

# 转录组测序分析干旱胁迫下复合微生物菌肥 对玉米幼苗抗旱性的影响

卿 晨 刘正学 李彦杰

(重庆三峡学院生物与食品工程学院, 404100, 重庆)

**摘 要** 为探讨干旱胁迫下复合微生物菌肥对玉米幼苗抗旱性的影响, 以玉米品种鄂玉 16 为材料, 分别设置空白对照 (CK)、添加解磷菌 (P)、添加丛枝菌根真菌 (A) 和复合微生物菌肥 (解磷菌+丛枝菌根真菌) (AP) 4 个处理, 控水土培作干旱胁迫处理, 取玉米叶片作生理生化指标检测及转录组测序分析。结果表明, 干旱胁迫后 (即第 5、10 和 15 天), 丙二醛 (MDA) 最高为 CK 处理, 最低为 AP 处理; AP 处理的超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性均显著高于 CK。整个胁迫期间, AP 处理的过氧化氢酶 (CAT) 活性均高于 CK。与 CK 相比, 转录组测序分析检测到 AP 处理的玉米苗叶片中有 320 个差异表达基因, 其中上调表达 204 个, 下调表达 116 个; GO 分析显示, 差异表达基因富集到生物过程、细胞组分和分子功能的占比分别为 34.33%、43.12% 和 22.55%。KEGG 分析显示, 差异表达基因显著富集的通路包括植物-病原互作、淀粉和蔗糖代谢、其他类型 O-聚糖生物合成、玉米素生物合成、半乳糖代谢和氨基酸生物合成等。

**关键词** 玉米幼苗; 干旱胁迫; 复合微生物菌肥; 转录组

玉米是我国第一大粮食作物, 主要用作初级食品、养殖饲料和深加工原料。受全球气候变暖的影响, 我国干旱、半干旱化的耕地面积持续增加, 全国大部分地区干旱水平呈上升趋势<sup>[1]</sup>。我国每年因旱灾导致的玉米减产高达 15%~20%, 干旱已经成为影响我国玉米稳产、增产的主要制约因素之一<sup>[2]</sup>。

土壤微生物是土壤生态系统中最活跃的组分, 其参与土壤有机质的形成与转化、化学元素循环以及植物营养和初级生产等, 在维持土壤-植被生态系统的稳定、健康和演替等方面具有重要作用<sup>[3-4]</sup>。作为一种环境胁迫因子, 干旱胁迫通过塑造植物根周及根系土壤微生物群落结构, 富集特定微生物种群, 进而影响植物生长和土壤-植被生态系统功能<sup>[5]</sup>。土壤微生物群落对胁迫信号的适应性响应可用“cry-for-help”模型解释, 即受胁迫的植物改变其根系分泌物的化学组分, 进而影响根际土壤微生物群落结构, 改变的微生物群落通过直接抑制病原菌和间接激活宿主系统抗性共同为植物提供保护<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>表明, 干旱胁迫下菌根真菌 (AMF) 接种可提高大豆和玉米等作物植株生物量、叶片相对含水量、光合速率和蒸腾速率, 降低气孔阻

力, 使宿主植物更有效地利用水分, 从而增强抗旱能力。

磷是作物生长的重要养分之一, 其对作物的生长发育和光合作用等生理过程作用显著, 作物从土壤吸收的水溶性磷显著影响作物产量及品质。此外, 土壤磷的适当增加可促进作物根系生长, 提高干旱等逆境下植物对氧化胁迫和渗透胁迫的耐受性<sup>[8-9]</sup>。土壤中磷大多数为难溶性磷, 解磷菌能将植物难以吸收利用的土壤难溶性磷转化为可直接利用的水溶性磷<sup>[10]</sup>。同时, 土壤水溶性磷的增加会影响干旱胁迫下土壤微生物丰度及群落结构, 进而调节植物对干旱胁迫的耐受性<sup>[11]</sup>。

本研究以实验室自制的解磷菌和丛枝真菌菌根复合微生物菌肥 (AP) 为材料, 通过转录组测序分析了干旱胁迫下玉米幼苗叶片转录组水平差异, 初步分析添加 AP 下玉米响应干旱胁迫的相关通路, 为后续分析玉米耐旱分子机制提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试玉米材料为“鄂玉 16”, 由湖北省十堰市

作者简介: 卿晨, 研究方向为农艺与种业, E-mail: 2053246993@qq.com

刘正学为通信作者, 研究方向为应用微生物学, E-mail: 1421031367@qq.com; 李彦杰为共同通信作者, 研究方向为生物技术, E-mail: 37805572@qq.com

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31270451); 三峡库区水环境演变与污染防治重庆市重点实验室开放基金 (WEPKL2021YB-02)

收稿日期: 2023-01-11; 修回日期: 2023-03-21; 网络出版日期: 2023-07-28

农业科学院选育。挑选大小一致、籽粒饱满的种子, 用 10%  $\text{H}_2\text{O}_2$  浸泡消毒 10 min, 蒸馏水冲洗后置于铺有湿润滤纸的培养皿中, 25 °C 催芽 2 d 后播种。

