孙荷菲,杨思雨,崔秋芳.外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的转录组分析[J].华中农业大学学报,2026,45(3):246-255.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2026.03.022

外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的转录组分析

孙荷菲[1,2],杨思雨[1,3],崔秋芳[1]

1.河南牧业经济学院生命科学学院,郑州 450046;2.南京农业大学植物保护学院,南京 210095;
3.南京林业大学生态与环境学院,南京 210037

摘要 为揭示外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的分子机制,利用100 mmol/L $NaHCO_3$和Na_2CO_3(物质的量比为1:1)混合溶液模拟盐碱胁迫,硝普钠(sodium nitroprusside,SNP)为外源NO供体。试验设置7个处理,分别为空白对照、盐碱胁迫对照(100 mmol/L盐碱混合溶液)及盐碱胁迫下5个浓度梯度(50、100、150、200、250 μmol/L)的SNP处理,测定植株的可溶性糖含量、蔗糖磷酸合成酶及蔗糖合成酶活性,并对盐碱胁迫条件下最适浓度SNP处理组和对照组材料进行转录组测序。结果显示:外源NO处理提高了盐碱胁迫下羽扇豆幼苗的渗透调节物质可溶性糖含量及蔗糖合成的关键蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶活性;外源NO处理调控羽扇豆幼苗糖代谢通路中关键酶基因的表达,β-呋喃果糖苷酶、蔗糖合成酶及β-葡萄糖苷酶基因上调,GDP-甘露糖4,6-脱水酶及1,6-二磷酸果糖醛缩酶(Ⅰ类)基因下调;外源NO调控羽扇豆盐碱胁迫响应的差异转录因子主要包括bHLH、ERF、MYB_related、bZIP和C2H2。以上结果表明,外源NO可通过调控羽扇豆糖代谢通路关键基因及转录因子的表达,提高羽扇豆的耐盐碱性。

关键词 一氧化氮;羽扇豆;盐碱胁迫;糖代谢;转录组

中图分类号 S682.19 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2026)03-0246-10

土壤盐碱化是全球可利用耕地面积减少的重要因素[1]。中国是全球盐碱地资源分布最广、规模最大的国家之一[2]。盐碱胁迫是制约农业可持续发展的关键非生物逆境[3],其严重影响了农作物的生长及产量。目前,通过筛选耐盐碱植物,提高其抗盐碱性是扩大和合理利用耕地面积的有效途径。

羽扇豆(*Lupinus micranthus* Guss.)俗称鲁冰花,是豆科蝶形花亚科羽扇豆属的一年生或多年生草本植物。羽扇豆具观赏价值,在园林中广泛应用,同时也是切花的材料[4]。此外羽扇豆营养价值高,可做食品和饲料。同时,羽扇豆能利用土壤中的固态磷,且可通过根瘤菌进行固氮,改变土壤的理化性质。因其营养价值高、观赏性强、用途广泛等特点,被多个国家引种种植、培育及开发研究[5]。

对植物施用外源物质是提高植物抗逆性的重要途径之一[6]。NO是一种重要的气态信号分子,能够在细胞间传递信息并迅速扩散。NO易穿透细胞膜,因此可快速触发细胞反应信号。非生物胁迫会诱导NO的积累,进而显著增强植物的代谢活性,帮助植物更快适应环境变化[7]。硝普钠(sodium nitroprusside,SNP)是一种硝基氢氰酸盐,SNP溶于水相对稳定,而且可以渗透到植物体内与植物体内的物质发生化学反应释放NO[8],因此常被作为NO供体。

目前,对羽扇豆的研究多集中于医药、化学、生物方面,在非生物胁迫方面研究较少;而外源NO调控植物非生物胁迫的研究多聚焦在生长和生理方面,对于其调控的分子机制鲜有研究。因此,本研究以羽扇豆为试验材料,基于生理生化指标并结合转录组测序分析揭示外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的分子机制,以期为提高羽扇豆的耐盐碱性、合理利用盐碱地提供理论科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择籽粒饱满、无虫蛀、大小基本一致的羽扇豆种子浸种露白后,将其播种于营养钵内育苗,播种深

收稿日期:2025-06-06
基金项目:河南牧业经济学院博士启动金项目(906/53000187)
孙荷菲,E-mail:15225636132@163.com
通信作者:崔秋芳,E-mail:cqf1981@163.com

度5 mm，每盆2～3粒。待长出5～8片真叶，株高近5 cm，挑选长势一致、生长健壮的羽扇豆幼苗，移植于10 cm×8 cm的塑料花盆内，每盆1株，基质为草炭土与椰砖1∶1等体积混合，缓苗1周后，进行盐碱胁迫和SNP处理。

1.2　试验处理

采用Na_2CO_3和$NaHCO_3$的物质的量比为1∶1的盐碱混合液（100 mmol/L）模拟盐碱胁迫处理。试验设置7个处理组：空白对照（0 mmol/L盐碱混合溶液＋0 μmol/L SNP，CK1）、盐碱胁迫对照（100 mmol/L盐碱混合溶液＋0 μmol/L SNP，CK2）、盐碱胁迫下SNP处理（100 mmol/L盐碱混合溶液＋50 μmol/L SNP，T1；100 mmol/L盐碱混合溶液＋100 μmol/L SNP，T2；100 mmol/L盐碱混合溶液＋150 μmol/L SNP，T3；100 mmol/L盐碱混合溶液＋200 μmol/L SNP，T4；100 mmol/L盐碱混合溶液＋250 μmol/L SNP，T5）。试验处理组：每盆每2 d浇灌100 mL盐碱混合溶液，叶面喷施20 mL SNP溶液；空白对照组CK1：浇灌100 mL的纯水；盐碱胁迫对照组CK2：浇灌100 mL的盐碱混合溶液及叶面喷施20 mL的纯水（叶片喷施直至滴水为止）。处理10 d后，每个处理组随机选取3株试验材料进行后续指标测定。

1.3　可溶性糖含量及糖代谢相关酶活性的测定

采用蒽酮比色法[9]测定可溶性糖（water soluble sugars，WSS）含量；参照文献[10]的方法测定蔗糖合成酶（sucrose synthase，SS）及蔗糖磷酸合成酶（sucrose phosphate synthase，SPS）活性，试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

1.4　数据分析

试验数据使用Microsoft Excel 2021、IBM SPSS Statistics 24.0和GraphPad Prism10.4.2进行统计分析及作图，采用单因素方差分析进行差异显著性分析。

