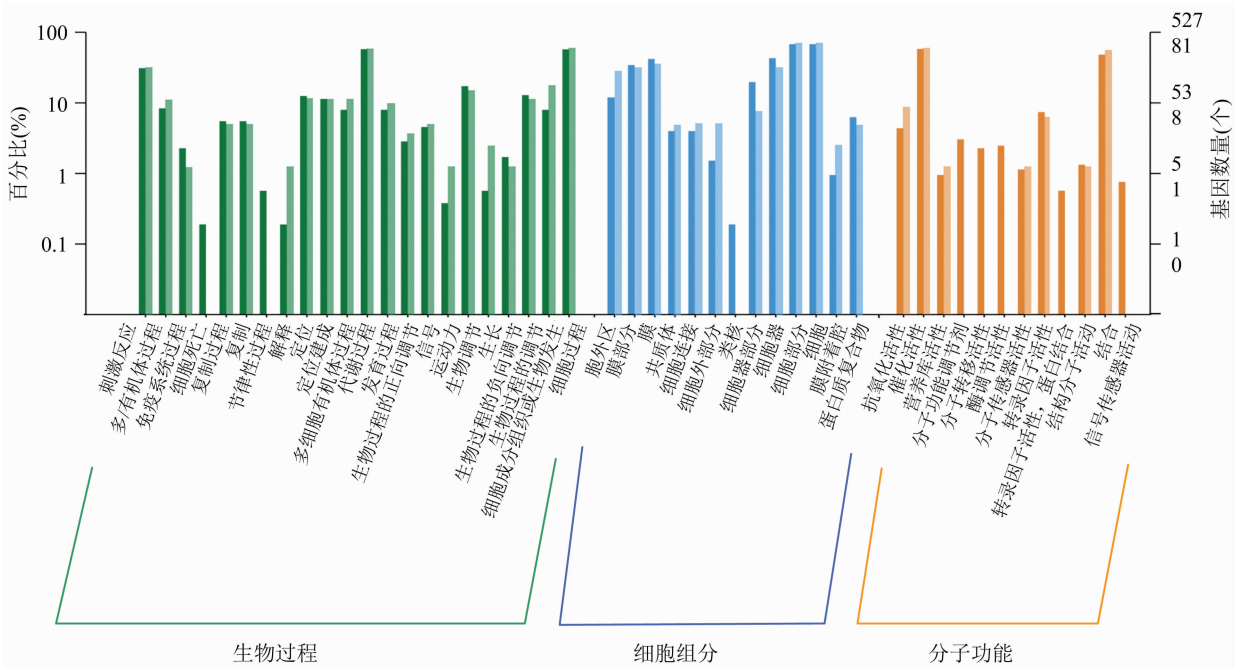


图2 差异基因 GO 功能分析

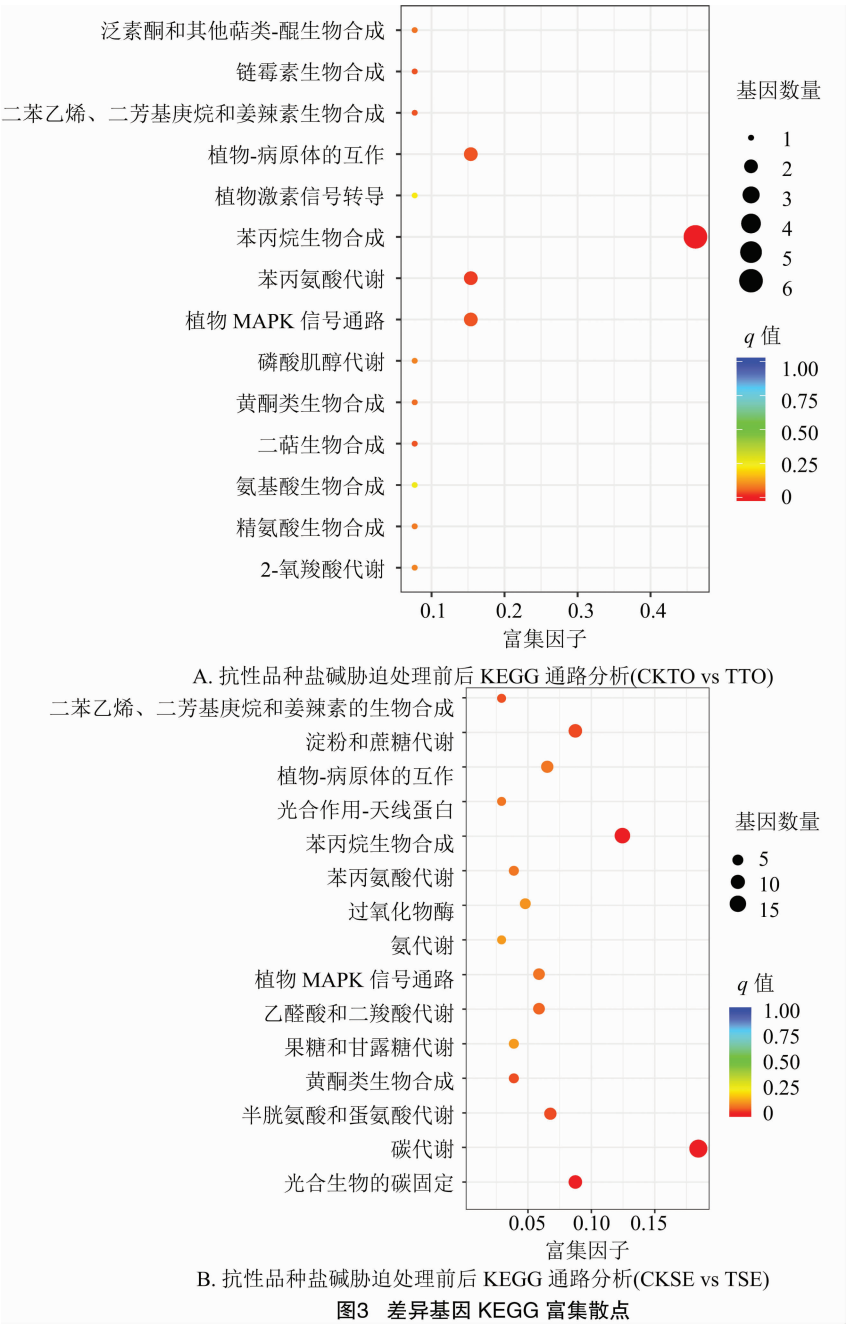


图3 差异基因 KEGG 富集散点

物合成途径之一,参与水杨酸、木质素、类黄酮等多种次生产物的合成。在盐碱胁迫处理后,抗性品种和敏感品种的差异基因均在该通路显著富集。其中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)在抗性品种中显著上调,在敏感品种内无显著变化;4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)在 2 个品种均显著上调;莽草酸邻羟基肉桂酰基转移酶(HQT)、过氧化物酶 POD 在抗性品种中上调表达,在敏感品种中下调表达;编码阿魏酸-5-羟化酶(F5H)的基因在敏感品种中下调,在抗性品种内无显著变化。