解磷菌肥由本实验室从三峡水库消落带黄花草木樨 [*Melilotus officinalis* (L.) Pall.] 等优势适宜植物根际土筛选扩繁而得, 其溶磷能力为 104.602 mg/L, 有效活菌数约为  $2.56 \times 10^8$  个/g; AMF 菌肥中根内根抱囊霉 (*Rhizophagus intraradices*, RI)、摩西斗管囊霉 (*Funneliformis mosseae*, FM)、细凹无梗囊霉 (*Alariodeglous etunicatum*, AS) 由长江大学根系生物学研究所提供; 以白三叶草 (*Trifolium repens* L.) 为载体进行扩繁, 获得含有孢子、菌丝和侵染根部的混合物, 用混合物接种 (每克约 50 个孢子)。AP 复合菌肥由解磷菌肥和 AMF 菌肥混合而成。

供试土壤采集于重庆三峡学院山顶坡地, 基本理化性质为 pH 6.5、有机质 4.51 g/kg、碱解氮 29.4 mg/kg、有效磷 3.9 mg/kg、速效钾 25.1 mg/kg。土壤肥力等级处于 5~6 级。

丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒均购自南京建成生物研究所。RN40-EASYspin 植物 microRNA 快速提取试剂盒购自北京艾德莱生物科技有限公司。Goldenstar RT6 cDNA Synthesis Mix 逆转录试剂盒和 2×T5 Fast qPCR Mix (SYBR Green I) 试剂盒购自北京擎科生物科技有限公司。无菌去离子水为实验室自制, 其他试剂均为国产分析纯。

## 1.2 试验设计

2022 年 4~5 月在重庆三峡学院校内园艺大棚开展盆栽试验。将 5 kg 灭菌土装盆, 盆土靠盆外沿一圈间隔设 5 个播种穴。设置 CK、A、P 和 AP 共 4 个处理, 具体操作为播种穴底部分别添加对照菌肥 (CK: 灭活的 1.0 g 解磷菌肥+灭活的 1.5 g AMF 菌肥)、解磷菌肥 (A: 1.0 g 解磷菌肥+灭活的 1.5 g AMF 菌肥)、AMF 菌肥 (P: 灭活的 1.0 g 解磷菌肥+1.5 g AMF 菌肥)、复合菌肥 (AP: 1.0 g 解磷菌肥+1.5 g AMF 菌肥)。菌肥上覆薄土, 喷水湿润, 2 d 后播种。2022 年 4 月 1 日播种, 每穴 1 粒, 每盆播种 5 粒, 并施 30 g 尿素和 200 mL 水, 待玉米苗长至 3 片叶时疏苗, 每组土盆留高低一致、长势良好的玉米苗, 3 个生物学重复。疏苗前用 50% Hoagland 营养液灌盆, 疏苗后每 3 d 用 100%

Hoagland 营养液灌根保持正常水分和养分。盆土保持正常水分至 2022 年 5 月 8 日, 第 1 次取样 (干旱胁迫第 0 天) 后开始干旱胁迫并依次在干旱胁迫 5、10 和 15 d 取样。干旱胁迫期间每天监测土壤水分, 维持 20%~25% 的土壤含水量。每次取样均取玉米苗的第 3 片叶, 测定叶片生理生化指标, 并根据检测结果, 送干旱胁迫第 10 天的 CK 和 AP 处理作转录组测序。

## 1.3 指标测定与方法

1.3.1 取样 生理生化指标检测共取样 2.0 g, 同时转录组和 qPCR 检测各取样 0.5 g。取样后, 用蒸馏水冲洗并快速转入预冷的 5 mL 冻存管, 现场液氮速冻, 置于干冰盒迅速带回实验室制样, 检测生理生化指标及提取 RNA。

1.3.2 侵染率 参照 Phillips 等<sup>[12]</sup>方法测定 AMF 菌根侵染率, 将玉米根段切成 1.0 cm 的小段, 用酸性品红进行染色, 以侵染根段占总根段的百分比表示菌根侵染率。测定 AMF 侵染率在 50%~60%。

1.3.3 生理生化指标 采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量, 分别采用氮蓝四唑法、愈创木酚显色法和紫外分光光度法测定 SOD、POD 和 CAT 活性, 按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 转录组测序 按照 RN40-EASYspin 试剂盒方法提取 microRNA 组分和总 RNA。用 ThermoFisher 分光光度计检测核酸浓度, 确认 RNA 样品的  $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$  均在 1.8~2.2。电泳检测显示 RNA 样品特征性条带完整清晰, 无明显弥散或拖尾。送样至北京百迈克生物科技有限公司建库并基于 Illumina NovaSeq 6000 平台测序。

测序原始数据经评估及质控分析, 去除低质量数据和污染数据, 过滤 rRNA 数据后比对到参考基因组得最终注释后的转录组数据。利用 DESeq2 软件包筛选差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG), 筛选的标准为  $|\log_2\text{FC}| \geq 1.5$  且  $P < 0.01$ 。采用 ClusterProfiler 软件包作 GO 功能富集, 采用 KOBAS 软件包作 KEGG Pathway 通路富集。

1.3.5 实时荧光定量 PCR 验证 挑选 6 个差异表达基因, 通过 PrimerQuest Tool 在线程序设计扩增引物 (表 1)。以玉米 GAPDH 基因作内参, 按照 Goldenstar RT6 cDNA Synthesis Mix 试剂盒说明作逆转录扩增, 以 2×T5 Fast qPCR Mix (SYBR Green I) 作实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR,

qPCR) 扩增。qPCR 扩增平台为 QuantStudioTM 1 Plus (ABI, 美国), 扩增反应程序为 95 °C 2 min 预变性; 95 °C 15 s, 60 °C 20 s, 72 °C 20 s, 40 次循环。