1.5　转录组测序及分析

选取盐碱胁迫下对照组（CK2）与最适浓度SNP处理组羽扇豆叶片及根系进行总RNA提取，用于基因表达检测。委托上海拜谱生物科技有限公司提取总RNA，并进行转录组测序分析。羽扇豆幼苗生理生化指标的测定结果，为转录组测序样品的选取提供了依据。

通过Oligo（dT）磁珠富集总RNA中的mRNA，并将RNA打断到长度300 bp左右的片段。以RNA为模板，用6碱基随机引物和逆转录酶合成cDNA第一链，并作为模板进行第二链cDNA的合成。文库构建完成后，采用PCR扩增富集文库片段，文库大小为450 bp。通过Agilent 2100 Bioanalyzer对文库进行质检，将含有不同Index序列的文库按比例进行混合并统一稀释到2 nmol/L，通过碱变性形成单链文库。基于Illumina测序平台，采用第二代测序技术（next-generation sequencing，NGS），对文库进行双末端（paired-end，PE）测序。通过Trinity软件拼接clean reads，获得FASTA格式的Transcript序列文件。利用DESeq对基因表达量进行差异分析，设定筛选差异表达基因条件为：表达差异倍数$|\log_2\text{FoldChange}|>1$，显著性$P<0.05$。

本研究利用topGO进行GO富集分析，基于带有GO注释的差异基因，统计每个GO term的基因列表及基因数目。与整个基因组背景相比，通过超几何分布方法计算P值（显著富集的标准为$P<0.05$），从DEGs富集的GO term确定差异基因行使的主要生物学功能。采用Fisher精确检验，通过内部脚本对KEGG通路进行富集分析，计算富集P值，并进行Bonferroni校正。校正后的P值以0.05作为阈值，来确定基因集的显著富集。

2　结果与分析

2.1　外源NO处理下羽扇豆幼苗的可溶性糖含量及糖代谢相关酶活性

由图1A可知，盐碱胁迫对照组CK2与空白对照组CK1相比，盐碱胁迫下的羽扇豆幼苗组织内的可溶性糖含量小幅度下降，差异不显著。与盐碱胁迫对照组CK2相比，随着SNP浓度的增加，羽扇豆幼苗组织内的可溶性糖含量呈现出先升高再降低的趋势，150 μmol/L SNP处理时羽扇豆幼苗组织内可溶性糖含量达到最大值，250 μmol/L SNP处理时出现小幅度降低。

由图1B可知，盐碱胁迫对照组CK2与空白对照组CK1相比，盐碱胁迫下羽扇豆幼苗中的蔗糖合成酶活性显著降低7.9%；而随着SNP的浓度增加，羽扇豆幼苗中的蔗糖合成酶活性呈现先升高后下降的趋势，100 μmol/L处理时羽扇豆幼苗中蔗糖合成酶活性最高，较盐碱胁迫对照组CK2增加了5.72%。

由图1C可知，羽扇豆幼苗中的蔗糖磷酸合成酶活性变化与蔗糖合成酶活性变化趋势类似。对盐碱

胁迫下的羽扇豆幼苗进行SNP处理后，随着SNP的浓度升高，羽扇豆幼苗中的蔗糖磷酸合成酶的活性呈先升高再降低趋势，且试验组中羽扇豆幼苗的蔗糖磷酸合成酶活性均高于对照组CK2，150 μmol/L处理时酶活性最大，较盐碱胁迫对照组CK2升高了102.95%。

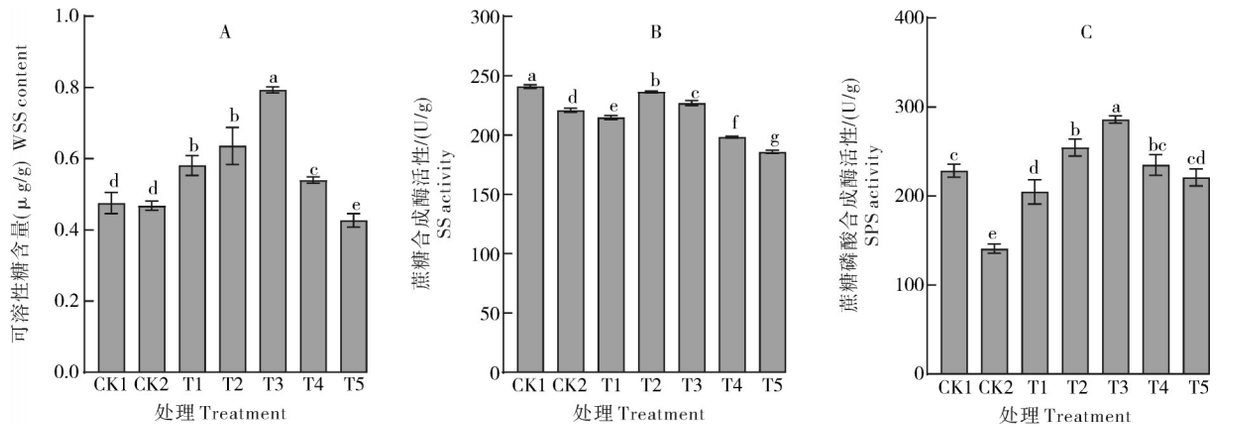


图1 不同处理间羽扇豆幼苗的生理生化变化

Fig. 1 Physiological and biochemical changes of lupine seedlings under different treatments

2.2 IRNA样品质检

基于对羽扇豆幼苗表观形态指标观测，处理组T1、T2和对照组CK1、CK2均未表现出明显差异，T4、T5处理出现部分植株死亡现象；T3处理中羽扇豆幼苗表观形态指标和对照组差异较明显且无死亡现象；结合可溶性糖含量及其代谢相关酶活性指标，选用对照组CK2和处理组T3的材料进行转录组分析。

对羽扇豆幼苗总RNA质量检测后，测序数据存在一些带接头、低质量的Reads，会干扰后续信息分析，因此对测序数据进行过滤，由表1可知，对照组CK2和处理组T3的羽扇豆幼苗转录测序质量达到分析标准，可以进行后续数据分析。

表1 RNA质检后数据过滤的结果

Table 1 The basic situation of data filtering

样品名 Sample	高质量序列reads数 Clean reads	高质量序列碱基数/bp Clean bases	高质量序列reads占测序reads的百分比/% Percentage of clean reads out of raw reads	高质量序列碱基占测序碱基的百分比/% Percentage of clean bases out of raw bases
CK2-1	40 053 132	6 036 094 709	98.49	98.30
CK2-2	40 177 810	6 054 777 093	98.53	98.34
CK2-3	43 959 424	6 732 991 246	98.59	98.38
T3-1	41 958 776	6 314 053 860	98.62	98.28
T3-2	40 311 400	6 072 590 850	98.65	98.42
T3-3	42 450 636	6 395 851 668	98.52	98.30

