



李涛, 屈小玉, 马小英, 刘威帆, 万猛虎, 马凤兰, 吴娜, 刘吉利. 基于转录组分析玉米幼苗对盐胁迫的响应[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(01): 38-54.
LI Tao, QU Xiaoyu, MA Xiaoying, LIU Weifan, WAN Menghu, MA Fenglan, WU Na, LIU Jili. Transcriptome-based analysis of maize seedlings in response to salt stress[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(01): 38-54.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.01.04

基于转录组分析玉米幼苗对盐胁迫的响应

李涛¹ 屈小玉¹ 马小英¹ 刘威帆¹ 万猛虎¹ 马凤兰¹ 吴娜¹ 刘吉利^{2*}

(1. 宁夏大学农学院, 银川 750021;

2. 宁夏大学生态环境学院, 银川 750021)

摘要 为分析玉米耐盐基因及相关代谢途径, 选用玉米品种‘禾育157’(HY157)和‘先玉335’(XY335), 设置0 (CK)、120 (S₁)、240 mmol/L NaCl (S₂) 3种处理的盆栽试验, 测定不同浓度NaCl处理下玉米幼苗的生长指标和转录组表达情况。结果表明: 与CK相比, ‘HY157’在S₁和S₂处理下分别产生3 305和4 314个差异表达基因 (DEGs), 分别鉴定出1 900和2 457个上调、1 405和1 857个下调DEGs; ‘XY335’在S₁和S₂处理下分别产生729和5 037个DEGs。其中, 293和2 500个上调、436和2 537个下调DEGs。通过对DEGs进行GO富集分析, 2个玉米品种共同的上调DEGs显著富集在过氧化氢、盐胁迫的应答及碳水化合物代谢过程等GO条目。KEGG富集分析表明, 差异基因主要参与淀粉和蔗糖代谢、苯丙烷类生物合成、磷酸戊糖途径、苯并恶唑类生物合成、MAPK通路(植物)以及植物激素信号传导等代谢途径。苯丙烷类生物合成途径中, 有3个基因在‘XY335’中特异性地上调表达, ‘HY157’则有5个基因特异性地下调表达。此外, 上调的转录因子主要集中在MYB、C2H2、AP2、NAC、bHLH、bZIP、WRKY等基因家族。综上, 120和240 mmol/L NaCl胁迫下, ‘HY157’的DEGs以及显著上调表达的转录因子, 主要参与调控渗透调节、离子平衡、抗氧化防御等多种适应性反应, 从而增强玉米幼苗对盐胁迫的耐受性。

关键词 玉米; 盐胁迫; 高通量测序; 转录组; 转录因子

中图分类号 S513

文章编号 1007-4333(2025)01-0038-17

文献标志码 A

Transcriptome-based analysis of maize seedlings in response to salt stress

LI Tao¹, QU Xiaoyu¹, MA Xiaoying¹, LIU Weifan¹, WAN Menghu¹, MA Fenglan¹,
WU Na¹, LIU Jili^{2*}

(1. College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

2. College of Ecology and Environment, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract In order to analyze the salt tolerance genes and its related metabolic pathways in maize, two maize varieties, ‘Heyu 157’ (HY157) and ‘Xianyu 335’ (XY 335), were selected in pot experiment. The experiment was conducted to determine the growth indexes and transcriptome expression of maize seedlings under three different NaCl treatments as follows: 0 (CK), 120 (S₁) and 240 mmol/L NaCl (S₂). The results demonstrated that: In comparison to the control (CK), ‘HY 157’ variety under S₁ and S₂ treatments exhibited 3 305 and 4 314 differentially expressed genes (DEGs), with 1 900 and 2 457 being up-regulated and 1 405 and 1 857 being down-regulated, respectively; ‘XY 335’ variety under S₁ and S₂ treatments produced 729 and 5 037 differentially expressed genes (DEGs), with 293 and 2 500 up-

收稿日期: 2024-06-21

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1900603)

第一作者: 李涛 (ORCID: 0009-0006-4409-9454), 硕士研究生, E-mail: 15909685464@163.com

通讯作者: 刘吉利 (ORCID: 0000-0002-2360-5075), 研究员, 主要从事作物逆境生理研究, E-mail: tim11082003@163.com

regulated and 436 and 2 537 down-regulated, respectively. GO enrichment analysis of the differentially expressed genes (DEGs) revealed that the two maize varieties co-enriched up-regulated genes were significantly enriched in GO entries such as response to hydrogen peroxide, salt stress and carbohydrate metabolism processes. KEGG enrichment analysis showed that the differentially expressed genes were mainly involved in metabolic pathways such as starch and sucrose metabolism, phenylpropanoid biosynthesis, pentose phosphate pathway, benzoxazole biosynthesis, MAPK signaling pathway (plant) and phytohormone signalling. The results of the genome enrichment analysis indicated that the differentially expressed genes were primarily associated with metabolic pathways, including starch and sucrose metabolism, phenylpropanoid biosynthesis, the pentose phosphate pathway, benzoxazole biosynthesis, mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway (plant) and phytohormone signalling. Three genes involved in the phenylpropane biosynthesis pathway exhibited a specific up-regulation and expression in 'XY 335', while five genes demonstrated a specific down-regulation and expression in 'HY 157'. Furthermore, the up-regulated transcription factors were predominantly observed in gene families belonging to the MYB, C2H2, AP2, NAC, bHLH, bZIP, and WRKY categories. In conclusion, under conditions of salt stress (120 and 240 mmol/L NaCl), the differentially expressed genes (DEGs) of 'HY 157' were found to be involved in the modulation of a variety of adaptive responses including osmotic regulation, ion homeostasis and antioxidant defenses, thereby enhancing the tolerance of seedlings to salt stress.

Keywords maize; salt stress; high-throughput sequencing; transcriptome; transcription factor

玉米(*Zea mays* L.)作为我国北方地区广泛种植的粮食作物,在我国粮食安全中占据了举足轻重的地位,对于确保国家粮食供应具有重要意义^[1],此外还是粮食及工业加工的关键原料^[2]。然而,大片的土地盐渍化现象已成为玉米生长发育的严重桎梏,从而导致了玉米产量的急剧减少^[3]。其中,宁夏回族自治区现有不同程度盐渍化耕地 16.58 万 hm^2 ,占宁夏总耕地面积的 11.95%^[4]。因此,针对大面积的盐渍化问题,培育耐盐品种是提高盐碱地玉米产量的重要途径。

过高的盐分会抑制玉米根系生长,打破根内离子平衡,破坏细胞膜的结构完整性,进而影响根系对养分的吸收^[5]。其次,盐胁迫会对玉米叶片光合特性造成损伤,降低光合作用效率,甚至可能引发叶片凋萎^[6]。此外,过量钠离子积累将产生离子毒害,诱导活性氧产生,阻碍玉米代谢活动,进而抑制玉米的生长发育^[7]。2005年之后,转录组测序技术迅猛进步,现已跃升为分析耐盐基因差异表达模式及揭示其调控机制的关键工具^[8]。邓肖等^[9]根据转录组数据筛选了盐胁迫下 12 个与光合特性相关的差异表达基因(DEGs),分别存在于甘油脂质代谢、MAPK 信号通路、植物信号转导、黄酮类生物合成等代谢途径。韩金龙等^[10]研究指出,在玉米遭受盐胁迫时,随着 NaCl 浓度的逐渐上升,叶片和根部的 Na^+ 与 K^+ 含量均呈现增长趋势,并且根中这 2 种离子的含量相较于叶片

的 Na^+ 、 K^+ 含量均显著增加。Hao 等^[11]研究表明, *ZmERF* 基因启动子区域含有与植物生长发育调控、应答非生物逆境胁迫相关的元件,可能在植物发育过程中扮演重要角色,并参与对盐胁迫的应答。方鹏等^[12]用 180 mmol/L NaCl 对 3 叶期的玉米盐敏感自交系 'P 138' 和耐盐自交系 '8723' 进行盐胁迫处理,耐盐自交系中存在更多的上调表达差异基因。在植物耐盐性研究中,拟南芥中的 *AtNIG1* 成为首个被识别的 *bHLH* 转录因子家族成员,其过表达状态显著提升了植株的耐盐性能^[13]。在玉米的耐盐机制中,转录因子 *ZmWRKY114* 扮演了负调控因子的角色,它通过脱落酸(ABA)介导的途径,参与了玉米对盐胁迫的响应过程^[14]。在水稻的耐盐研究中,转录因子 *OsDOF15* 通过调控乙烯的生物合成途径,从而抑制 *OsACS1* 的表达,这种负调控作用使得在盐胁迫条件下,乙烯的生成量减少,从而减轻乙烯对初生根伸长的抑制作用^[15-16]。在深入探讨棉花转录因子基因 *GhABF3* 的生物学功能时,发现这一特定基因通过依赖 ABA 的方式对非生物逆境胁迫作出反应,其过表达能够显著降低细胞的氧化应激水平,从而显著增强了陆地棉对盐胁迫的耐受性^[17]。在大豆耐盐性的研究中,观察到转录因子基因 *GmNAC06* 通过精细调控毛状根中的 Na^+ / K^+ 离子比例,有效维持了细胞内外的离子平衡,进而显著增强了大豆的耐盐性^[18]。然而,对于玉米幼苗期在盐胁迫下的转录组分析研究相