### 2.6 碳代谢相关途径

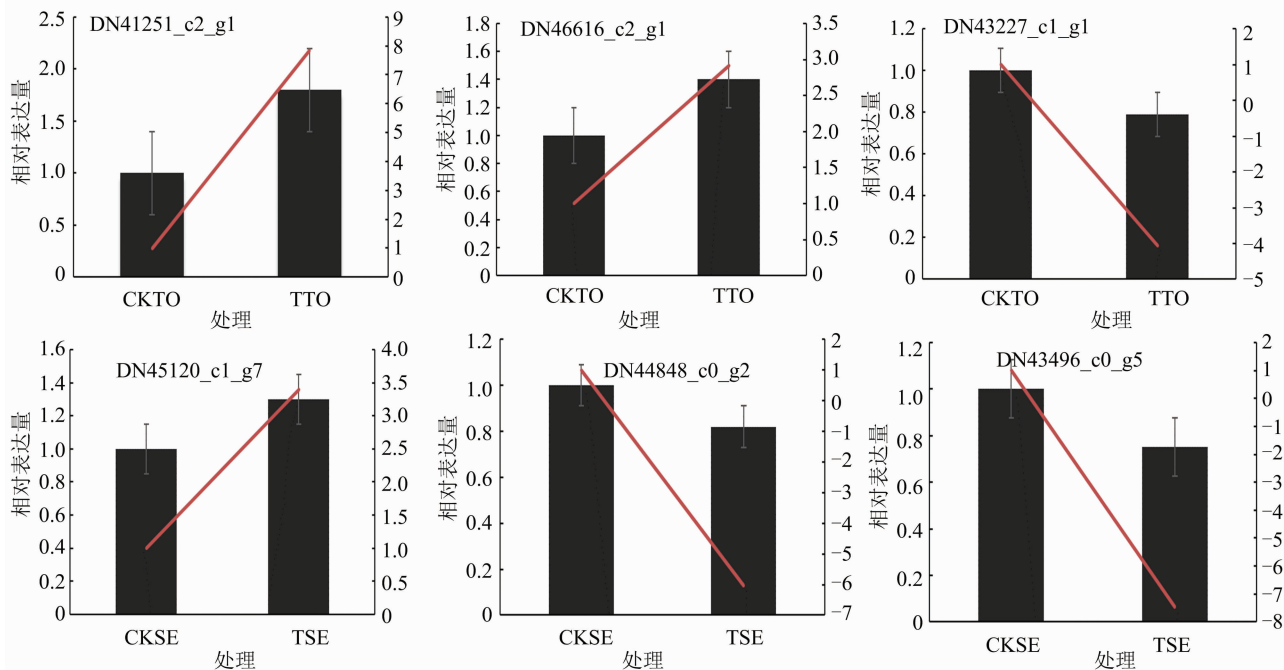
碳代谢是植物体内最重要的基础代谢,包括光合作用、呼吸作用、光呼吸等一系列生理生化过程。在敏感品种中,参与呼吸作用的醛缩酶(ALDO)、磷酸甘油酸酯激酶(PGK)、磷酸果糖酯酶(FBP)基因上调表达,顺乌头酸水合酶(ACO)、异柠檬酸脱氢酶(ICD)、转醛醇酶(talA)基因下调表达;与光合作用有关丙氨酸转氨酶(ALT)、3-磷酸甘油酸激酶(PGAK)、醛缩酶(ALDO)等 6 个基因上调表达,磷酸丙酮酸双激酶(PPDK)、NADP-苹果酸脱氢酶

(maeB)下调表达。

## 2.7 qRT-PCR 验证

为验证转录组测序的准确性,随机选取转录组测序检测到的 6 个差异基因进行 qRT-PCR 验证(图 4)。结果表明,富半胱氨酸受体样蛋白激酶 8 (TRINITY\_DN41251\_c2\_g1)、漆酶-25 (TRINITY\_

DN46616\_c2\_g1)、转录因子 SPCH (TRINITY\_DN43227\_c1\_g1)、锌指蛋白 CONSTANS-LIKE 2 (TRINITY\_DN45120\_c1\_g7)、转录因子 WRKY1 (TRINITY\_DN44848\_c0\_g2)、过氧化物酶 52 (TRINITY\_DN43496\_c0\_g5) 相对表达量与转录组测序变化趋势一致,表明本次转录组测序结果可靠。



红线代表相关基因 qRT-PCR 结果, 黑色柱状图代表相关基因转录组测序结果

图4 部分差异表达基因

## 3 讨论与结论

土壤盐碱化严重影响植物的生长发育,且面积正在进一步扩张,因此,了解植物的耐盐碱机制对其抗性育种工作具有重要的现实意义<sup>[1]</sup>。本研究选取荷花抗性品种 TO、敏感品种 SE 对其进行转录组测序,结果表明,与对照组相比,抗性品种 TO 和敏感品种 SE 在盐碱胁迫处理后分别获得了 117 个和 652 个 DEGs,其中,耐盐品种特有差异基因 49 个,并进一步筛选出与细胞壁合成、木质素合成以及植物激素信号转导有关的耐盐碱关键基因,同时,钙结合蛋白、水通道蛋白也发生了相应的变化。

植物在盐碱胁迫下,过量的  $\text{Na}^+$  会对植物造成离子胁迫和渗透胁迫,导致细胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  含量增加, $\text{Ca}^{2+}$  作为一个重要的二级信使,通过结合和激活  $\text{Ca}^{2+}$  传感器,在植物生长发育和应对环境胁迫中起着关键作用<sup>[14]</sup>。水通道蛋白可促进水和小的中性溶质跨细胞膜的运输,在维持细胞膨压方面发挥着重要的作用。植物细胞壁是一个由纤维素、半纤