2.3 Unigene功能注释

利用BLAST软件，对羽扇豆幼苗拼接转录本的59 887个Unigene进行基因功能注释，一共有24 316个Unigene被注释。基因功能注释所用到的数据库包括NR（NCBI non-redundant protein sequences）、GO（gene ontology）、KEGG（Kyoto encyclopedia of genes and genome）、eggNOG（evolutionary genealogy of genes：non-supervised orthologous groups）、Swiss-Prot、Pfam，共6个数据库。由表2可知，NR、eggNOG数据库中的注释率分别为58.00%和56.53%，Pfam数据库中的注释率为27.90%，Swissport数据库中的注释率为40.60%，有10.58%的Unigene在6个数据库均可被注释。

2.4 差异基因分析

为深入探究外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫涉及的分子调控机制，本试验利用DESeq对基因表达量进行差异分析。处理组T3与对照组CK2相比，共识别出904条差异基因；其中，上调表达的DEGs有408个，而下调表达的DEGs有496个。

2.5 差异基因的GO和KEGG富集分析

对所产生的904个DEGs进行GO富集分析，筛选每个分类中富集最显著的前10个GO term条

表 2　注释结果汇总

Table 2　Summary of annotation results

数据库 Database	NR	GO	KEGG	Pfam	eggNOG	Swissprot	6 库共有 Consensus from six databases
数量 Number	34 735	23 151	13 515	16 709	33 856	24 316	6 335
注释率/% Annotation rate	58.00	38.66	22.57	27.90	56.53	40.60	10.58

目进行展示。由图 2 可知，在分子功能（MF）分类中富集最显著的类别为氧化还原酶活性（oxidoreductase activity）和核糖体的结构成分（structural constituent of ribosome）；在生物过程（BP）分类中富集最为显著的类别为氧化还原过程（oxidation-reduction process）和核糖体大亚基组装（ribosomal large subunit assembly）；在细胞组分（CC）分类中富集最显著的类别为质膜固有成分（intrinsic component of plasma membrane）和胞质核糖体（cytosolic ribosome）。

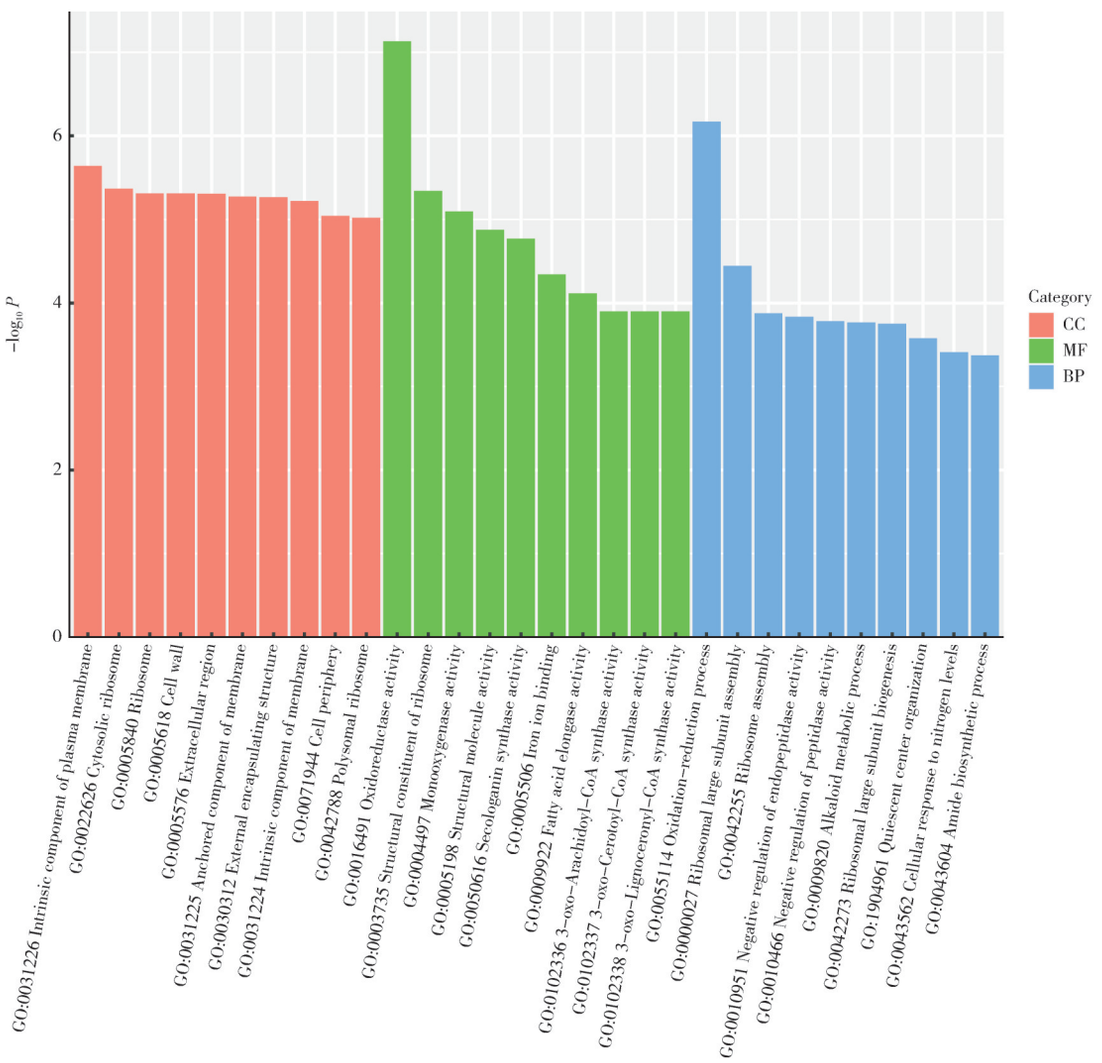
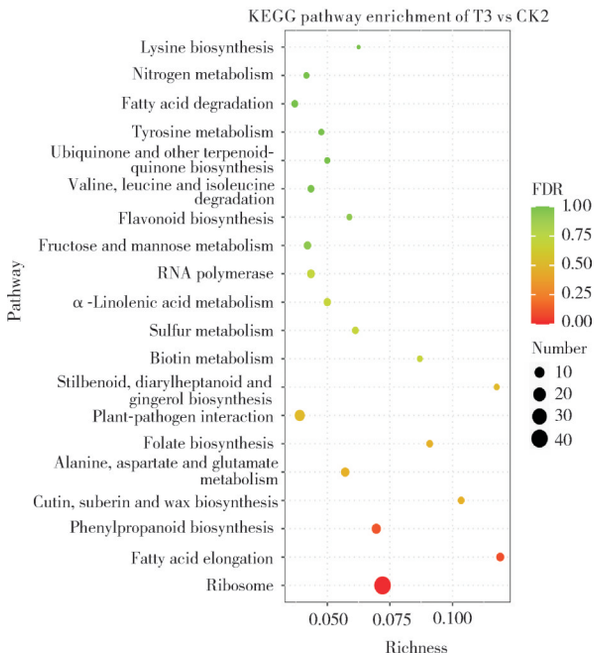