表 1 实时定量 PCR 选用基因及其引物  
Table 1 Genes and primers for qRT-PCR

基因编号 Gene ID	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')	产物大小 Product length (bp)
Zm00001d042553	ATCAGGGAGCTGAAGGTTGC	TCACTACCCGCCTTCTACCA	181
Zm00001d012391	GCGGACCTGTTGGAGTTGAT	AAGGGAAGTCCAGCCATTCTG	166
Zm00001d037547	AGGACCAAGTTTGCCAGGTC	CAGTGAATCCTGATGGGCGG	148
Zm00001d052316	GGAGCAGGTGGAAGCCATAAA	TACAAATCCACCGACCCAGA	217
Zm00001d051362	GAAACTGGGTCTACTGGGTCG	CCATTCATCCAGAGCGGAGA	152
newGene_1600	AGGGAGAAGGCAAAGTGGTG	GCCACTTTGGTTGGTTACGC	137
maize-GAPDH	TACCGACTTCCTTGGTGACAG	ATACACAAGCAGCAACCATCC	207

1.4 数据处理

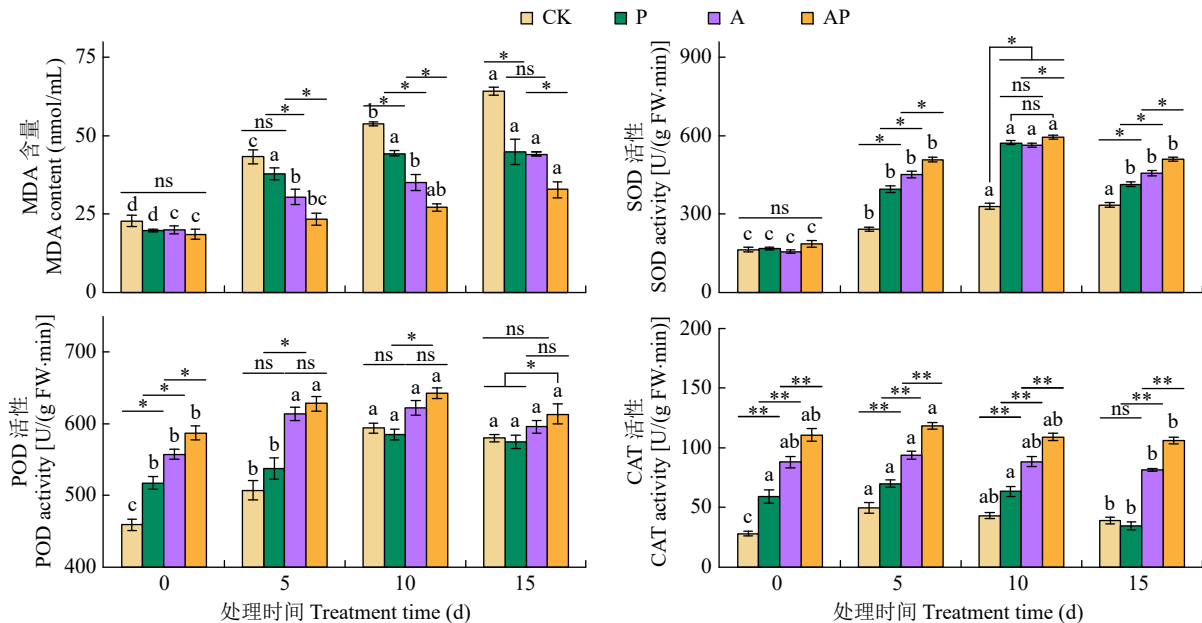
采用 Excel 2019 整理数据; 采用 SPSS 25.0 进行单因素分析和 Turkey 多重比较; 采用 Origin pro 21.0 进行基因表达水平、相关性分析和作图。

2 结果与分析

2.1 不同处理下玉米生理生化指标差异

4 个处理玉米叶片中 MDA 含量在干旱胁迫开始前 (第 0 天) 无显著性差异, 随着胁迫时间的延长, CK 处理玉米叶片中 MDA 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 其余 3 个处理玉米叶片中 MDA 水平也呈增加趋势, 但增加幅度显著低于 CK ( $P < 0.05$ )

(图 1)。至胁迫 15 d, CK、P、A 和 AP 处理玉米叶片中 MDA 水平分别比胁迫开始前增加 1.83、1.28、1.21 和 0.77 倍。除胁迫开始前外, 胁迫 5、10 和 15 d, AP 处理玉米叶片中 MDA 含量均明显低于 CK 处理。随着胁迫时间延长, 4 个处理玉米叶片中 SOD 和 POD 活性均呈先上升后降低或保持不变的趋势。从胁迫开始前到胁迫第 10 天, 4 个处理玉米叶片中 SOD 和 POD 活性达最高水平; 从胁迫 10 d 至 15 d, P、A 和 AP 处理玉米叶片中 SOD 活性显著降低 ( $P < 0.05$ ), POD 活性无明显变化。此外, 胁迫第 5、10 和 15 天, AP 处理玉米叶片中的 SOD 活性均显著高于 CK 处理 ( $P < 0.05$ )。整



不同小写字母表示相同样品组在不同取样时间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); “\*\*\*”、“\*”和“ns”分别表示不同处理在同一取样时间存在极显著性差异、显著性差异 ( $P < 0.05$ ) 和无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。  
Different lowercase letters indicate that the same sample group has significant difference in different sampling times ( $P < 0.05$ ); “\*\*\*”, “\*” and “ns” indicate that there are extremely significant differences ( $P < 0.01$ ), significant differences ( $P < 0.05$ ) and no significant differences ( $P > 0.05$ ) among different groups at the same sampling time, respectively.