对较少。本研究以耐盐玉米品种‘禾育 157’(HY 157)和盐敏感品种‘先玉 335’(XY 335)为材料,设置不同 NaCl 处理的盆栽试验,测定不同 NaCl 处理下玉米幼苗生长指标和转录组的表达情况,通过 GO 富集分析和 KEGG 通路解析,旨在探究不同玉米品种响应盐胁迫的关键代谢通路和转录因子,以期选育耐盐新品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

采用盆栽试验的方法,试验于宁夏大学作物栽培实验室进行。供试品种为耐盐玉米品种‘禾育 157’(HY 157)和盐敏感品种‘先玉 335’(XY 335)。设置 0(CK)、120(S₁)、240 mmol/L NaCl(S₂),3 个浓度处理,每个处理 3 个重复。挑选胚完整、籽粒饱满一致的种子各 50 粒,用 75% 乙醇浸泡 30 s,用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 10 min,用蒸馏水冲洗干净转至铺有滤纸的培养皿中并摆放均匀,25℃培养箱中催芽,然后挑选长势较好的 9 株转入装有蛭石和珍珠岩(蛭石:珍珠岩=1:1)的盆栽中,并用蒸馏水将其完全浸湿,在 20~25℃(16 h 光/8 h 暗)条件下,光合光子通量密度设为 350 μmol/(m²·s),相对湿度为 60%。待幼苗长至 3 叶 1 心时,用 Hoagland 营养液^[19]对各处理进行定量浇灌(溶液浇灌量为基质体积的 2 倍,将积累在基质中的盐分冲洗干净,保持各处理液浓度的恒定),每隔 2 d 浇灌,待幼苗长至 6 叶时,处理组用含 120、240 mmol/L NaCl 的营养液进行浇灌,对照组以 0 mmol/L NaCl 的营养液进行浇灌,浇培养液前用 3.0 L 蒸馏水浸润花盆中培养基质。处理 24 h 后采集植株样品,立即投入液氮中冷冻,并放于-80℃冰箱中储存备用。

1.2 生长指标的测定

于六叶期时选取长势均匀的玉米幼苗,米尺直接测量其株高。再将其置于烘箱 105℃杀青 30 min,80℃烘干至恒重,测定幼苗的根和叶的干重。同时测定根冠比,根冠比=(地下部干物质重/地上部干物质重)×100%,重复 3 次。

1.3 RNA-Seq 测序及转录组分析

在武汉赛维尔生物科技有限公司完成了测试样品的 RNA 提取和 cDNA 文库的构建工作。所有 cDNA 文库均在 Illumina HiSeq™ 2000 平台上进行测序。测序结果将原始图像数据转化为原始序列

数据(raw reads)。首先,使用 FastQC 软件对原始 RNA-seq 数据进行质控,以评估测序数据的质量,接着使用 MultiQC^[20]软件汇总多个样本的 FastQC 报告,便于快速查看和比较数据质量。运用 Trim Galore 剔除了包含低质量片段和接头序列的 reads,从而获取高质量的 Clean reads。随后,利用 Hisat 2 软件^[21],将这些 Clean Reads 批量映射至‘B 73’参考基因组。采用 FeatureCounts 软件^[22]统计了回帖至参考基因上的 CDS 序列数量,获取原始 counts 值。最终,结合这些 counts 及 CDS 序列长度,引入 FPKM (Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped fragments)作为关键指标。使用 R 包 DESeq2^[23]对原始 counts 进行标准化处理,在数据分析阶段进行差异基因分析,并统计差异表达基因中上调和下调的数目。

1.4 差异表达基因(DEGs)筛选

对处理组和对照组的基因表达进行差异分析,识别并筛选出差异表达的基因。为方便统计 DEGs 的数量,需要将基因的表达量均一化为 FPKM,然后计算 P 和校正后的 $P^{[24-25]}$ 。在此研究中,将 $\log|\text{Fold Change}| \geq 1$ 、 $\text{FDR} \leq 0.05$ 作为筛选标准,采用超几何检验方法,在玉米全基因组背景下分析这些 DEGs 在 GO 和 KEGG 数据库中的功能富集情况。采用 Bioinformatics 在线工具(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制部分差异基因表达量热图。

1.5 qRT-PCR 验证

随机筛选 10 个 DEGs 进行荧光定量 PCR 检测(表 1)。使用武汉赛维尔生物科技有限公司提供的 RNA 提取试剂盒,提取 S₁ 和 S₂ 的 NaCl 胁迫处理组玉米六叶期根的总 RNA。使用武汉赛维尔生物科技有限公司逆转录试剂盒进行 cDNA 合成。以 GAPDH 基因作为内参基因,Primer 5.0 设计引物,使用 2^{-ΔΔCt} 法^[26]计算差异基因的表达量。

1.6 转录因子(TF)分析

将筛选出的差异表达基因与植物转录因子数据库(如 <https://plantfdb.gao-lab.org/index.php?sp=Zma>)进行比对,获得差异表达的转录因子,并依据其功能或特性进行归类^[27]。

1.7 数据分析

利用 Excel 2021 对玉米生长指标的数据进行整理。用 SAS 9.4 软件进行统计分析,其中设定 $P < 0.05$ 作为显著性差异的阈值,而 $P < 0.01$ 则被

表 1 荧光定量 PCR 基因及其引物序列

Table 1 Fluorescence quantitative PCR genes and their primer sequences

序号 Number	引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primer sequence
1	<i>Zm00001eb099240-S</i>	GGAACAAGGGATGCGGTGA
	<i>Zm00001eb099240-A</i>	ACTGCAAGATGCCAGGGACA
2	<i>Zm00001eb347200-S</i>	TTTGGTTCATTTGAGGCACTTG
	<i>Zm00001eb347200-A</i>	TGCTCCCAGACATCAATCCC
3	<i>Zm00001eb195970-S</i>	ATCAGGTGCCATTGCTCGC
	<i>Zm00001eb195970-A</i>	CACTGATGATAACCATTTCCTGCT
4	<i>Zm00001eb289500-S</i>	AAACTTCAGGGAGAGGCTTCG
	<i>Zm00001eb289500-A</i>	CATCCACGTCACTGAGTAGAACAA
5	<i>Zm00001eb161560-S</i>	ATGCTCTGGGTGTTCTATGGC
	<i>Zm00001eb161560-A</i>	GGCTGTCGGAATAGAGGAAGA
6	<i>Zm00001eb158420-S</i>	CTTGTGATATACTCTGCATGGGTTT
	<i>Zm00001eb158420-A</i>	AGGCCACGTCAAGAATAAACCA
7	<i>Zm00001eb336580-S</i>	CAGGTGATGAAGAGCAGCCTC
	<i>Zm00001eb336580-A</i>	ACCTGGTACGTTGCCTTCTCG
8	<i>Zm00001eb244120-S</i>	CCACCCATAACGGAAACCC
	<i>Zm00001eb244120-A</i>	GAACCTGGTTTCGCAAAGTCA
9	<i>Zm00001eb023350-S</i>	TTCTCCGCCTTCCTAGCTTG
	<i>Zm00001eb023350-A</i>	TCACTGCTTGGACGGGTTG
10	<i>ZM00001eb101700-S</i>	CAGAAAAGGACTATGGTGCCTATGA
	<i>ZM00001eb101700-A</i>	CTTTATGTTTGTCTCGTCAGCTTGC
11	<i>GAPDH-S</i>	CCCTTCATCACCACGGACTAC
	<i>GAPDH-A</i>	AACCTTCTTGGCACCACCCT

视为极显著性差异的临界值。使用 Origin 2022 软件制作图表。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对玉米幼苗各项生长指标的影响

由表 2 可知,与 0 mmol/L NaCl (CK)相比,120 (S₁)和 240 mmol/L NaCl(S₂)可显著降低玉米幼苗株高、地下部和地上部干物质重。S₁和 S₂下,‘HY 157’和‘XY 335’的株高分别降低 14.2%~36.8%和 21.4%~34.3% ($P<0.05$),地下部干物质重分别降低 18.6%~39.0% 和 21.4%~42.9% ($P<0.05$),地上部干物质重分别降低 18.8%~31.3%和 27.6%~32.8% ($P<0.05$)。NaCl 胁迫对两品

种的根冠比均无显著影响。二因素方差分析表明,品种和处理对玉米株高和地下、地上部干物质重影响达极显著水平 ($P<0.01$),并且二因素交互对株高影响表现出极显著水平 ($P<0.01$),而对地下和地上部的干物质重、根冠比均无显著差异 ($P>0.05$) (表 2)。