图 2　GO 富集分析柱状图

Fig. 2　GO enrichment analysis histogram

为深入解析外源 NO 调控羽扇豆响应盐碱胁迫的分子机制，阐明其生物功能与基因间的互作关系，基于 KEGG 富集分析结果，筛选 FDR 值最小的即富集最显著的前 20 条 KEGG pathway 进行展示。由图 3 可知，DEGs 富集最为显著的代谢通路为核糖体（ribosome），其次为脂肪酸延长（fatty acid elongation）、苯丙烷类生物合成（phenylpropanoid biosynthesis）。其中，核糖体（ribosome）合成通路的 DEGs 最多（41



FDR值是指校正后的P值，在0～1之间，越接近0，富集程度越高。FDR value refers to the corrected P value, between 0 and 1, the closer to 0, the higher the enrichment degree.

图3 KEGG富集分析气泡图

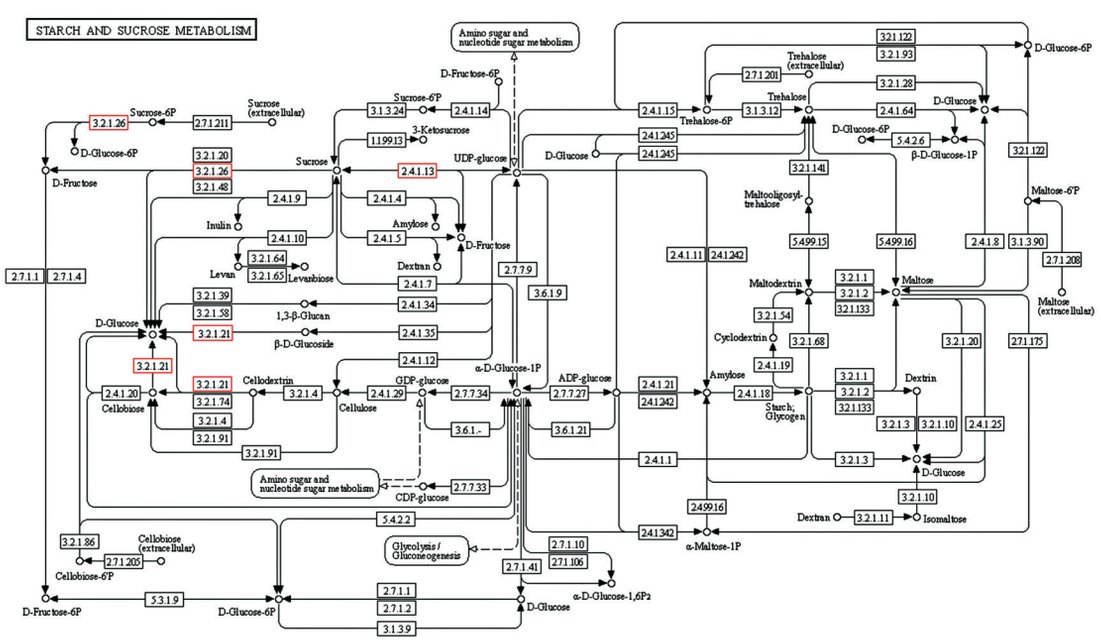
Fig. 3 KEGG enrichment analysis bubble diagram

个），其次为植物病原体相互作用（plant-pathogen interaction）、植物激素信号转导（plant hormone signal transduction）和苯丙烷类生物合成（phenylpropanoid biosynthesis），分别有11、9和8个。

2.6 外源NO对羽扇豆响应盐碱胁迫过程中糖代谢通路关键基因的调控

进一步对KEGG富集结果中与糖代谢相关的通路进行挖掘，发现差异表达基因显著富集于淀粉与蔗糖代谢、果糖和甘露糖代谢、半乳糖代谢等通路（校正$P<0.05$），外源NO处理对各通路关键酶基因表达呈现特异性调控。

外源NO对羽扇豆响应盐碱胁迫过程中淀粉与蔗糖代谢关键酶基因的表达情况如图4所示。在该过程中，参与该过程的催化蔗糖水解为葡萄糖和果糖的β-呋喃果糖苷酶（invertase，EC：3.2.1.26）、催化蔗糖合成和分解的蔗糖合成酶（sucrose synthase，EC：2.4.1.13）、催化β-糖苷键水解的β-葡萄糖苷酶（β-*D*-glucosidase，EC：3.2.1.21）基因均呈现上调表达。