图 1 不同处理玉米叶片生理生化指标分析

Fig.1 Analysis of physiological and biochemical indexes of maize leaves in different treatments

个干旱胁迫处理期间，AP 处理玉米叶片中 POD 活性均显著高于 CK 处理 ( $P<0.05$ )。在整个胁迫处理期间，玉米叶片中的 CAT 活性最低和最高处理均分别为 CK 处理和 AP 处理。整体来看，在整个胁迫期间，与 CK 处理相比，P、A 和 AP 处理玉米叶片中的 MDA 维持在相对较低水平，而抗氧化相关酶活性维持在较高水平。

## 2.2 测序质量评价

转录组原始测序数据 (raw data) 经数据清洗得到干净数据 (clean data)，并进一步对后者作质量评估。如表 2 所示，AP 和 CK 处理共 6 个样本的干净数据中不确定碱基占比 (N%) 均为 0，GC 含量为 43.61%~44.89%，Q20 为 97.94%~98.10%，Q30 为 93.75%~94.15%。表明整体测序质量较好，

表 2 转录组测序数据统计  
Table 2 Summary of transcriptome sequencing data

样本 Sample	ReadSum	BaseSum	N%	GC 含量 GC content (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
AP1	55 717 049	16 664 072 650	0	44.89	98.04	93.96
AP2	58 628 704	17 549 116 484	0	43.61	97.95	93.76
AP3	59 557 613	17 831 272 662	0	43.77	97.95	93.75
CK1	59 340 105	17 752 302 060	0	43.63	97.92	93.68
CK2	62 524 897	18 710 041 996	0	43.78	98.10	94.15
CK3	62 101 920	18 587 242 720	0	43.95	97.94	93.75

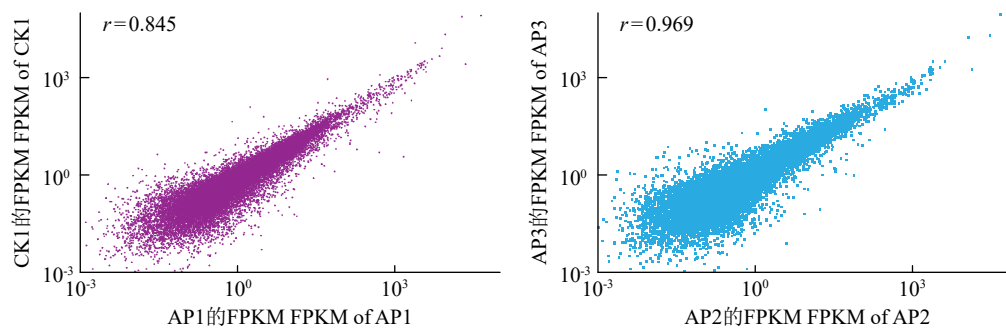
ReadSum: Clean data 中双端测序碱基总数; BaseSum: Clean data 总碱基数; N%: Clean data 中不确定碱基占比; GC 含量: Clean data 中 G 和 C 的碱基占比; Q20、Q30: Clean data 数据中大于或等于 Q20、Q30 的碱基占比。  
ReadSum: total number of pair-end reads in clean data; BaseSum: total bases in clean data; N%: the proportion of uncertain bases in clean data; GC content: proportion of G and C in clean data; Q20, Q30: base proportions greater than or equal to Q20 and Q30 in clean data.

可满足后续生物信息学分析。

## 2.3 样本关系分析

以每千个碱基的转录每百万映射读取的片段 (fragments per kilobase of transcript per Million fragments mapped, FPKM) 衡量基因表达水平<sup>[13]</sup>。

由图 2 可知，与处理间样本相比 (AP1 vs CK1)，基因表达水平在处理内样本间 (AP2 vs AP3) 皮尔逊相关系数相对较高 ( $r=0.969$ )。其他处理内样本间相关分析结果类似，说明 CK 和 AP 处理内的样本重复性较好，后续分析可信度高。



FPKM: 每百万个 map 上的 reads 中 map 到外显子的每千个碱基上的 fragment 个数，用于衡量转录本或基因表达水平。  
FPKM: fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped, which is used as an indicator of transcript or gene expression levels.

图 2 样本散点图

Fig.2 Scatter plot of samples

## 2.4 差异表达基因分析

干旱胁迫处理下，以 CK 处理为对照，AP 处理玉米叶片中的差异表达基因 (differential-expressed genes, DEGs) 总数为 320 个，其中 204 个上调表达，116 个下调表达 (表 3)。进一步对筛选的 DEGs 作数据库注释，注释到蛋白质直系同源簇数据库 (clusters of orthologous groups of proteins, COG)、基因本体数据库 (gene ontology, GO)、京都基因和基因组百科全书 (Kyoto

encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、真核生物直系同源数据库 (clusters of orthologous groups for eukaryotic complete genomes, KOG)、非冗余蛋白质序列数据库 (non-redundant protein sequence database, NR)、蛋白质家族数据库 (protein families database, Pfam)、瑞士蛋白质数据库 (Swiss protein sequence database, Swiss-Prot) 和直系同源蛋白分组比对数据库 (evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups, eggNOG) 的

DEG 数目分别为 100、244、197、140、303、253、224 和 255 个，共注释到 303 个 DEG。

表 3 差异表达基因总数及注释数量  
Table 3 Total number of differentially expressed genes and its annotated number