2.2 盐胁迫下玉米幼苗转录组测序数据质量评估

由表 3 可知,18 个样本的原始序列数据总数在 36.82~52.86 Mb,原始序列碱基总数在 5.56~7.98 Gb;过滤后样品的高质量序列在 36.34~52.14 Mb,高质量序列碱基数在 5.48~7.86 Gb,高质量序列 reads 占测序 reads 的比例 $\geq 98.27\%$,高质量序列碱基占测序碱基的比例也 $\geq 98\%$,同时识别

表2 盐胁迫下不同品种玉米幼苗生物量的变化

Table 2 Changes in biomass of maize seedlings of different varieties under salt stress

品种 Variety	处理 Treatment	株高/cm Plant height	地下部干物质重/g Mass of underground dry matter	地上部干物质重/g Mass of dry matter above ground	根冠比 Root-crown ratio
HY 157	CK	63.63±1.50 ^a	0.59±0.05 ^a	0.64±0.05 ^a	0.92±1.23 ^a
	S ₁	54.60±0.44 ^b	0.48±0.02 ^b	0.52±0.04 ^b	0.92±1.01 ^a
	S ₂	40.23±0.67 ^c	0.36±0.01 ^c	0.44±0.05 ^b	0.82±0.81 ^a
XY 335	CK	59.80±0.26 ^a	0.56±0.02 ^a	0.58±0.04 ^a	0.97±1.14 ^a
	S ₁	47.03±0.76 ^b	0.44±0.02 ^b	0.42±0.04 ^b	1.05±0.86 ^a
	S ₂	39.30±1.05 ^c	0.32±0.02 ^c	0.39±0.06 ^b	0.82±0.72 ^a
F	品种(V) Variety	**	**	**	ns
	处理(T) Treatment	**	**	**	*
	V×T	**	ns	ns	ns

注:CK,0 mmol/L NaCl;S₁,120mmol/L NaCl; S₂,240 mmol/L NaCl。同列数字后不同小写字母表示同一品种不同处理间差异显著($P<0.05$)。*, $P<0.05$;**, $P<0.01$;ns,无显著性差异。下同。
Note: CK, 0 mmol/L NaCl; S₁, 120 mmol/L NaCl; S₂, 240 mmol/L NaCl. The different lowercase letters in the same column indicate significant differences between the treatment group and the control group of the same variety, $P<0.05$. *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ns, no significant difference. The same below.

表3 转录组测序数据信息

Table 3 Transcriptome sequencing data information

样品名 Sample	原始序列/Mb Raw read	原始序列碱 基数/Gb Raw base	高质量序列/Mb Clean read	高质量序列碱 基数/Gb Clean base	高质量序列碱 基占比/% Clean base	Q20/%	Q30/%
HY157-1_CK	45.04	6.80	44.26	6.67	98.06	98.11	94.71
HY157-1_S ₁	47.88	7.23	47.18	7.12	98.42	98.10	94.63
HY157-1_S ₂	48.95	7.39	48.24	7.28	98.44	98.10	94.61
HY157-2_CK	38.31	5.79	37.83	5.70	98.60	98.22	94.84
HY157-2_S ₁	45.12	6.81	44.51	6.71	98.53	98.16	94.74
HY157-2_S ₂	40.96	6.18	40.46	6.10	98.59	98.29	95.02
HY157-3_CK	44.01	6.65	43.38	6.54	98.38	98.12	94.67
HY157-3_S ₁	41.33	6.24	40.74	6.14	98.40	98.14	94.69
HY157-3_S ₂	42.49	6.42	41.78	6.30	98.12	98.05	94.59
XY335-1_CK	37.73	5.70	37.28	5.62	98.65	98.22	94.84
XY335-1_S ₁	43.46	6.56	42.84	6.45	98.33	98.14	94.74
XY335-1_S ₂	39.62	5.98	39.15	5.90	98.60	98.29	95.05
XY335-2_CK	42.21	6.37	41.59	6.27	98.33	98.09	94.63
XY335-2_S ₁	38.61	5.83	38.07	5.74	98.39	98.14	94.70
XY335-2_S ₂	42.74	6.45	42.14	6.35	98.39	98.13	94.68
XY335-3_CK	48.23	7.28	47.46	7.15	98.13	98.09	94.67
XY335-3_S ₁	44.01	6.65	43.28	6.52	98.17	98.10	94.73
XY335-3_S ₂	43.69	6.60	43.02	6.48	98.25	98.23	95.01

注:HY 157 和 XY 335 分别为玉米‘禾育 157’和‘先玉 335’。HY 157-1, HY 157-2 和 HY 157-3 分别为‘禾育 157’的 3 个重复;XY 335-1, XY 335-2, XY 335-3, 分别为‘先玉 335’的 3 个重复。Q20 和 Q30 分别为识别准确率在 99.0% 和 99.9% 以上的碱基所占百分比。
Note: HY 157 and XY 335 are maize ‘Heyu 157’ and ‘Xianyu 335’, respectively. HY 157-1, HY 157-2 and HY 157-3 are three replicates of ‘HY 157’; XY 335-1, XY 335-2 and XY 335-3 are three replicates of ‘XY 335’. Q20 and Q30 are the proportion of bases with 99.0% and 99.9% or greater base identification accuracy, respectively.

准确率在 99% 以上的碱基百分比(Q20)≥98%, 准确率在 99.9% 以上的占百分比(Q30)≥94%。参考基因组的比对率(total_mapped)范围在 91.09%~93.52%, 表明大部分测序数据能够成功映射到参考基因组上。多个定位测序序列(multiple_mapped)的比率在 3.13%~4.79%, 而单一序列比对(uniquely_mapped)的比率则≥96%(表 3)。说明测得数据准确度高, 数据质量好, 适合完成后续分析。

2.3 差异表达基因(DEGs)的筛选

由表 4 可知, 与 CK 相比, 盐敏感品种‘XY 335’的 S₁和 S₂分别存在 729 和 5 037 个 DEGs, 上调表达基因数量略低于下调表达基因数量; 而耐盐品种‘HY 157’在 S₁和 S₂分别产生 3 305 和 4 314 个 DEGs, 且差异表达基因的上调数量高于下调数量。在 NaCl 胁迫(S₂)条件下, ‘XY 335’的 DEGs 数量显著高于‘HY 157’, 且这些差异基因大部分表现为下调表达。两品种 S₂的 DEGs 数量均高于 S₁。

表 4 玉米幼苗表达差异分析结果统计
Table 4 Statistical results of expression difference analysis of maize seedlings

对照组 vs 处理组 Control vs treatment	上调基因 Up-modulated gene	下调基因 Down-modulated gene	差异表达基因总数 Total DEG
HY157_CK vs HY157_S ₁	1 900	1 405	3 305
HY157_CK vs HY157_S ₂	2 457	1 857	4 314
XY335_CK vs XY335_S ₁	293	436	729
XY335_CK vs XY335_S ₂	2 500	2 537	5 037

2.4 GO 功能富集分析

由表 5 可知, 在 HY157_CK vs HY157_S₁ 处理组中有 3 305 个 DEGs 参与了 4 384 个 GO 功能分类项, 主要富集在细胞组分(cell components, CC)大类中的叶绿体(chloroplast, 209 个)和细胞外围(cell periphery, 289 个)和分子功能(molecular function, MF)大类中的催化活性(catalytic activity, 1 439 个), 以及生物过程(biological process, BP)大类中的氧化还原过程(oxidation-reduction process, 265 个)和碳水化合物代谢过程(carbohydrate metabolic process, 205 个); 在 HY157_CK vs HY157_S₂ 处理组中有 4 314 个 DEGs 参与了 4 990 个 GO 功能分类项, 主要富集在 CC 大类中的叶绿体(388 个)和质体(plastid, 408 个)和 MF 类中的催化活性(catalytic activity, 1 988 个), 以及 BP 中的类囊体(photosynthesis, 94 个)(表 6)。这些是 GO 富集丰度前 30 的条目, 说明不同处理条件下差异基因富集的条目相同, 但是 DEG 数目不同。

对‘XY 335’不同处理组间差异基因进行 GO 富集分析发现, 在 XY335_CK vs XY335_S₁ 处理组中有 729 个 DEGs 参与了 2 109 个 GO 功能分类项, 主要富集在 CC 大类中的质膜(plasma membrane, 69 个)和 MF 类中的蛋白质自聚合(protein self-association, 10 个), 以及 BP 大类中的对过氧化氢的