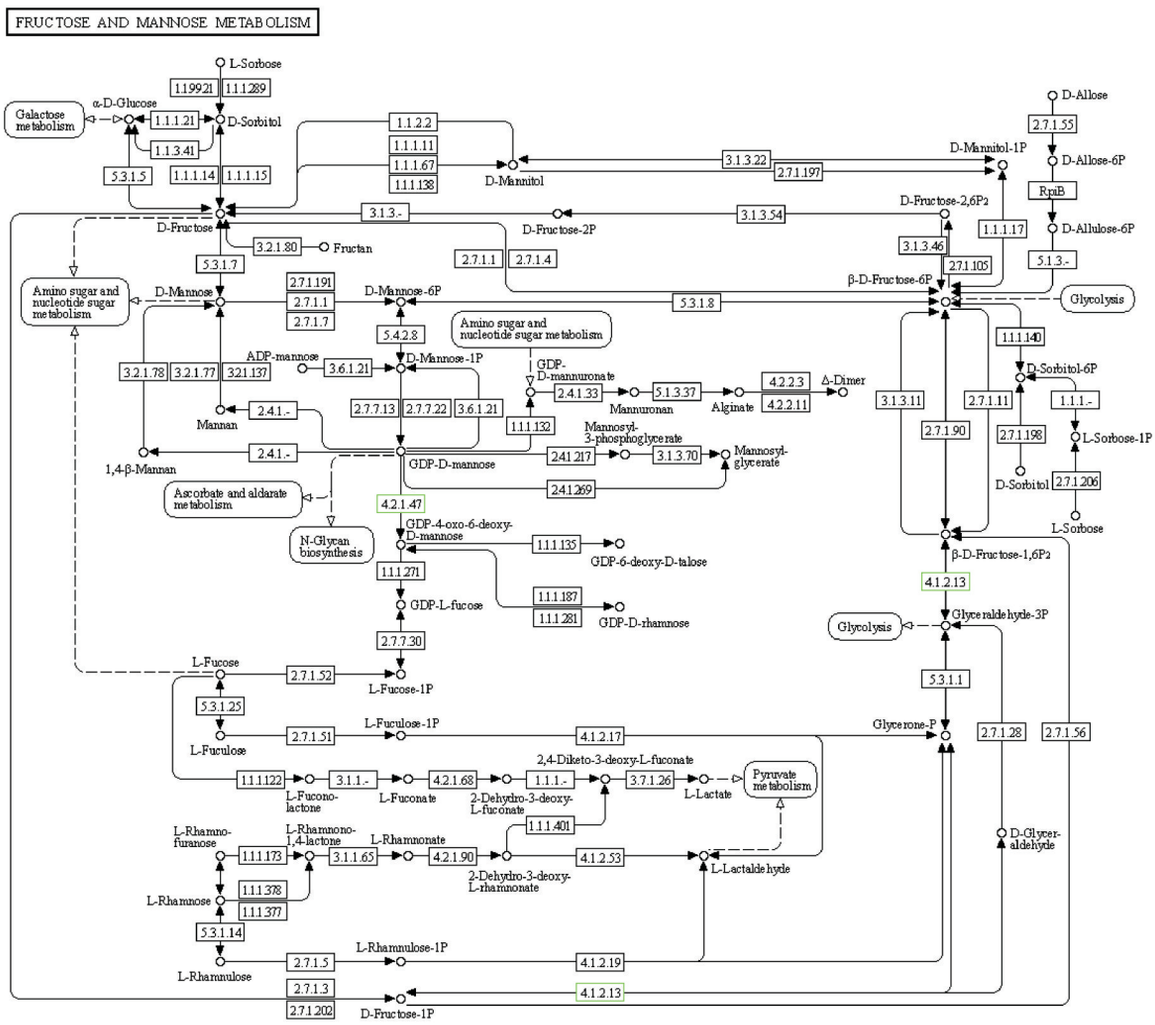


红色框表示该基因上调表达，下同。Red boxes indicate upregulation of the gene's expression, the same below.

图4 外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的淀粉与蔗糖代谢通路分析

Fig. 4 Analysis of starch and sucrose metabolic pathways regulated by exogenous NO in lupine in response to saline-alkali stress

由图5可知，外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫所诱导的DEGs在果糖和甘露糖代谢通路中呈现富集，催化GDP-甘露糖（GDP-mannose）转化为GDP-4-酮-6-脱氧甘露糖（GDP-4-keto-6-deoxymannose）的GDP-甘露糖4,6-脱水酶（GDP mannose 4,6-dehydratase，EC：4.2.1.47），以及糖酵解和糖异生过程中的1,6-



绿色框表示该基因下调表达，下同。Green boxes indicate down-regulation of the gene's expression, the same below.

图 5　外源 NO 调控羽扇豆响应盐碱胁迫的果糖和甘露糖代谢通路分析

Fig. 5　Analysis of fructose and mannose metabolic pathways regulated by exogenous NO in lupine in response to saline-alkali stress

二磷酸果糖醛缩酶(Ⅰ类)(fructose-bisphosphate aldolase, class Ⅰ, EC:4.1.2.13)基因均呈现下调表达。

由图 6 可知，外源 NO 调控羽扇豆响应盐碱胁迫所诱导的 DEGs 在半乳糖代谢通路中也呈现富集，β-呋喃果糖苷酶(EC:3.2.1.26)基因呈现上调表达。同时，该基因在淀粉与蔗糖代谢通路中也显著上调，表明外源 NO 可在多条糖代谢通路中激活 β-呋喃果糖苷酶基因的表达。

2.7　转录因子预测

外源 NO 施用条件下，共有 35 个转录因子家族 150 个转录因子基因呈现差异表达，差异表达数量最多的转录因子家族分别是 bHLH(19)，ERF(15)，MYB_related(11)，bZIP(10)，C2H2(10)(图 7)。

3　讨　论

植物响应外界刺激时，会通过积累糖类等渗透物质来保持水分的平衡，糖类既是关键的渗透调节物质，也在生长发育、信号传导等过程中发挥重要作用[11]。其中，可溶性糖作为临时能量储存，可为各种细胞化合物、信号分子、渗透分子和转运分子的合成提供碳骨架[11-12]。对盐碱胁迫下的羽扇豆幼苗喷施不同浓度的 SNP 后，羽扇豆幼苗组织内的可溶性糖含量呈现不同程度的增加，150 μmol/L SNP 处理时可溶性糖含量最高，仅在 250 μmol/L 处理浓度下出现小幅度降低。这与盐碱胁迫下对豆科植物紫花苜蓿(*Medicago sativa*)施加一定浓度的 SNP，可促进可溶性糖含量明显增加这一研究结果一致[13]。上述结