类型 Type	数量 Number	总数 Total	注释的差异表达基因数量 Number of annotated differentially expressed genes							
			COG	GO	KEGG	KOG	NR	Pfam	Swiss-Prot	eggNOG
上调表达 Up-regulated	204	320	100	244	197	140	303	253	224	255
下调表达 Down-regulated	116									

2.5 差异表达基因 GO 功能富集分析

GO 富集分析是将基因按照其功能进行归类，有助于了解基因产物的属性及生物学功能。筛选的 DEG 富集到生物过程、细胞组分和分子功能 3 个主类的占比分别为 34.33%、43.12%和 22.55%（图

3）。富集 DEG 数目由多到少的前 10 个子类依次分别是催化活性、结合、细胞、细胞组分、代谢过程、细胞过程、膜、膜组分、单有机体过程和细胞器，其中富集 DEG 数目前 2 位的大类均为分子功能，前 10 位富集占比最高的为细胞组分。

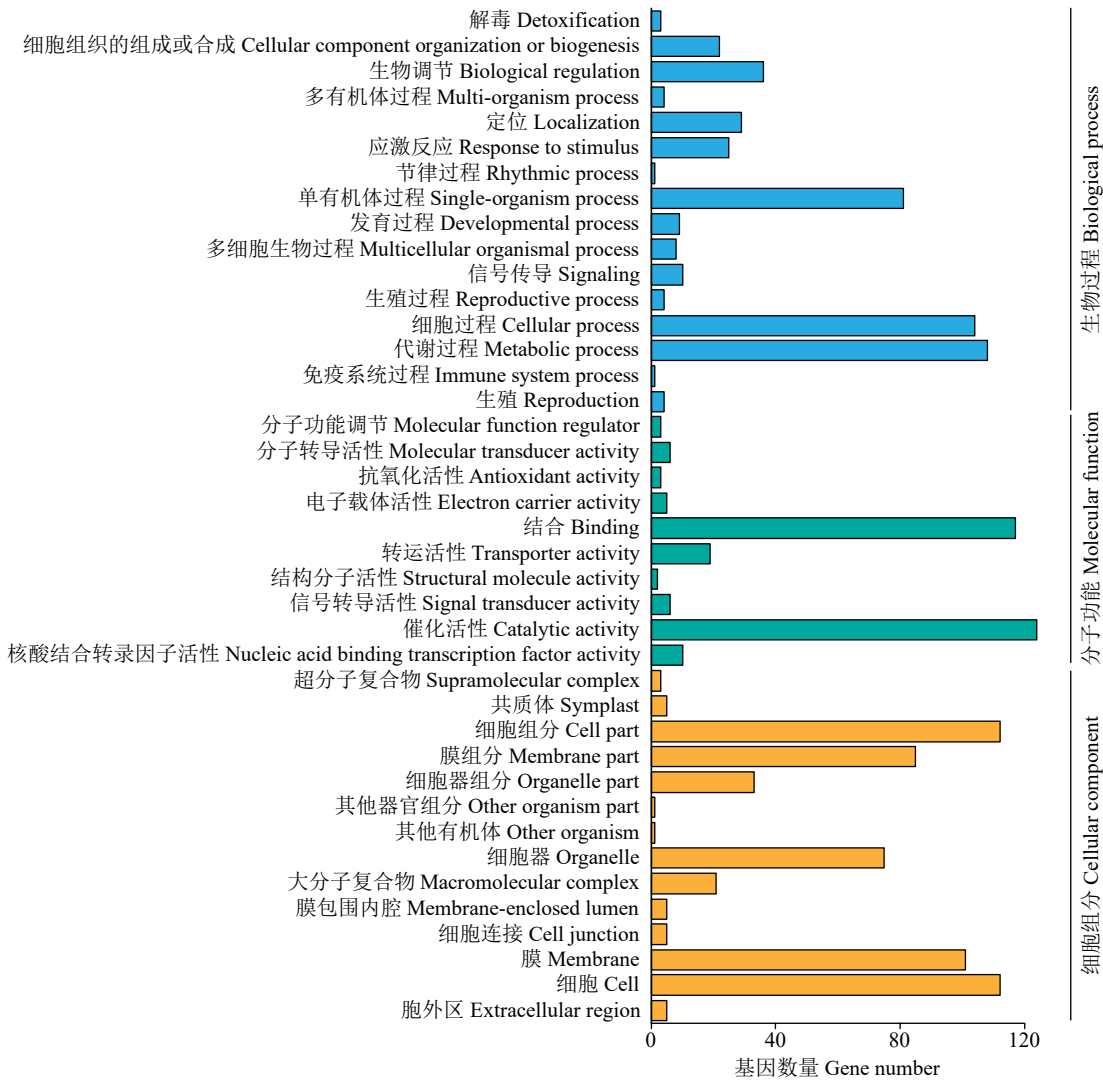


图 3 差异表达基因 GO 功能富集分析  
Fig.3 GO function enrichment analysis of DEGs

2.6 差异表达基因 KEGG 富集分析

197 个 DEG 注释到 KEGG 数据库中 103 个分类代谢途径中，取显著性 Q 值最小的前 20 个通路

作 KEGG 富集分析。结果（图 4）显示，按照富集显著性大小依次为植物-病原互作、淀粉和蔗糖代谢、其他类型 O-聚糖生物合成、玉米素生物合成、



半乳糖代谢和氨基酸生物合成等 6 个代谢通路，显著富集通路中共有 41 个 DEG，其中上调表达 25

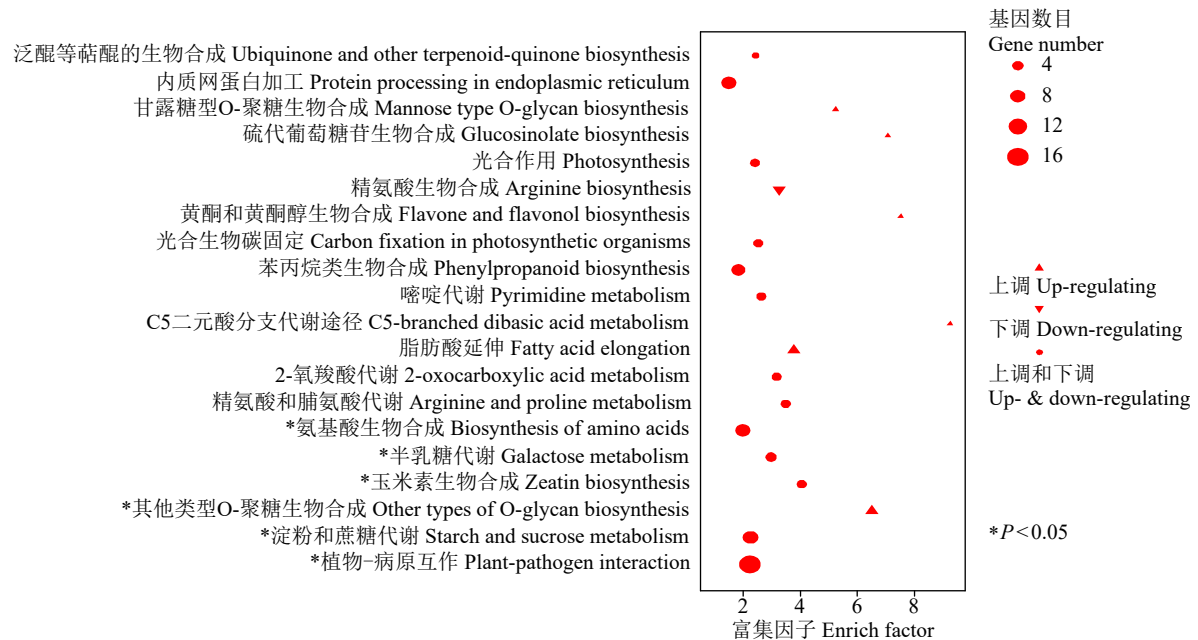