响应(response to hydrogen peroxide, 11 个)和蛋白质复合物寡聚化(protein complex oligomerization, 11 个)(表 7)。在 XY335_CK vs XY335_S₂ 处理组中有 5 037 个 DEGs 参与了 5 129 个 GO 功能分类项, 主要富集在 CC 大类中的细胞质核糖体(cytosolic ribosome, 132 个), 细胞质大核糖体亚基(cytosolic large ribosomal subunit, 83 个)和 MF 类中的核糖体的结构成分(structural constituent of ribosome, 204 个)和结构分子活性(structural molecule activity, 222 个), 以及 BP 中的核糖体大亚基生物合成(ribosomal large subunit biogenesis, 44 个)(表 8)。2 个处理组中, 富集程度最高的 3 个分类项均为细胞结构、催化活性和代谢过程, 差异基因分别为细胞结构(1 541 和 1 849 个)、催化活性(1 988 和 2 012 个)和代谢过程(1 961 和 1 407 个)。经过对玉米在盐胁迫下的基因表达进行 GO 富集分析, 在 CC、BP 和 MF 的分类中, 观察到显著的富集条目和水平。玉米对于盐胁迫的主要响应集中在蛋白质的生物合成及其催化机制、氧化还原反应的调控, 以及碳水化合物代谢等多个方面。这些响应机制共同构成了一个错综复杂的调控网络。特别值得注意的是, 在生物过程中氧化还原反应相关的 DEGs 数量显著上升, 是玉米遭受盐胁迫时重要的响应机制。

表5 HY157_CK vs HY157_S₁ 差异基因表达前30个GO富集分析

Table 5 Enrichment analysis of the top 30 GO genes with differential gene expression between HY157_CK and HY157_S₁

分类 Category	编号 ID	条目 Term	注释到该GO条目的 差异表达基因 DEG	校正后P Corrected P-value
CC	GO:0009507	叶绿体 Chloroplast	209	1.15×10^{-8}
	GO:0071944	细胞外围 Cell periphery	289	5.98×10^{-8}
	GO:0005886	质膜 Plasma membrane	236	2.17×10^{-7}
	GO:0009536	质体 Plastid	220	1.09×10^{-6}
	GO:0005874	微管 Microtubule	55	2.36×10^{-5}
	GO:0110165	细胞解剖实体 Cellular anatomical entity	1 894	3.35×10^{-5}
	GO:0099081	超分子聚合物 Supramolecular polymer	55	3.60×10^{-5}
	GO:0099512	超分子纤维 Supramolecular fiber	55	3.60×10^{-5}
	GO:0099513	聚合细胞骨架纤维 Polymeric cytoskeletal fiber	55	3.60×10^{-5}
	GO:0015630	微管细胞骨架 Microtubule cytoskeleton	60	3.71×10^{-5}
MF	GO:0003824	催化活性 Catalytic activity	1 439	1.66×10^{-9}
	GO:0046527	葡萄糖转移酶活性 Glucosyltransferase activity	48	9.11×10^{-8}
	GO:0016491	氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity	279	1.83×10^{-7}
	GO:0035251	UDP-葡萄糖基转移酶活性 UDP-glucosyltransferase activity	41	3.41×10^{-7}
	GO:0016759	纤维素合成酶活性 Cellulose synthase activity	16	1.37×10^{-5}
	GO:0016760	纤维素合成酶(UDP-形成)活性 Cellulose synthase (UDP-forming) activity	16	1.37×10^{-5}
	GO:0008194	UDP-糖基转移酶活性 UDP-glycosyltransferase activity	68	4.69×10^{-5}
	GO:0051119	糖跨膜转运活性 Sugar transmembrane transporter activity	9	5.82×10^{-5}
	GO:0016758	转移酶活性, 转移己糖基团 Transferase activity, transferring hexosyl groups	76	1.07×10^{-4}
	GO:0016161	β -淀粉酶活性 β -amylase activity	8	1.11×10^{-4}
BP	GO:0055114	氧化还原过程 Oxidation-reduction process	265	3.71×10^{-10}
	GO:0005975	碳水化合物代谢过程 Carbohydrate metabolic process	205	5.87×10^{-10}
	GO:0000281	有丝分裂细胞分裂 Mitotic cytokinesis	17	8.70×10^{-8}
	GO:0016051	碳水化合物生物合成过程 Carbohydrate biosynthetic process	77	2.00×10^{-7}
	GO:0061640	细胞骨架依赖性细胞分裂 Cytoskeleton-dependent cytokinesis	17	2.86×10^{-7}
	GO:0044262	细胞碳水化合物代谢过程 Cellular carbohydrate metabolic process	94	3.12×10^{-7}
	GO:0034637	细胞碳水化合物生物合成过程 Cellular carbohydrate biosynthetic process	61	3.95×10^{-7}
	GO:0000910	细胞分裂 Cytokinesis	22	4.15×10^{-7}
	GO:0009833	植物型初级细胞壁生物建成 Plant-type primary cell wall biogenesis	15	1.60×10^{-6}
	GO:0006073	细胞葡聚糖代谢过程 Cellular glucan metabolic process	53	3.37×10^{-6}

表 6 HY157_CK vs HY157_S₂ 差异基因表达前 30 个 GO 富集分析Table 6 Enrichment analysis of the top 30 GO genes with differential gene expression between HY157_CK and HY157_S₂

分类 Category	编号 ID	条目 Term	注释到该 GO 条目的 差异表达基因 DEG	校正后 <i>P</i> Corrected <i>P</i> -value
CC	GO:0009507	叶绿体 Chloroplast	388	5.16×10^{-40}
	GO:0009536	质体 Plastid	408	1.37×10^{-34}
	GO:0009534	叶绿体类囊体 Chloroplast thylakoid	115	2.23×10^{-22}
	GO:0031976	质体类囊体 Plastid thylakoid	115	2.23×10^{-22}
	GO:0042651	叶绿体膜 Thylakoid membrane	110	2.53×10^{-20}
	GO:0034357	光合膜 Photosynthetic membrane	114	4.48×10^{-20}
	GO:0009579	类囊体 Thylakoid	159	3.01×10^{-19}
	GO:0009535	叶绿体类囊体膜 Chloroplast thylakoid membrane	96	3.77×10^{-19}
	GO:0055035	质体类囊体膜 Plastid thylakoid membrane	96	3.77×10^{-19}
	GO:0031984	细胞器亚室 Organelle subcompartment	160	1.99×10^{-16}
MF	GO:0003824	催化活性 Catalytic activity	1 988	8.72×10^{-14}
	GO:0016491	氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity	399	1.06×10^{-12}
	GO:0046527	葡萄糖基转移酶活性 Glucosyltransferase activity	65	4.00×10^{-10}
	GO:0035251	UDP-葡萄糖基转移酶活性 UDP-glucosyltransferase activity	56	1.41×10^{-9}
	GO:0048037	辅因子结合 Cofactor binding	268	2.34×10^{-8}
	GO:0016759	纤维素合成酶活性 Cellulose synthase activity	21	7.15×10^{-7}
	GO:0016760	纤维素合成酶(UDP-形成)活性 Cellulose synthase (UDP-forming) activity	21	7.15×10^{-7}
	GO:0016161	β -淀粉酶活性 β -amylase activity	11	2.22×10^{-6}
	GO:0102229	直链淀粉麦芽糖水解酶活性 Amylopectin maltohydrolase activity	10	4.95×10^{-6}
	GO:0015926	葡萄糖苷酶活性 Glucosidase activity	28	1.37×10^{-5}
BP	GO:0015979	光合作用 Photosynthesis	94	1.19×10^{-15}
	GO:0055114	氧化还原过程 Oxidation-reduction process	374	3.16×10^{-15}
	GO:0005975	碳水化合物代谢过程 Carbohydrate metabolic process	279	2.27×10^{-12}
	GO:0043436	氧酸代谢过程 Oxoacid metabolic process	227	4.54×10^{-10}
	GO:0006082	有机酸代谢过程 Organic acid metabolic process	227	5.33×10^{-10}
	GO:0016053	有机酸生物合成过程 Organic acid biosynthetic process	121	2.55×10^{-9}
	GO:0046394	羧酸生物合成过程 Carboxylic acid biosynthetic process	121	2.55×10^{-9}
	GO:0019752	羧酸代谢过程 Carboxylic acid metabolic process	220	3.29×10^{-9}
	GO:0019684	光合作用, 光反应 Photosynthesis, light reaction	40	1.22×10^{-8}
	GO:0044283	小分子生物合成过程 Small molecule biosynthetic process	159	1.26×10^{-8}

表7 XY335_CK vs XY335_S₁ 差异基因表达前30个GO富集分析

Table 7 Enrichment analysis of the top 30 GO genes with differential gene expression between XY335_CK and XY335_S₁