维素、果胶、木质素和多种结构蛋白组成的动态网络<sup>[15]</sup>,在植物生长发育及应对环境胁迫过程中发挥着重要的作用。细胞壁是决定细胞形状和功能的重要因素,也是抵御盐胁迫的第一层防御因素,细胞壁合成缺陷的植物对盐胁迫显示出高度敏感性<sup>[16-18]</sup>。在本研究中,抗性品种 TO 在盐碱胁迫下,与细胞壁合成、木质素合成的多个基因表达量上调,包括 2 个关键转录因子 MYB 及 NAC,其中 NAC 结构域转录因子是植物次生细胞壁合成的主要调控因子,过表达白桦 *BpMYB46* 和 *BpNAC012* 增强了转基因株系的耐盐性<sup>[19-21]</sup>。推测该品种在盐碱胁迫下通过保持细胞壁的完整性,阻止有害物质进入细胞,进而在维持自身正常生长代谢过程中发挥着重要的作用。

盐芥 (*Thellugiella halophila*) 是拟南芥的近源物种,具有极强的耐盐性,在盐胁迫处理下,盐芥和拟南芥均具有相应的基因参与盐胁迫响应,但盐芥响应基因数量较少<sup>[22-23]</sup>,表明不同材料间基因功能的差异在决定材料间特性时发挥着重要的作用。在

本研究中也类似的发现,抗性品种和敏感品种的前 10 个主要富集的 GO 功能分类相同,主要集中在生物学过程的细胞过程、代谢过程、刺激反应,细胞组分的细胞部分、细胞、细胞膜、膜、细胞器以及分子功能的催化活性和结合,但敏感品种的差异基因数量远多于抗性品种,综上所述,品种自身基因与品种特性间存在重要的相关性。

KEGG 富集分析表明,在盐碱胁迫下,抗性品种和敏感品种均在苯丙烷生物合成途径中显著富集。苯丙烷类代谢是花青素、黄酮、花色素苷、香豆素、肉桂酸及木质素等多种代谢产物的合成途径,在植物生长发育及应对逆境胁迫中发挥着重要的作用<sup>[24]</sup>。本研究中,荷花在盐碱胁迫下的苯丙烷生物合成途径主要合成本木质素,木质素不仅是植物次生细胞壁的组成部分,还参与脉管系统组分的形成,具有机械支持、运输水和营养的作用,参与植物的多种生理防御机制<sup>[25-26]</sup>。其中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)是苯丙烷合成途径的 2 个关键限速酶<sup>[27]</sup>。PAL、4CL 等多个与木质素合成有关的基因在 2 个品种内不表达趋势不同,推测在盐碱胁迫下,抗性品种比敏感品种合成更多的木质素参与细胞壁合成等生物学过程,从而在盐碱胁迫下拥有更强的抗性。

此外,敏感品种差异基因在碳代谢途径显著富集。植物碳代谢主要包括光合作用和呼吸作用,是植物体内重要的生理生化代谢。高等植物呼吸作用主要包括糖酵解、三羧酸循环以及磷酸戊糖途径。糖酵解-三羧酸循环(EMP pathway-TCA cycle)是非结构性碳水化合物分解代谢的主要途径,为植物的生命活动提供大部分能量<sup>[28]</sup>。葡萄糖经过糖酵解生成的丙酮酸经氧化脱羧形成乙酰辅酶 A(Acetyl-CoA),进入三羧酸循环,糖酵解通路的增强可以促进三羧酸循环,并产生更多的 ATP 来提高植物的抗逆能力<sup>[29-30]</sup>。在敏感品种中,参与糖酵解途径关键限速酶己糖激酶 HXK、磷酸果糖激酶 PFK 和丙酮酸激酶 PK<sup>[31]</sup>无显著变化,参与三羧酸循环的相关基因表达量下调。磷酸戊糖途径(PPP)是细胞代谢的基本组成部分,在维持碳同化稳态、为合成代谢提供还原分子和抑制氧化应激等方面发挥着重要的作用,转酮醇酶 TKL 和转醛醇酶 TAL 在连接磷酸戊糖途径和糖酵解途径中发挥着重要的作用<sup>[32]</sup>,在敏感品种中表达量下调。