图 4 差异表达基因富集排名前 20 的 KEGG 代谢通路

Fig.4 The top 20 pathways of differentially expressed genes enriched by KEGG

个，下调表达 16 个。

## 2.7 实时荧光定量 PCR 验证

以 maize-GAPDH 为参照基因，用 qRT-PCR 扩增随机挑选的 DEGs，相对定量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法，其中  $\Delta\Delta Ct = (\text{待测样品的目的基因 Ct 值} - \text{待测样本的参照基因 Ct 值}) - (\text{对照样品的目的基因 Ct 值} - \text{对照样本的参照基因 Ct 值})$ ，以  $\log_2(\text{Fold Change})$  表示转录组和 qRT-PCR 检测的 DEGs 表达变化倍数。如图 5 所示，6 个 DEG 的表达趋势一致，2 种检测方法的皮尔逊相关系数为 0.853， $P < 0.05$ ，表明转录组分析结果可信。

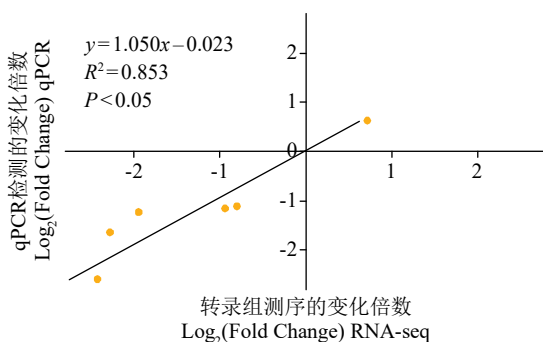


图 5 差异表达基因的 qPCR 验证

Fig.5 Verification of DEGs by qPCR

## 3 讨论

近年来，受全球气候变暖的影响，作物受旱灾

的发生率逐年加剧，对全球粮食安全带来巨大挑战。作物遭受干旱胁迫时，通常会出现生活周期缩短和组织器官发生形态改变等现象，严重影响其产量。干旱胁迫信号主要诱发渗透胁迫及氧化胁迫，进而破坏细胞膜结构引起细胞内蛋白质和核酸等组分的代谢紊乱<sup>[14]</sup>。目前，应对农业干旱的措施主要包括耐旱品种选育、节水农业技术推广和植物生长调节剂施用等<sup>[15-16]</sup>。