分类 Category	编号 ID	条目 Term	注释到该GO条目的 差异表达基因 DEG	校正后P Corrected P-value
CC	GO:0005886	质膜 Plasma membrane	69	2.33×10^{-8}
	GO:0071944	细胞外周 Cell periphery	79	8.59×10^{-8}
	GO:0031224	膜的固有成分 Intrinsic component of membrane	202	7.96×10^{-7}
	GO:0016021	膜的组成部分 Integral component of membrane	198	1.90×10^{-6}
	GO:0005773	液泡 Vacuole	22	9.38×10^{-5}
	GO:0016020	薄膜 Membrane	222	2.73×10^{-4}
	GO:0005774	液泡膜 Vacuolar membrane	13	1.12×10^{-3}
	GO:0000325	植物型液泡 Plant-type vacuole	5	1.49×10^{-2}
	GO:0009529	质体膜间空间 Plastid intermembrane space	1	1.88×10^{-2}
MF	GO:0031422	RecQ家族解旋酶拓扑异构酶III复合物 RecQ family helicase-topoisomerase III complex	1	1.88×10^{-2}
	GO:0043621	蛋白质自结合 Protein self-association	10	4.12×10^{-9}
	GO:0005506	铁离子结合 Iron ion binding	31	1.46×10^{-8}
	GO:0004497	单加氧酶活性 Monooxygenase activity	25	2.62×10^{-7}
	GO:0051082	未折叠蛋白结合 Unfolded protein binding	16	6.87×10^{-6}
	GO:0016160	淀粉酶活性 Amylase activity	6	7.43×10^{-6}
	GO:0016705	氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity	25	1.56×10^{-5}
	GO:0005215	转运活性 Transporter activity	58	1.80×10^{-5}
	GO:0016161	β-淀粉酶活性 β-amylase activity	5	2.04×10^{-5}
BP	GO:0022857	跨膜转运蛋白活性 Transmembrane transporter activity	55	2.62×10^{-5}
	GO:0005372	水跨膜转运蛋白活性 Water transmembrane transporter activity	6	6.80×10^{-5}
	GO:0042542	对过氧化氢的反应 Response to hydrogen peroxide	11	3.85×10^{-11}
	GO:0051259	蛋白质复合物寡聚化 Protein complex oligomerization	11	2.06×10^{-10}
	GO:0009408	对热的反应 Response to heat	16	1.63×10^{-9}
	GO:0046677	对抗生素的反应 Response to antibiotic	12	6.16×10^{-9}
	GO:0009651	对盐胁迫的反应 Response to salt stress	12	2.34×10^{-7}
	GO:0009266	对温度刺激的反应 Response to temperature stimulus	17	4.36×10^{-7}
	GO:0006970	对渗透胁迫的反应 Response to osmotic stress	13	4.39×10^{-7}
	GO:0000302	对活性氧的反应 Response to reactive oxygen species	11	2.81×10^{-6}
	GO:0042493	对药物的反应 Response to drug	12	1.70×10^{-5}
	GO:0009607	对生物刺激的反应 Response to biotic stimulus	19	2.53×10^{-5}

表 8 XY335_CK vs XY335_S₂ 差异基因表达前 30 个 GO 富集分析Table 8 Enrichment analysis of the top 30 GO genes with differential gene expression between XY335_CK and XY335_S₂

分类 Category	编号 ID	条目 Term	注释到该 GO 条目的 差异表达基因 DEG	校正后 <i>P</i> Corrected <i>P</i> -value
CC	GO:0022626	细胞质核糖体 Cytosolic ribosome	132	2.34×10^{-31}
	GO:0022625	细胞质大核糖体亚基 Cytosolic large ribosomal subunit	83	5.61×10^{-27}
	GO:0044391	核糖体亚基 Ribosomal subunit	153	1.84×10^{-26}
	GO:0015934	大核糖体亚基 Large ribosomal subunit	93	3.94×10^{-23}
	GO:0005840	核糖体 Ribosome	219	7.10×10^{-20}
	GO:0005829	细胞质 Cytosol	309	1.40×10^{-9}
	GO:0005886	质膜 Plasma membrane	366	1.97×10^{-9}
	GO:0022627	细胞质小核糖体亚基 Cytosolic small ribosomal subunit	49	1.43×10^{-8}
	GO:1990904	核糖核蛋白复合物 Ribonucleoprotein complex	202	4.25×10^{-8}
	GO:0071944	细胞外周 Cell periphery	427	5.63×10^{-7}
MF	GO:0003735	核糖体的结构组成 Structural constituent of ribosome	204	2.87×10^{-23}
	GO:0005198	结构分子活性 Structural molecule activity	222	1.02×10^{-17}
	GO:0016301	激酶活性 Kinase activity	448	9.47×10^{-7}
	GO:0016773	磷酸转移酶活性, 醇基作为受体 Phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	364	3.61×10^{-6}
	GO:0060089	分子传感器活性 Molecular transducer activity	48	1.19×10^{-5}
	GO:0000285	1-磷脂酰肌醇-3-磷酸 5-激酶活性 1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase activity	8	2.32×10^{-5}
	GO:0004672	蛋白激酶活性 Protein kinase activity	323	2.60×10^{-5}
	GO:0004373	糖原(淀粉)合酶活性 Glycogen (starch) synthase activity	8	6.05×10^{-5}
	GO:0016161	β -淀粉酶活性 Beta-amylase activity	10	6.41×10^{-5}
	GO:0016160	淀粉酶活性 Amylase activity	12	7.81×10^{-5}
BP	GO:0042273	核糖体大亚基生物合成 Ribosomal large subunit biogenesis	44	2.05×10^{-7}
	GO:0009735	细胞分裂素反应 Response to cytokinin	20	1.86×10^{-6}
	GO:0016310	磷酸化 Phosphorylation	491	1.86×10^{-6}
	GO:0032787	一元羧酸代谢过程 Monocarboxylic acid metabolic process	118	2.36×10^{-6}
	GO:0042255	核糖体组装 Ribosome assembly	32	2.64×10^{-6}
	GO:0006412	翻译 Translation	246	3.17×10^{-6}
	GO:0006796	含磷化合物代谢过程 Phosphate-containing compound metabolic process	663	4.08×10^{-6}
	GO:0006793	磷代谢过程 Phosphorus metabolic process	668	4.90×10^{-6}
	GO:0043604	酰胺生物合成过程 Amide biosynthetic process	267	7.05×10^{-6}
	GO:0043043	肽生物合成过程 Peptide biosynthetic process	246	9.15×10^{-6}

2.5 KEGG Pathway 显著性代谢通路分析

经过对‘HY 157’在盐胁迫下的差异表达基因进行KEGG分析,共计识别了120条相关的代谢通路(图1和图2)。其中,HY157_CK vs HY157_S₁处理组涵盖了119条通路,而HY157_CK vs HY157_S₂处理组则涉及了全部的120条通路。为了更直观地展示这些通路的富集程度,特别选取了富集程度最高的前20条通路进行了散点图的绘制。设定FDR≤0.05,HY157_CK vs HY157_S₁处理组显著富集的代谢通路数量缩减至8条,主要有:光合作用生物体中的碳固定(ko00710)、糖酵解/糖异生(ko00010)、淀粉和蔗糖代谢(ko00500)、苯丙烷类生物合成(ko00940)、倍半萜类和三萜类生物合成(ko00909)、磷酸戊糖途径(ko00030)、乙醛酸和二元羧酸代谢(ko00630)以及亚油酸代谢(ko00591),均属于代谢途径大类(图1(a));HY157_CK vs HY157_S₂处理组则分析到11条,主要有淀粉和蔗糖代谢、光合作用(ko00195)、糖酵解/糖异生、光合作用生物体中的碳固定、光合作用-天线蛋白(ko00196)、磷酸戊糖途径、乙醛酸和二元羧酸代谢、丙酮酸代谢(ko00620)、苯并恶唑类生物合成(ko00402)、核糖体(ko03010)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(ko00250)属于生物合成和代谢大类

(图3(b))。在盐胁迫条件下,‘XY 335’的差异基因富集到了120条代谢通路。XY335_CK与XY335_S₁之间的比较揭示了70条受影响的通路,而XY335_CK与XY335_S₂之间的比较则涵盖了全部的120条通路。为了深入理解这些通路的富集程度,选择了富集效果最为显著的20条通路,并绘制了相应的散点图。分析结果显示,在FDR阈值下,XY335_CK与XY335_S₁间的比较仅显著富集了8条代谢通路,主要有:内质网中的蛋白质加工(ko04141)、精氨酸和脯氨酸代谢(ko00330)、类胡萝卜素生物合成(ko00906)、ABC转运蛋白(ko02010)、苯并恶唑类生物合成(ko00402)、单萜类生物合成(ko00902)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、亚油酸代谢,涉及到了细胞内蛋白质加工、氨基酸代谢、生物合成以及转运蛋白等(图2(a));XY335_CKvsXY335_S₂处理组则分析到10条,主要有核糖体、淀粉和蔗糖代谢、错配修复(ko03430)、糖酵解/糖异生、果糖和甘露糖代谢(ko00051)、磷酸戊糖途径、亚油酸代谢丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、苯并恶唑类生物合成、肌醇磷酸代谢(ko00562),涉及到蛋白质合成、能量代谢、糖类代谢、脂肪酸代谢以及信号转导(图2(b))。