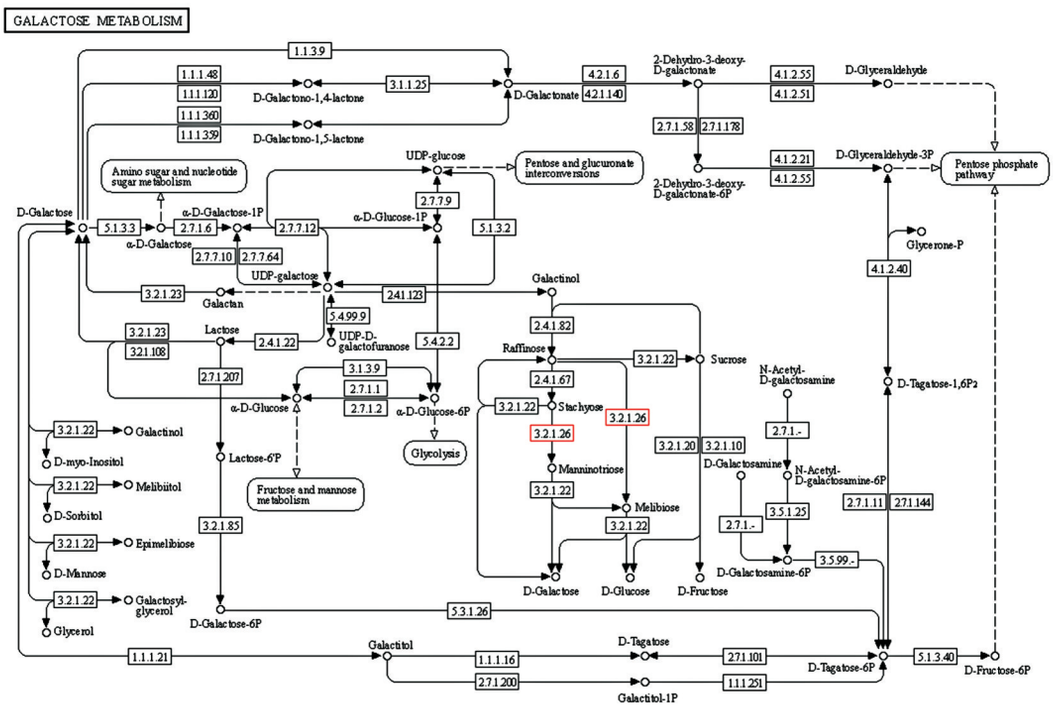


图6 外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的半乳糖代谢通路分析

Fig. 6 Analysis of galactose metabolic pathway regulated by exogenous NO in lupine in response to saline-alkali stress

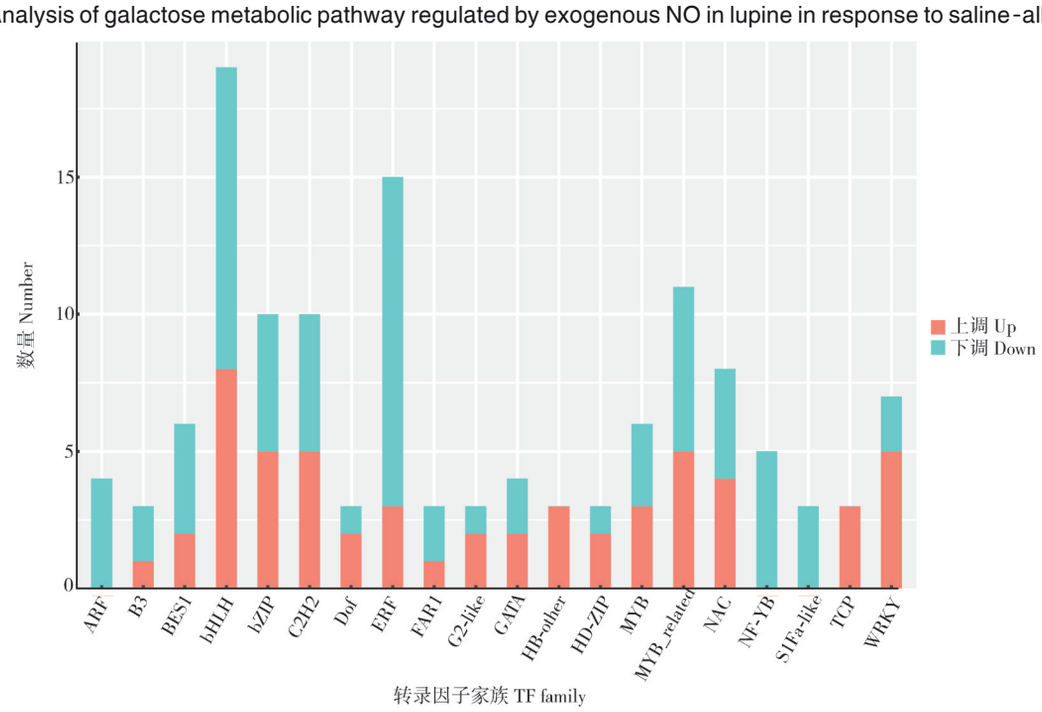


图7 转录因子分类

Fig. 7 Classification of transcription factors

果表明,喷施一定浓度的SNP可以增加羽扇豆幼苗组织内可溶性糖的积累量,提高羽扇豆幼苗的耐盐碱性。

在高等植物中,蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶及蔗糖转化酶为蔗糖合成的关键酶[11]。蔗糖磷酸合成酶必须首先催化果糖-6-磷酸和尿苷二磷酸葡萄糖,然后蔗糖磷酸合成酶才能将蔗糖-6-磷酸永久转化为蔗糖[12]。蔗糖合成酶催化蔗糖和核苷二磷酸转化为相应的核苷二磷酸葡萄糖和果糖,并为纤维素和淀粉生物合成提供底物[14]。蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合

成酶的活性大小直接反映了羽扇豆幼苗中蔗糖合成的能力。盐碱胁迫也会抑制植物体内代谢相关酶活性，从而抑制植物生长[15]。本研究发现盐碱胁迫下羽扇豆的蔗糖合成酶和蔗糖磷酸酶活性下降，喷施SNP可以提高羽扇豆幼苗的蔗糖合成酶和蔗糖磷酸酶活性。这与赵颖[10]的研究结论一致，喷施SNP可提升紫花苜蓿（*Medicago sativa* L.）蔗糖合成酶活性，进而促进了紫花苜蓿可溶性糖的积累。由此可得，外源NO可减轻盐碱胁迫对羽扇豆幼苗的抑制作用，蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶的活性提升促进了羽扇豆幼苗可溶性糖的积累，进而提高其耐盐碱性。

植物为响应生物胁迫或非生物胁迫会改变表型性状、细胞代谢、能量表达、基因表达等多方面提高其抗逆性。本研究通过盐碱胁迫条件下最适浓度SNP处理组T3和对照组CK2的转录组数据分析，共在羽扇豆幼苗组织中识别出904条差异基因。

转录组差异表达基因的GO富集分析结果显示，DEGs在分子功能（MF）、生物过程（BP）、细胞组分（CC）分类中富集最显著的类别分别为氧化还原酶活性、氧化还原过程、质膜固有成分。由此可知，外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的DEGs，主要通过参与氧化还原反应、维持细胞膜结构稳定、调控蛋白质合成与碳代谢等过程，协同提升羽扇豆幼苗的耐盐碱性。