植物体内普遍存在着清除细胞活性氧自由基（包括 SOD、POD、CAT 等酶抗氧化系统和  $V_C$ 、 $V_E$ 、谷胱甘肽和类胡萝卜素等非酶抗氧化系统）和维持细胞水分稳定的渗透压调节机制，共同提高植物的逆境耐受性<sup>[17]</sup>。干旱胁迫下，过度的活性氧自由基积累打破了植物细胞原有的活性氧自由基清除系统的动态平衡，使得细胞膜过氧化，质膜透性增加进而引起代谢紊乱甚至细胞死亡<sup>[18]</sup>。研究<sup>[19]</sup>表明，植物受干旱胁迫强度与膜质受损程度的指标 MDA 水平有很强的相关性，在一定强度的胁迫内，作物的抗氧化酶活性与 MDA 含量呈正相关。本研究（图 1）显示，随着干旱胁迫时间的持续，4 个处理下植物叶片的 MDA 浓度都在不断增长，而 CK 处理 MDA 含量增长趋势明显高于 AP 处理，表明添加 AP 可明显降低玉米叶片细胞膜脂过氧化水平，进而降低干旱胁迫对细胞膜伤害。4 个处理玉

米叶片中的 SOD 与 POD 活性随干旱胁迫时间增加均呈先上升后下降的趋势,说明在一定程度内的干旱胁迫与植物叶片 SOD 和 POD 活性呈正相关,这与张仁和等<sup>[20]</sup>研究报道一致。对比干旱胁迫期间 4 个处理玉米叶片的 MDA 水平和酶活性变化趋势,可知 AP 处理的玉米苗对干旱胁迫的耐受性强于其他 3 个处理。

植物-微生物互作一方面改变植物根系分泌物驱动根系及根周土壤微生物种群结构及功能变化,另一方面改变的微生物种群通过影响多个信号通路基因表达等方式提高植物对生存环境的耐受性,这种双向调节机制在干旱、盐碱和病虫害发生等逆境胁迫中普遍存在<sup>[21-23]</sup>。本研究 GO 富集结果显示,生物过程类别中单有机体过程、细胞过程和代谢过程,分子功能类别中的结合与催化活性,细胞组分类别中的细胞组分、膜组分和细胞器组分等均显示较多 DEG,表明为维持玉米苗生长,上述多个途径可能共同参与了玉米响应干旱胁迫的适应性调节,与多个研究<sup>[24]</sup>结果类似。本研究中,KEEG 显著富集到 6 个代谢通路,这些通路中有 25 个 DEG 上调表达,有 16 个 DEG 下调表达,合计 41 个 DEG。其中植物-病原互作通路富集结果显示,干旱胁迫下细胞壁厚度的增加可能受到活性氧和 NO 水平变化的诱发,前者通过氧化交联加固细胞壁,后者导致气孔闭合以加厚细胞壁,进而增加细胞结构的稳定性<sup>[25]</sup>。植物受到干旱等逆境胁迫时,通过增加细胞内氨基酸和碳水化合物水平等来维持细胞渗透平衡<sup>[26]</sup>。研究<sup>[27]</sup>表明,植物受干旱和盐碱等胁迫程度与细胞内脯氨酸含量正相关。此外,添加 AP 后,淀粉和蔗糖代谢、其他类型 O-聚糖生物合成、半乳糖代谢和氨基酸生物合成等显著富集代谢通路中多个基因表达在干旱胁迫下被直接或间接调节,进而通过改善植物根系活力、增强光合作用和调节渗透物质含量等方式,共同提高玉米的抗旱性。玉米素具有促进玉米组织细胞分裂、阻止叶绿素和蛋白质降解、保持细胞活力以及延缓植物衰老的功能<sup>[28]</sup>。玉米素生物合成代谢通路富集结果显示,添加 AP 可促进干旱胁迫下玉米苗叶片细胞中的玉米素合成,推测玉米素可能也参与干旱胁迫下玉米的抗旱响应。

综上,添加 AP 能通过影响玉米叶片细胞多个代谢通路中的 DEG 表达,改变根系形态、植物营养吸收和细胞组分代谢,上调抗氧化组分活性

或水平,调节干旱胁迫下玉米的氧化胁迫和渗透胁迫耐受性,进而提高玉米幼苗在干旱生境下的适生性。

## 4 结论

对土壤中添加不同组分的玉米苗作控水干旱胁迫处理,结果显示,添加 AP 能明显降低干旱胁迫下玉米苗叶片细胞 MDA 含量,并能提高叶片细胞抗氧化酶活性;转录组分析发现了 320 个 DEG,富集结果显示,包括植物-病原互作、淀粉和蔗糖代谢、其他类型 O-聚糖生物合成、玉米素生物合成、半乳糖代谢和氨基酸生物合成显著富集 6 个代谢通路的 41 个 DEG 共同参与了玉米幼苗的干旱胁迫响应。

### 参考文献

- [1] 徐昆,朱秀芳,刘莹,等. 气候变化下干旱对中国玉米产量的影响. 农业工程学报, 2020, 36(11): 149-158.
- [2] 郭艳阳,刘佳,朱亚利,等. 玉米叶片光合和抗氧化酶活性对干旱胁迫的响应. 植物生理学报, 2018, 54(12): 1839-1846.
- [3] 李敏,陈利顶,杨小茹,等. 城乡复合生态系统土壤微生物群落特征及功能差异: 研究进展与展望. 土壤学报, 2021, 58(6): 1368-1380.
- [4] 王怀嵩,张涛. 农业土壤健康评价体系研究进展. 生态与环境学报, 2022, 38(9): 1093-1100.
- [5] Oksana C, Gerlinde B D D, Martine P D V. Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. Science, 2022, 375: 6584.
- [6] Wang Z H, Song Y. Toward understanding the genetic bases underlying plant-mediated "cry for help" to the microbiota. iMeta, 2022, 1 (1): 1-12.
- [7] 隋丽,万婷玉,路杨,等. 内生真菌对植物促生、抗逆作用研究进展. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1325-1331.
- [8] 张士功,刘国栋,刘更另. 植物营养与作物抗旱性. 植物学通报, 2001, 18(1): 64-69, 63.
- [9] Sedri M H, Amini A, Golchin A. Evaluation of nitrogen effects on yield and drought tolerance of rainfed wheat using drought stress indices. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2019, 22(3): 235-242.
- [10] 姜焕焕,李嘉钦,陈刚,等. 解磷微生物及其在盐碱土中的应用研究进展. 土壤, 2021, 53(6): 1125-1131.
- [11] Vries F T, Griffiths R I, Knight C G, et al. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. Science, 2020, 368(6488): 270-274.
- [12] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55(1): 158-161.
- [13] Trapnell C, Williams B A, Pertea G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. Nature Biotechnology, 2010, 28(5): 511-515.
- [14] 杨华庚,颜速亮,陈慧娟,等. 干旱胁迫对中粒种咖啡幼苗膜脂过氧化,抗氧化酶活性和渗透调节物质含量的影响. 热带作物学报, 2014, 35(5): 944-949.