光合作用在提高植物耐盐碱能力方面发挥着

重要作用<sup>[19,33]</sup>。高等植物光合作用的碳同化途径主要有 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 和 CAM 途径。磷酸丙酮酸双激酶 PPK 是一种控制 C<sub>4</sub> 植物光合作用速率的关键酶<sup>[34]</sup>,而 NADP-ME 通过促进 CO<sub>2</sub> 从维管束鞘细胞脱羧苹果酸的释放,并利用 C<sub>3</sub> 途径(卡尔文循环)提供的二氧化碳用于碳固定来提高光合效率<sup>[35]</sup>;景天酸代谢(CAM)是一种典型的植物光合作途径,可以降低植物的蒸腾速率和水分损失<sup>[36]</sup>。在所有的 CAM 植物中,有一类被称为“C<sub>3</sub> + CAM”的植物,在正常的环境条件下使用 C<sub>3</sub> 或 C<sub>4</sub> 途径进行光合作用,但在受到环境胁迫时通过 CAM 途径进行光合作用,提高植物对逆境胁迫的耐受能力<sup>[37]</sup>。

本研究中,敏感品种在盐碱胁迫处理后,参与 C<sub>4</sub> 途径和 CAM 循环途径的磷酸丙酮酸双激酶 PPK 和苹果酸脱氢酶 NADP-ME 表达量下调,而参与 C<sub>3</sub> 途径的 5 个基因表达量上调,推测敏感品种在盐碱胁迫下通过提高光合作用来抵御胁迫,但由于盐碱浓度过高,敏感品种不足以抵抗该胁迫,导致其整体水平上碳同化系统紊乱,抗性变弱。

综上所述,本研究通过转录组测序技术对抗性荷花品种及敏感荷花品种的耐盐碱机制进行了初步分析,荷花在盐碱胁迫下的差异基因涉及生物过程、细胞组分及分子功能 3 个方面,与细胞壁合成有关基因在盐碱胁迫下变化活跃,可能在抗性品种耐盐碱胁迫方面发挥着重要的作用,苯丙烷生物合成途径、碳代谢途径相关基因的差异表达极有可能是造成敏感品种耐盐碱能力弱的主要原因。

#### 参考文献:

- [1] Ye X X, Wang H, Cao X L, et al. Transcriptome profiling of *Puccinellia tenuiflora* during seed germination under a long-term saline-alkali stress[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 589.
- [2] Yin Z P, Zhang H, Zhao Q, et al. Physiological and comparative proteomic analyses of saline-alkali NaHCO<sub>3</sub>-responses in leaves of halophyte *Puccinellia tenuiflora* [J]. Plant and Soil, 2019, 437(1/2): 137-158.
- [3] Fang S M, Hou X, Liang X L. Response mechanisms of plants under saline-alkali stress [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 667458.
- [4] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants [J]. Cell, 2016, 167(2): 313-324.
- [5] 王俭珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展 [J]. 生态学报, 2017, 37(16): 5565-5577.
- [6] 李晓薇, 郭嘉, 王鑫, 等. 羊草液泡膜 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 逆向转运蛋白基因 *LcNHX1* 的克隆及功能分析 [J]. 中国草地学报, 2017, 39(5): 1-9.