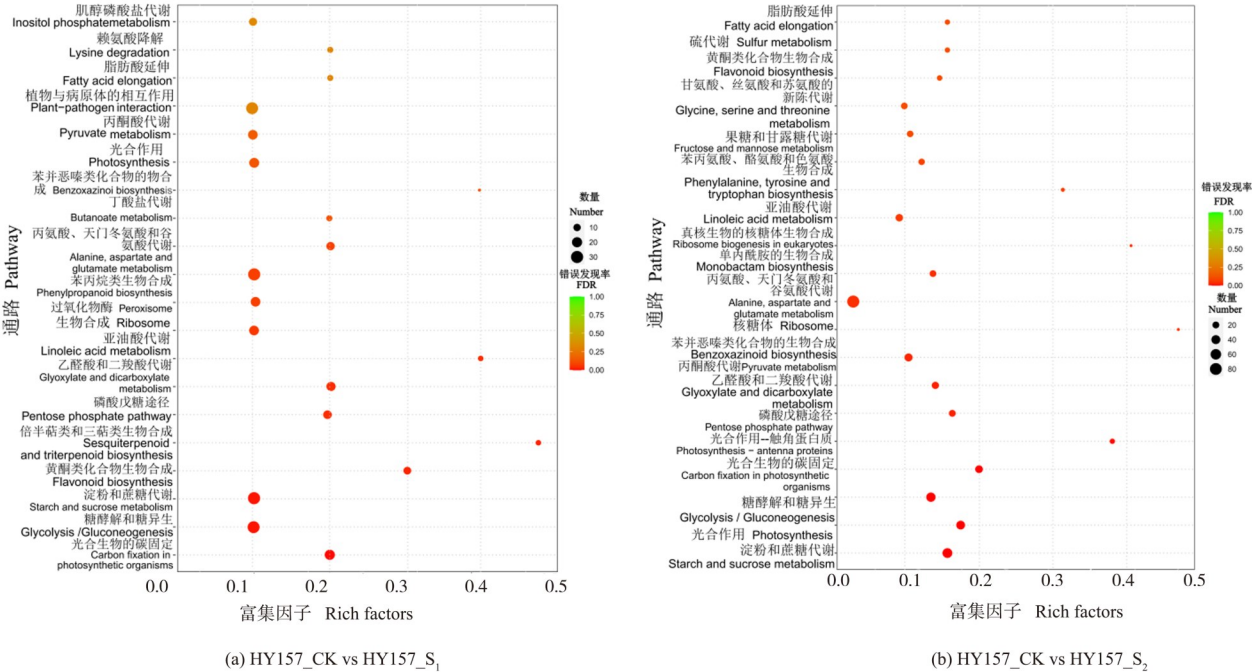


图1 ‘禾育157’在盐胁迫下的差异基因KEGG分析气泡图

Fig. 1 Differential gene KEGG analysis bubble plot of ‘HY 157’ under salt stress

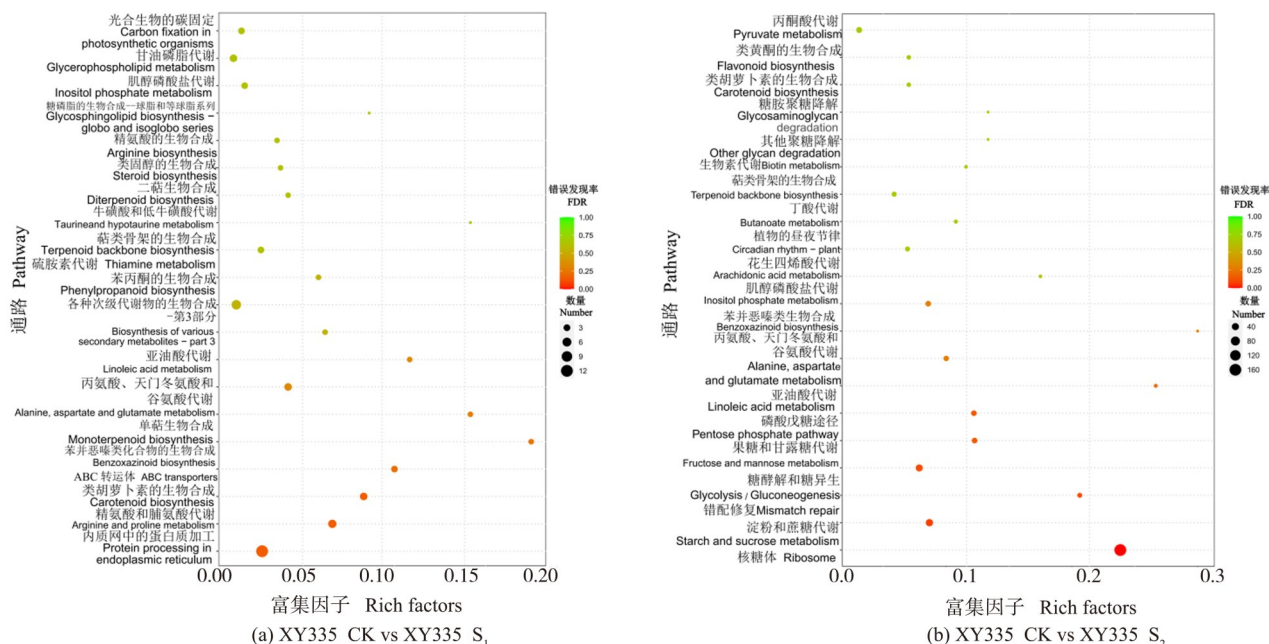


图 2 ‘先玉 335’在盐胁迫下的差异基因 KEGG 分析气泡图

Fig. 2 Differential gene KEGG analysis bubble plot of ‘XY 335’ under salt stress

2.6 盐胁迫对苯丙烷类生物合成途径的影响

由图 3 可知,苯丙烷类生物合成途径中共有 8 个 DEGs, 在 XY335_CK vs XY335_S1 处理中, *Zm00001eb318150*、*Zm00001eb330540* 基因在不耐盐品种中特异上调;HY157_CK vs HY157_S2 处理中, *Zm00001eb368900*、*Zm00001eb124150*、*Zm00001eb225230*、*Zm00001eb411680*、*Zm00001eb264870* 在耐盐品种中特异上调。而在 HY157_CK vs HY157_S1 和 XY335_CK vs XY335_S2 处理中, *Zm00001eb264870*、*Zm00001eb318150*、*Zm00001eb330540* 特异性下调。综上,苯丙烷类生物合成途径的 *Zm00001eb264870*、*Zm00001eb318150* 和 *Zm00001eb330540* 差异表达基因可能通过生理代谢过程响应盐胁迫。

2.7 转录因子分析

由表 9 可知,在玉米苗期盐胁迫条件下的转录组测序数据中初步确定的 56 个家族 3 314 个转录因子中, HY157_CK vs HY157_S1 中共识别出 238 个转录因子,其中 142 个呈现上调表达,96 个呈现下调表达。这些转录因子主要归属于 AP2、C2H2、C3H、GATA、GRAS、HD-ZIP、HSF、LBD、MYB、NAC、TCP、VOZ、WRKY 等多个家族。在 HY157_CK vs HY157_S2 中,转录因子数量增加至 274 个,其中 146 个上调,128 个下调,这些转录因子主要分布于 AP2、B3、bHLH、bZIP、C2H2、C3H、Dof、ERF、GATA、GRAS、HD-

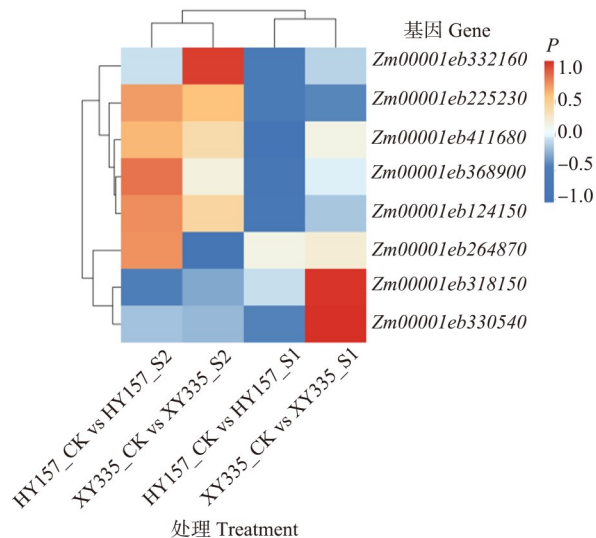


图 3 差异表达基因的表达量热图

Fig. 3 Heat map of expression of differentially expressed genes

ZIP、HSF、MYB、NAC、TCP、VOZ、WRKY 等家族。

XY335_CK vs XY335_S1 组发现了 60 个转录因子,其中 27 个上调,33 个下调,这些转录因子主要属于 ARF、B3、bHLH、bZIP、C3H、ERF、GRAS、GRF、MYB、NAC、SBP、TCP、WRKY 等家族。而在 XY335_CK vs XY335_S2 组中,差异转录因子数量显著增多,达到 325 个,其中 143 个上调,182 个下调,这些差异转录因子主要集中在 MYB、C2H2、AP2、NAC、bHLH、bZIP、WRKY 等家族。