KEGG富集结果显示，显著富集的代谢通路包括核糖体、脂肪延伸、苯丙烷类生物合成等；其中，核糖体代谢通路的DEGs最多，其次为植物病原体相互作用、植物激素信号转导和苯丙烷类生物合成。核糖体是细胞内负责蛋白质合成的机器，其基因显著富集，表明细胞正处于一个需要大量蛋白质合成的代谢状态，这可能是由于生长、发育响应盐碱环境刺激情况所导致。这与Singh等[16]研究小扁豆对干旱胁迫的响应结果相符。当外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫时，核糖体基因出现下调，这表明外源NO可能会通过激活或抑制特定转录因子，影响核糖体基因的表达，从而优化蛋白质合成效率或种类，更有效地应对盐碱胁迫。

糖被称为生命的燃料。关键糖代谢酶表达水平可能在外源NO提高受盐碱胁迫的羽扇豆幼苗的耐盐碱性起重要作用。本研究发现，外源NO对受盐碱胁迫的羽扇豆幼苗的糖代谢具有显著影响，其显著影响了淀粉与蔗糖、果糖和甘露糖与半乳糖代谢，外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的β-呋喃果糖苷酶、蔗糖合成酶及β-葡萄糖苷酶基因上调，GDP-甘露糖4,6-脱水酶及1,6-二磷酸果糖醛缩酶（Ⅰ类）基因下调。赵颖[10]研究发现干旱胁迫下紫花苜蓿喷施外源NO会影响紫花苜蓿的淀粉与蔗糖的代谢通路。以上结果表明，外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的蔗糖合成酶基因表达被显著上调，可能就是导致蔗糖合成酶活性提升的原因；这些糖代谢关键酶基因的表达提高了糖代谢效率，影响植物组织内可溶性糖含量，提高了羽扇豆幼苗的耐盐碱性。

外源NO调控羽扇豆响应盐碱胁迫的基因表达受到多种响应信号的共同调节，部分受到外源NO诱导的转录因子调控。许多研究表明，受到逆境胁迫时植物会通过转录因子调节自身生长发育来增强对逆境的抵抗能力。本研究中，差异表达基因数量较多的转录因子家族主要是bHLH、ERF、MYB_related、bZIP、C2H2。bHLH基因家族在植物中广泛存在，已被证实在植物生长发育、开花及代谢生物合成等过程中发挥重要作用，其中部分成员还参与信号转导和基因表达调控，从而响应盐度、干旱、低温和营养缺乏等非生物胁迫[17]。王春妹等[18]研究发现，藜麦（*Chenopodium quinoa* Willd.）种子bHLH转录因子CqSPCH的表达量与CqSS4呈正相关，而与CqSUS1呈负相关，据此推测，CqSPCH对CqSS4与CqSUS1的调控促进了藜麦种子中淀粉的积累。bZIP基因家族是转录因子中最保守和最大的家族之一，该家族基因主要通过结合下游基因启动子区的顺式作用元件，通过调节渗透物质代谢、抗氧化系统及胁迫相关基因的表达，提高植物的抗逆性[19-20]。吕博文等[21]在蓖麻响应盐碱胁迫的形态及转录组分析的研究中发现，空白对照组与250 mmol/L NaCl实验组中差异表达的转录因子主要包括MYB、NAC、ERF、WRKY和bZIP家族。而本研究鉴定到的bHLH、ERF等差异表达转录因子，与蓖麻耐盐响应的核心转录因子家族高度重合，说明这类转录因子在植物盐碱胁迫响应中具有保守的调控功能。

本研究仅测定了可溶性糖含量及糖代谢相关酶活性，揭示了糖代谢相关关键基因及转录因子的差异表达规律，但未结合羽扇豆与根瘤菌共生固氮特性及根系生长响应开展深入分析，且缺乏对核心基因的功能验证。后续研究可进一步结合根系生理指标、共生固氮特性及基因功能验证，系统解析外源

NO提高羽扇豆耐盐碱性的分子调控机制，从而为羽扇豆耐盐碱品种选育提供理论依据。

参考文献 References

[1] 卜祥琪，李姗姗，段莹娜，等.一氧化氮对盐碱胁迫下盐地碱蓬抗逆性及饲用品质的影响[J].草业学报，2024，33(9)：60-69. BU X Q，LI S S，DUAN Y N，et al.Effects of nitric oxide on stress resistance and feed quality of *Suaeda salsa* under saline-alkali stress[J].Acta prataculturae sinica，2024，33(9)：60-69 (in Chinese with English abstract).

[2] 徐婷.盐碱胁迫下花生生长发育及改良剂施用效果研究[D].石河子：石河子大学，2022. XU T.Study on the growth and development of peanut under saline-alkali stress and the effect of modifier application[D].Shihezi：Shihezi University，2022 (in Chinese with English abstract).

[3] 贾秀苹，王莹，卯旭辉，等.盐碱胁迫对植物的影响及抗性机制研究进展[J].寒旱农业科学，2024，3(7)：593-599. JIA X P，WANG Y，MAO X H，et al.Research progress on effects of saline-alkali stress on plants and their resistance mechanisms[J].Journal of cold-arid agricultural sciences，2024，3(7)：593-599 (in Chinese with English abstract).

[4] 柴澍杰，吴一鸣，赵鑫龙，等.8份多叶羽扇豆种质幼苗对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[J].草原与草坪，2023，43(1)：137-143. CHAI S J，WU Y M，ZHAO X L，et al.Evaluation of physiological response and drought resistance of seedlings of eight *Lupinus polyphyllus* accessions to drought stress[J].Grassland and turf，2023，43(1)：137-143 (in Chinese with English abstract).

[5] 张小丽，杨溪华，陈璐，等.羽扇豆研究现状及其南方红壤中的应用前景[J].江西科学，2020，38(6)：861-866. ZHANG X L，YANG X H，CHEN L，et al.Current research status of lupins and their application prospect on red soil in Southern China[J].Jiangxi science，2020，38(6)：861-866 (in Chinese with English abstract).

[6] 李婕，周凯，何文峰.盐胁迫下外源Ca^{2+}添加对藤本月季光合及氮代谢相关酶活性的调控[J].北方园艺，2023(19)：57-65. LI J，ZHOU K，HE W F.Regulation of exogenous Ca^{2+} addition on the activities of enzymes related to photosynthesis and nitrogen metabolism in climbing rose under salt stress[J].Northern horticulture，2023(19)：57-65 (in Chinese with English abstract).

[7] 常青山，张利霞，张巧明，等.外源NO对酸胁迫下夏枯草种子萌发和幼苗生理的影响[J].草原与草坪，2025，45(5)：66-75. CHANG Q S，ZHANG L X，ZHANG Q M，et al.Effects of exogenous nitric oxide on seed germination and seedling growth of *Prunella vulgaris* under acid stress[J].Grassland and turf，2025，45(5)：66-75 (in Chinese with English abstract).