- [7] Guan Q J, Wang Z J, Wang X H, et al. A peroxisomal APX from *Puccinellia tenuiflora* improves the abiotic stress tolerance of transgenic *Arabidopsis thaliana* through decreasing of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation[J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 175: 183 – 191.
- [8] Wang X, Ajab Z, Liu C X, et al. Overexpression of transcription factor SIWRKY28 improved the tolerance of *Populus davidiana* × *P. bolleana* to alkaline salt stress [J]. BMC Genetics, 2020, 21 (1): 103.
- [9] 张 飞, 王艳秋, 朱 凯, 等. 不同耐盐性高粱在盐逆境下的比较转录组分析[J]. 中国农业科学, 2019, 52(22): 4002 – 4015.
- [10] Sui D Z, Wang B S. Transcriptome analysis reveals complex defensive mechanisms in salt – tolerant and salt – sensitive shrub willow genotypes under salinity stress[J]. International Journal of Genomics, 2020, 2020: 6870157.
- [11] 王其超, 张行言. 中国荷花品种图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005.
- [12] 刘艺平, 苏少文, 张 琳, 等. 外源钙对荷花适应盐胁迫的影响[J]. 浙江农业学报, 2020, 32(2): 243 – 252.
- [13] Liu R J, Shi H T, Wang Y P, et al. Comparative physiological analysis of lotus (*Nelumbo nucifera*) cultivars in response to salt stress and cloning of *NnCIPK* genes [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 173: 29 – 36.
- [14] Tang M F, Xu C, Cao H H, et al. Tomato calmodulin – like protein SICML37 is a calcium (Ca<sup>2+</sup>) sensor that interacts with proteasome maturation factor SIUMPI and plays a role in tomato fruit chilling stress tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 2021, 258/259: 153373.
- [15] Lampugnani E R, Khan G A, Somssich M, et al. Building a plant cell wall at a glance [J]. Journal of Cell Science, 2018, 131 (2): jcs207373.
- [16] Tenhaken R. Cell wall remodeling under abiotic stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 5: 771.
- [17] van Zelm E, Zhang Y X, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2020, 71: 403 – 433.
- [18] Liu J W, Zhang W, Long S J, et al. Maintenance of cell wall integrity under high salinity[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 3260.
- [19] Zhao S S, Zhang Q K, Liu M Y, et al. Regulation of plant responses to salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(9): 4609.
- [20] Hu P, Zhang K M, Yang C P. BpNAC012 positively regulates abiotic stress responses and secondary wall biosynthesis [J]. Plant Physiology, 2018, 179(2): 700 – 717.
- [21] Guo H Y, Wang Y C, Wang L Q, et al. Expression of the MYB transcription factor gene *BpMYB46* affects abiotic stress tolerance and secondary cell wall deposition in *Betula platyphylla* [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(1): 107 – 121.
- [22] Arbona V, Argamasilla R, Gómez – Cadenas A. Common and divergent physiological, hormonal and metabolic responses of *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila* to water and salt stress[J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(16): 1342 – 1350.
- [23] Gong Q Q, Li P H, Ma S S, et al. Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella Halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2005, 44(5): 826 – 839.
- [24] Dixon R A, Paiva N L. Stress – induced phenylpropanoid metabolism [J]. The Plant Cell, 1995, 7(7): 1085 – 1097.
- [25] Li T, Huang Y, Khadr A, et al. DcDREB1A, a DREB – binding transcription factor from *Daucus carota*, enhances drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* and modulates lignin levels by regulating lignin – biosynthesis – related genes [J]. Environmental and Experimental Botany, 2020, 169: 103896.
- [26] Chen K Q, Guo Y N, Song M R, et al. Dual role of MdSND1 in the biosynthesis of lignin and in signal transduction in response to salt and osmotic stress in apple [J]. Horticulture Research, 2020, 7: 204.
- [27] 王 莉, 史玲玲, 张艳霞, 等. 植物次生代谢物途径及其研究进展[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(5): 500 – 508.
- [28] 李合生. 现代植物生理学[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- [29] Shu L B, Lou Q J, Ma C F, et al. Genetic, proteomic and metabolic analysis of the regulation of energy storage in rice seedlings in response to drought [J]. Proteomics, 2011, 11(21): 4122 – 4138.
- [30] Shen Q F, Yu J H, Fu L B, et al. Ionic, metabolomic and proteomic analyses reveal molecular mechanisms of root adaption to salt stress in Tibetan wild barley [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 123: 319 – 330.
- [31] Zhong M, Yuan Y H, Shu S, et al. Effects of exogenous putrescine on glycolysis and Krebs cycle metabolism in cucumber leaves subjected to salt stress [J]. Plant Growth Regulation, 2016, 79(3): 319 – 330.
- [32] Stincone A, Prigione A, Cramer T, et al. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway [J]. Biological Reviews, 2015, 90(3): 927 – 963.
- [33] Xing J H, Pan D Z, Wang L X, et al. Proteomic and physiological responses in mangrove *Kandelia candel* roots under short – term high – salinity stress [J]. Turkish Journal of Biology, 2019, 43(5): 314 – 325.
- [34] Chen Y B, Lu T C, Wang H X, et al. Posttranslational modification of maize chloroplast pyruvate orthophosphate dikinase reveals the precise regulatory mechanism of its enzymatic activity [J]. Plant Physiology, 2014, 165(2): 534 – 549.
- [35] Sonawane B V, Sharwood R E, Whitney S, et al. Shade compromises the photosynthetic efficiency of NADP – ME less than that of PEP – CK and NAD – ME C<sub>4</sub> grasses [J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(12): 3053 – 3068.
- [36] Guralnick L J, Gilbert K E, Denio D, et al. The development of crassulacean acid metabolism (CAM) photosynthesis in cotyledons of the C<sub>4</sub> species, *Portulaca grandiflora* (Portulacaceae) [J]. Plants, 2020, 9(1): 55.
- [37] Gilman I S, Edwards E J. Crassulacean acid metabolism [J]. Current Biology, 2020, 30(2): 57 – 62.