表9 差异转录因子及分类

Table 9 Differential transcription factors and classification

处理组 Treatment	上调 Up-regulated	下调 Down-regulated	总计 Total	转录因子家族 Transcription factor family
HY157_CK_vs_HY157_S ₁	142	96	238	AP2、bHLH、bZIP、C2H2、C3H、Dof、ERF、GATA、GRAS、HD-ZIP、HSF、LBD、MYB、NAC、TCP、VOZ、WRKY
HY157_CK_vs_HY157_S ₂	146	128	274	AP2、B3、bHLH、bZIP、C2H2、C3H、Dof、ERF、GATA、GRAS、HD-ZIP、HSF、MYB、NAC、TCP、VOZ、WRKY
XY335_CK_vs_XY335_S ₁	27	33	60	ARF、B3、bHLH、bZIP、C3H、ERF、GRAS、GRF、MYB、NAC、SBP、TCP、WRKY
XY335_CK_vs_XY335_S ₂	143	182	325	bHLH、bZIP、C2H2、E2F/DP、ERF、GATA、GRAS、HD-ZIP、HSF、MIKC、MADS、MYB、NAC、SBP、TCP、VOZ、WRKY

2.8 荧光定量PCR验证

筛选8个玉米幼苗在不同盐胁迫下与苯丙烷类生物合成途径相关的DEG,进行qRT-PCR验证(图4)。结果表明,这些基因的相对表达量变化趋势与转录组测序结果基本一致,说明转录组数据结果可靠。

3 讨论

植物应答盐胁迫时,通过调节离子平衡、增强抗氧化能力、调整基因表达和表观遗传调控等多方面的复杂过程维持正常生理功能^[28]。盐胁迫对玉米的新陈代谢造成负面影响,进而抑制其正常的生长发育^[29]。刘宸铭等^[30]的研究已证实,盐胁迫处理下玉米的株高、根长和干重均出现显著减少。本研究结果也发现,随着NaCl浓度的升高,玉米苗期植株的株高、根长以及干重等关键生长指标均呈现显著降低($P<0.05$),但‘HY 157’的株高、根长等指标的下降程度显著低于‘XY 335’,表明‘XY 335’的各项生理指标受盐胁迫影响较大。

在盐胁迫条件下,植物通过其独特的感知和传导机制,对盐胁迫信号作出响应,并据此调节相关基因的表达以应对这种胁迫^[31]。本研究对2种不同耐盐性的玉米苗期叶片进行了生理指标测定。结果表明,盐处理显著抑制了玉米的生长发育。通过DESeq进行差异基因分析发现,盐胁迫处理下‘XY 335’上调表达的基因数量显著少于下调表达的基因数量,‘HY 157’下调表达的基因数量略占多数,且‘XY 335’的DEGs数量显著大于‘HY 157’,表明

两品种应对盐胁迫时基因表达模式不同。张小红等^[32]同样发现,在盐胁迫下,不耐盐品种的差异基因多于耐盐品种,且多为下调表达的差异基因。朱永兴等^[33]用200 mmol/L NaCl溶液处理14 d后发现,‘S 420’‘S 388’玉米种质材料的耐盐性均较好,其中‘S 388’差异基因参与了离子转运途径、逆境信号传导以及离子跨膜运输等关键代谢途径的调控。本研究以玉米品种‘HY 157’和‘XY 335’为材料,利用转录组测序技术探究盐胁迫处理下不同品种玉米的调控机制,对DEG进行GO富集和KEGG通路分析发现,在HY157_CK vs HY157_S1和HY157_CK vs HY157_S2处理组中,细胞结构、催化活性和代谢过程这3个分类项在基因表达上呈现出了最高的富集程度,同时也参与了淀粉和蔗糖代谢、苯丙烷类生物合成、磷酸戊糖途径、植物激素信号转导以及离子跨膜运输等代谢途径,与董菁等^[34]研究结果一致。

苯丙烷类物质在植物界广泛存在,且其作为众多植物次生代谢产物的源头,主要来源于苯丙烷类生物合成途径^[35]。穆红梅等^[36]研究揭示,苯丙烷类物质与植物的生长发育以及对逆境胁迫的响应紧密相连,在深入探索苯丙烷类生物合成途径时,注意到肉桂脱氢酶和过氧化物酶在此途径中扮演了关键角色,它们是植物木质素合成不可或缺的酶类。此外, β -葡萄糖苷酶作为纤维素酶系统的重要组分,玉米胚芽在应对盐胁迫时,可能与纤维素的分解和木质素的合成过程存在密切联系^[37]。Li等^[38]揭示糖基化在植物细胞壁木质素合成调控中

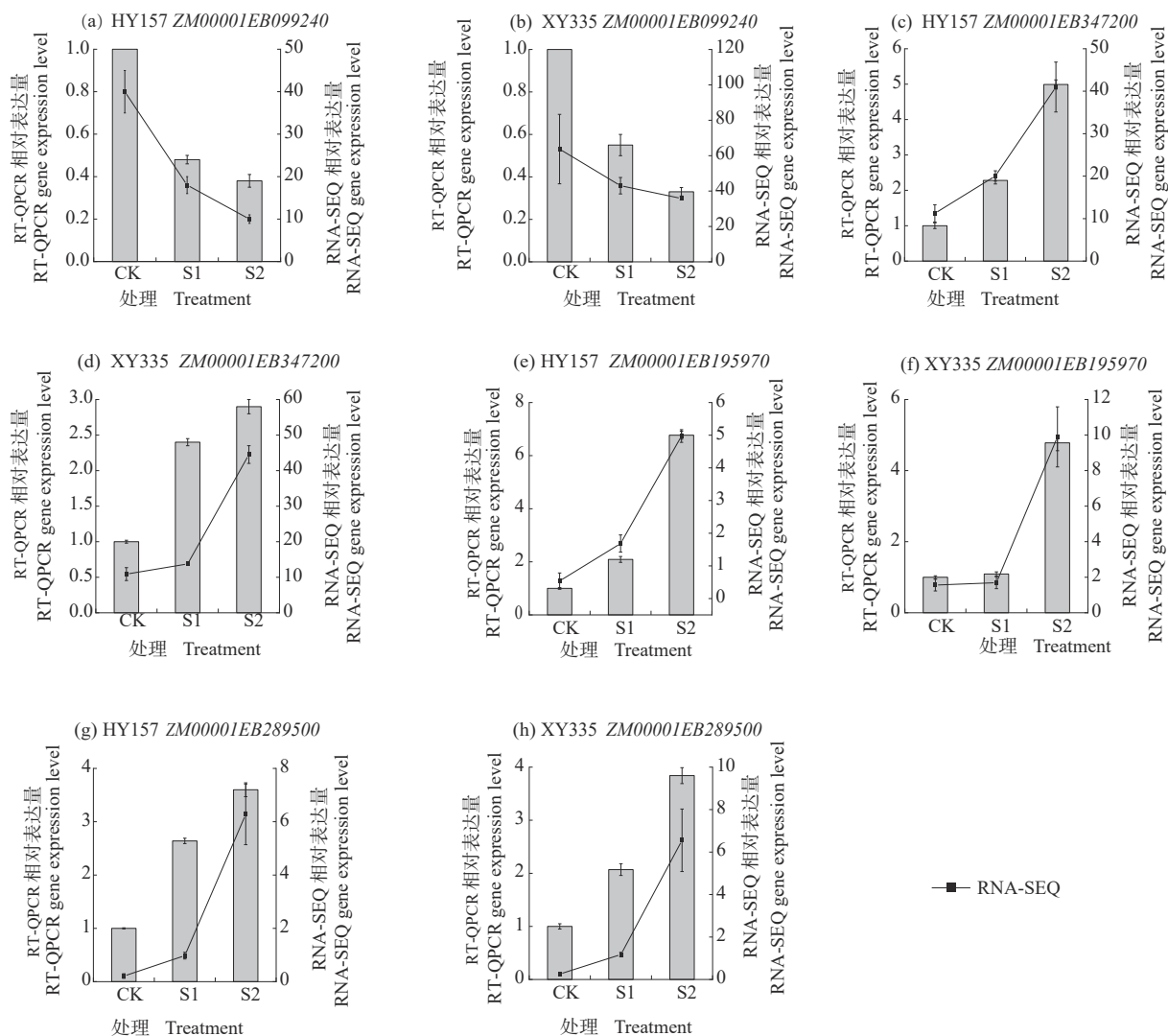


图4 差异基因qRT-PCR验证

Fig. 4 Differential gene qRT-PCR validation

的潜在重要性。在这一过程中,糖基转移酶扮演着核心角色,它通过催化糖基化反应,调控木质素前体的水溶性,从而影响木质素在细胞内的分布,这些变化可能进而影响木质素的合成过程^[39]。本研究结果表明,苯丙烷类生物合成途径中某些基因的显著富集可能是导致这一差异的关键因素,这些富集基因的特异性表达模式可能对2个玉米品种的耐盐能力产生影响。糖代谢途径为植物在盐胁迫条件下的有机渗透调节和主动吸收等生理过程提供了能量支持^[40]。此外,ABC转运蛋白负责转运离子、氨基酸以及小分子代谢中间产物等重要渗透调节物质,对植物适应盐胁迫环境具有重要意义^[41]。本研究结果表明,‘HY 157’在应对盐碱胁迫时,调