- [15] 金思雨, 彭祚登. 刺槐和油松干旱胁迫响应研究进展. 西北林学院学报, 2022, 37(4): 79-91.
- [16] 王乐乐, 王权, 黄亚茹, 等. 水稻叶片气孔导度及叶肉导度对干旱胁迫的响应机理研究进展. 生命科学, 2022, 34(4): 448-458.
- [17] 王硕, 贾潇倩, 何璐, 等. 作物对干旱胁迫的响应机制及提高作物抗旱能力的调控措施研究进展. 中国农学通报, 2022, 38(29): 31-44.
- [18] 陈丽飞, 刘越, 李雪萌, 等. 植物抗旱性研究进展. 吉林农业, 2019(2): 78-79.
- [19] 梁炜文, 周红英, 杨景竣, 等. 干旱胁迫对落羽杉幼苗生理特性的影响. 广西林业科学, 2022, 51(4): 489-493.
- [20] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响. 生态学报, 2011, 31(5): 1303-1311.
- [21] 孔亚丽, 朱春权, 曹小闯, 等. 土壤微生物介导植物抗盐性机理的研究进展. 中国农业科学, 2021, 54(10): 2073-2083.
- [22] Kour D, Yadav A N. Bacterial mitigation of drought stress in plants: Current perspectives and future challenges. *Current Microbiology*, 2022, 79(9): 1-19.
- [23] Gu Y, Banerjee S, Dini-Andreote F, et al. Small changes in rhizosphere microbiome composition predict disease outcomes earlier than pathogen density variations. *The ISME Journal*, 2022, 16(10): 2448-2456.
- [24] Sharma V, Sekhwal M K, Swami A K, et al. Identification of drought responsive proteins using gene ontology hierarchy. *Bioinformation*, 2012, 8(13): 595-599.
- [25] 李彦杰, 刘仁华, 周大祥, 等. 三峡库区消落带野生狗牙根对水淹适生性的转录组分析. 生态学报, 2018, 38(23): 8434-8441.
- [26] 马玥, 苏宝玲, 韩艳刚, 等. 岳桦幼苗光合特性和非结构性碳水化合物积累对干旱胁迫的响应. 应用生态学报, 2021, 32(2): 513-520.
- [27] 商成慧, 周泽宇, 崔文雪, 等. 大豆脯氨酸积累相关基因家族鉴定及干旱胁迫表达分析. 植物遗传资源学报, 2022, 23(6): 1793-1806.
- [28] 张世英, 刘易超, 贾树强, 等. 中华金叶榆盆栽苗对干旱胁迫的生理响应与转录组分析. 河北农业大学学报, 2022, 45(1): 69-78.

## Effects of Compound Microbial Fertilizer on Drought Resistance of Maize Seedlings under Drought Stress by Transcriptome Analysis

Qing Chen, Liu Zhengxue, Li Yanjie

(College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404100, China)

**Abstract** To explore the effects of compound microbial fertilizer on drought resistance of maize seedlings under drought stress, four treatments, blank control group (CK), phosphate solubilizing bacteria addition group (P), arbuscular mycorrhizal fungi addition group (A) and compound microbial fertilizer addition group (including phosphate solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi) (AP), were set up respectively with maize “Eyu 16” as the material, and then subjected to drought stress treatment through soil water control. Maize leaf samples were collected for physiological and biochemical index detection and transcriptome sequencing analysis. The results showed that after drought stress treatment (i.e. the fifth, tenth and fifteenth days), the highest MDA contents in maize leaves was CK, the lowest was AP treatment, and the activities of SOD and POD in maize leaves in AP treatment were significantly higher than those in CK, and the activities of CAT in maize leaves in AP treatment were higher than those in CK treatment during stress. Compared with CK, transcriptome sequencing analysis detected 320 differentially expressed genes (DEGs) in the leaves of maize seedlings in AP treatment, including 204 up-regulated genes and 116 down-regulated genes; the results of GO analysis showed that 34.33%, 43.12% and 22.55% of DEGs were enriched in biological processes, cell components and molecular functions, respectively. The results of KEGG analysis showed that the significant enrichment pathways included plant pathogen interaction, starch and sucrose metabolism, other types of O-glycan biosynthesis, zeatin biosynthesis, galactose metabolism and amino acid biosynthesis.

**Key words** Maize seedling; Drought stress; Compound microbial fertilizer; Transcriptome