[8] DA SILVA MARQUES I C，SILVA D M R，BISPO G L，et al.Nitric oxide modulates salt stress tolerance in lettuce[J].Stresses，2023，3(4)：701-716.

[9] 崔庆，吴春燕，宋述尧，等.外源NO缓解黄瓜幼苗低温伤害的效果[J].江苏农业科学，2022，50(6)：116-119. CUI Q，WU C Y，SONG S Y，et al.Effects of exogenous NO on alleviating low temperature injury of cucumber seedlings[J].Jiangsu agricultural sciences，2022，50(6)：116-119 (in Chinese with English abstract).

[10] 赵颖.基于转录组分析揭示一氧化氮调控紫花苜蓿响应干旱胁迫的机理[D].兰州：甘肃农业大学，2020. ZHAO Y.Transcriptome analysis reveals the mechanism of nitric oxide on regulating drought stress response in *Medicago sativa* L.[D].Lanzhou：Gansu Agricultural University，2020 (in Chinese with English abstract).

[11] 王琪.芍药响应干旱胁迫的转录组学分析及相关转录因子的功能研究[D].北京：北京林业大学，2020. WANG Q.Transcriptomics analysis of *Paeonia lactiflora* in response to drought stress and functional study of related transcription factors[D].Beijing：Beijing Forestry University，2020 (in Chinese with English abstract).

[12] SHAH I H，MANZOOR M A，AZAM M，et al.Comprehensive characterization and expression profiling of sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SUS) family in *Cucumis melo* under the application of nitrogen and potassium[J/OL].BMC plant biology，2025，25：285[2025-06-06].https://doi.org/10.1186/s12870-025-06308-0.

[13] 李泉盛.外源NO对盐胁迫下紫花苜蓿生理性状的调控效应[D].呼和浩特：内蒙古大学，2023. LI Q S.The regulatory effect of exogenous NO on physiological traits of alfalfa under salt stress[D].Hohhot：Inner Mongolia University，2023 (in Chinese with English abstract).

[14] SUN S Q，ZHAO X Q，SHI Z Z，et al.Exogenous 24-epibrassinolide improves low-temperature tolerance of maize seedlings by influencing sugar signaling and metabolism[J/OL].International journal of molecular sciences，2025，26(2)：585[2025-06-06].https://doi.org/10.3390/ijms26020585.

[15] NIE W J，GONG B，GENG B，et al.The effects of exogenous 2，4-epibrassinolide on the germination of cucumber seeds under $NaHCO_3$ stress[J/OL].Plants，2024，13(3)：394[2025-06-06].https://doi.org/10.3390/plants13030394.

[16] SINGH D，SINGH C K，TAUNK J，et al.Transcriptome analysis of lentil (*Lens culinaris* Medikus) in response to seedling drought stress[J/OL].BMC genomics，2017，18：206[2025-06-06].https://doi.org/10.1186/s12864-017-3596-7.

[17] RADANI Y，LI R X，KORBOE H M，et al.Transcriptional and post-translational regulation of plant bHLH transcription factors during the response to environmental stresses[J/OL].Plants，2023，12(11)：2113[2025-06-06].https://doi.org/10.3390/plants12112113.

[18] 王春妹，王梅，王红霞，等.干旱胁迫下藜麦种子糖代谢转录

组学研究[J].植物遗传资源学报,2024,25(8):1370-1384.
WANG C M,WANG M,WANG H X,et al.Transcriptomics of glucose metabolism in quinoa seeds under drought stress treatment[J].Journal of plant genetic resources,2024,25(8):1370-1384 (in Chinese with English abstract).

[19] QU D H,SHOW P L,MIAO X L.Transcription factor CbbZIP1 from alkaliphilic microalgae *Chlorella* sp.BLD enhancing alkaline tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J/OL].International journal of molecular sciences,2021,22(5):2387[2025-06-06].https://doi.org/10.3390/ijms22052387.

[20] BANERJEE A, ROYCHOUDHURY A. Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress[J]. Protoplasma, 2017, 254(1): 3-16.

[21] 吕博文,李军乔,闫格,等.蒺藜响应盐碱胁迫的形态及转录组分析[J].种子,2024,43(1):14-28. LÜ B W,LI J Q,YAN G,et al.Morphological and transcriptome analysis on response of *Potentilla anserina* to salt-alkali stress[J].Seed,2024,43(1):14-28 (in Chinese with English abstract).

Transcriptome of lupine responding to saline-alkaline stress regulated by exogenous NO

SUN Hefei[1,2], YANG Siyu[1,3], CUI Qiufang[1]

1.*College of Life Sciences, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China*;
2.*College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*;
3.*College of Ecology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China*

Abstract　A mixed solution of 100 mmol/L $NaHCO_3$ and Na_2CO_3 with molar ratio of 1∶1 and sodium nitroprusside (SNP) as the exogenous NO donor was used to simulate saline-alkali stress to study the molecular mechanism of exogenous nitric oxide (NO) regulating lupine's response to saline-alkaline stress. 7 treatments including blank control, saline-alkaline stress control (100 mmol/L saline-alkaline mixed solution), and SNP treatments with 5 concentration gradients (50, 100, 150, 200 and 250 μmol/L) under saline alkali stress were set up. The content of soluble sugar, the activity of sucrose phosphate synthase and sucrose synthase in the plants were measured. The transcriptome of the materials in the group with optimal concentration SNP treatment and the control group under saline-alkaline stress was sequenced. Results showed that exogenous NO increased the content of soluble sugar and enhanced the activity of sucrose synthase and sucrose phosphate synthase involved in synthesizing sucrose in seedlings of lupine under saline alkali stress. Exogenous NO treatment regulated the expression of genes encoding key enzyme in the pathway of sugar metabolism in seedlings of lupine, with upregulation of β-fructofuranosidase, sucrose synthase, and β-glucosidase, and downregulation of GDP mannose 4,6-dehydratase and 1,6-diphosphate fructose aldolase (class Ⅰ). The differential transcription factors regulated by exogenous NO in response to saline-alkaline stress in lupine mainly included bHLH, ERF, MYB_related,bZIP and C2H2. It is indicated that exogenous NO can enhance the saline-alkaline tolerance of lupine by regulating the expression of key genes and transcription factors in the pathway of sugar metabolism in lupine.

Keywords　nitric oxide (NO); lupine; saline-alkaline stress; sugar metabolism; transcriptome

(责任编辑:葛晓霞)