节糖代谢、蛋白质合成与功能以及渗透调节机制等,而‘XY 335’响应机制则更侧重于蛋白质以及苯丙烷类化合物的合成过程。这些机制共同构成了2个玉米品种适应盐胁迫环境的生物学基础。已有研究中提到,转录因子 MYB^[42]、AP2/ERF^[43]、C3H^[44]、WRKY^[45]、NAC^[46]和 C2H2^[47]能够通过下游基因的调控作用响应盐胁迫,在植物抵御盐胁迫过程中发挥着不可替代的作用。本研究结果表明,‘HY 157’在盐胁迫处理下上调的转录因子主要集中于 MYB、C2H2、AP2、NAC、bHLH、bZIP 以及 WRKY 等多个家族,参与了蛋白质合成以及跨膜转运代谢等途径。今后可进一步挖掘 MYB 转录因子的耐盐调控机理。

4 结 论

在 120(S₁)、240 mmol/L NaCl(S₂)胁迫处理下,玉米品种‘HY 157’表现出比‘XY 335’更强的抗逆性,并且其差异表达基因在植物激素信号转导、淀粉与蔗糖代谢以及苯丙烷生物合成等通路上富集。上调转录因子主要分布在 MYB、C2H2、AP2、NAC、bHLH、bZIP 和 WRKY 等家族。综上,在 120 和 240 mmol/L NaCl 的胁迫条件下,‘HY 157’的 DEGs 以及显著上调表达的转录因子,主要通过调控渗透调节、离子平衡、抗氧化防御等多种适应性反应,从而使玉米幼苗的耐盐性显著提升。

参考文献 References

- [1] 杜文慧. 玉米盐胁迫转录组分析及 *ZmERF98* 基因响应盐胁迫的功能与调控机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2023
Du W H. Transcriptome analysis of maize under salt stress and the function and regulation mechanism of *ZmERF98* gene in response to salt stress[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2023(in Chinese)
- [2] 刘靖文. 世界主要玉米生产国生产与出口潜力研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2023
Liu J W. Study on the production and export potential of major corn producing countries in the world [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023(in Chinese)
- [3] 郭晓丽. 不同小麦品系的抗盐性鉴定[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(6): 1012-1014
Guo X L. Identification for salt tolerance of different wheat varieties[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2017, 56(6): 1012-1014(in Chinese)
- [4] 段海霞, 师茜, 康生萍, 苟海青, 罗崇亮, 熊友才. 丛枝菌根真菌和根瘤菌与植物共生研究进展[J]. 草业学报, 2024, 33(5): 166-182
Duan H X, Shi X, Kang S P, Gou H Q, Luo C L, Xiong Y C. Advances in research on the interactions among arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, and plants[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2024, 33(5): 166-182(in Chinese)
- [5] Wu J X, Nadeem M, Galagedara L, Thomas R, Cheema M. Effects of chilling stress on morphological, physiological, and biochemical attributes of silage corn genotypes during seedling establishment[J/OL]. *Plants*, (2022-04-29) DOI: 10.3390/plants11091217
- [6] Acosta-Motos J, Ortuño M, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco M, Hernandez J. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms [J/OL]. *Agronomy*, (2017-02-23). DOI: 10.3390/agronomy7010018
- [7] Qadir M, Schubert S. Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils[J]. *Land Degradation & Development*, 2002, 13(4): 275-294
- [8] Hasle N, Cooke A, Srivatsan S, Huang H, Stephany J J, Krieger Z, Jackson D, Tang W L, Pendyala S, Monnat R J Jr, Trapnell C, Hatch E M, Fowler D M. High-throughput, microscope-based sorting to dissect cellular heterogeneity [J/OL]. *Molecular Systems Biology*, (2020-06-01). DOI: 10.15252/msb.20209442
- [9] 邓肖, 徐学欣, 孙芹, 张玉璐, 朱紫鑫, 郝天佳, 高国龙, 贺小彦, 王秀琳, 赵长星. 不同盐浓度胁迫下冬小麦幼苗光合特性及转录组分析[J]. 植物生理学报, 2023, 59(9): 1819-1829
Deng X, Xu X X, Sun Q, Zhang Y L, Zhu Z X, Hao T J, Gao G L, He X Y, Wang X L, Zhao C X. Photosynthetic characteristics and transcriptome analysis of winter wheat seedlings under different salt concentrations[J]. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(9): 1819-1829 (in Chinese)
- [10] 韩金龙, 徐立华, 徐相波, 王同燕, 周柱华, 邢燕菊, 丁一. 盐胁迫下不同玉米品种在苗期叶片和根中 Na⁺、K⁺、Ca²⁺及脯氨酸含量变化的研究[J]. 作物杂志, 2010(1): 49-52
Han J L, Xu L H, Xu X B, Wang T Y, Zhou Z H, Xing Y J, Ding Y. Changes of Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and proline contents in leaf and root of different maize hybrids under salt stress at seedling stage[J]. *Journal of Crops*, 2010(1): 49-52(in Chinese)
- [11] Hao L D, Shi S B, Guo H B, Li M, Hu P, Wei Y D, Feng Y F. Genome-wide identification and expression profiles of ERF subfamily transcription factors in *Zea mays*[J/OL]. *Peer Journal*, (2020-07-17). DOI: 10.7717/peerj.9551
- [12] 方鹏. 苗期2份不同耐盐玉米自交系差异分析及生物学特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018
Fang P. Difference analysis and biological characteristics of two maize inbred lines with different salt tolerance at seedling stage [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018(in Chinese)
- [13] Kim J, Kim H Y. Functional analysis of a calcium-binding transcription factor involved in plant salt stress signaling[J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(22): 5251-5256
- [14] Bo C, Chen H W, Luo G W, Li W, Zhang X G, Ma Q, Cheng B J, Cai R H. Maize WRKY114 gene negatively regulates salt-stress tolerance in transgenic rice[J]. *Plant Cell Reports*, 2020, 39(1): 135-148
- [15] 陈新兵. 水稻转录因子 OsDof15 和矮秆突变体 D814 的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017
Chen X B. Studies on transcription factor OsDof15 and dwarf mutant D814 [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation, 2017(in Chinese)
- [16] Qin H, Wang J, Chen X B, Wang F F, Peng P, Zhou Y, Miao Y C, Zhang Y Q, Gao Y D, Qi Y D, Zhou J H, Huang R F. Rice OsDOF15 contributes to ethylene-inhibited primary root elongation under salt stress[J]. *The New Phytologist*, 2019, 223(2): 798-813
- [17] Zhang H J, Mao L L, Xin M, Xing H X, Zhang Y N, Wu J, Xu D L, Wang Y M, Shang Y Q, Wei L M, Cui M S, Zhuang T, Sun X Z, Song X L. Overexpression of *GhABF3* increases cotton (*Gossypium hirsutum* L.) tolerance to salt and drought[J/OL]. *BMC Plant Biology*, (2022-06-29). DOI: 10.1186/S12870-022-03705-7
- [18] Li M, Chen R, Jiang Q Y, Sun X J, Zhang H, Hu Z. GmNAC06, a NAC domain transcription factor enhances salt stress tolerance in soybean [J]. *Plant Molecular Biology*, 2021, 105(3): 333-345
- [19] 丁文雅, 邹小撑, 刘敏娜, 王军君, 林咸永. 不同营养液配方对雾培生菜生物量和营养品质的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2012, 38(02): 175-184
Ding W Y, Wu X C, Liu M N, Wang J J, Lin X Y. Effects of different hydroponic nutrient solutions on biomass production and nutritional quality of aeroponically grown lettuce [J]. *Journal of Zhejiang University: Agricultural and Life Sciences*, 2012, 38(2): 175-184 (in Chinese)
- [20] Ewels P, Magnusson M, Lundin S, Källér M. MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report [J].

- Bioinformatics*, 2016, 32(19): 3047-3048
- [21] Kim D, Paggi J M, Park C, Bennett C, Salzberg S L. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8): 907-915
- [22] Liao Y, Smyth G K, Shi W. Feature counts: An efficient general-purpose program for assigning sequence reads to genomic features [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(7): 923-930
- [23] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. [J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 550
- [24] Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing [J]. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology*, 1995, 57(1): 289-300
- [25] Benjamini Y, Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency [J]. *Annals of Statistics*, 2001, 29(4): 1165-1188
- [26] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method [J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101-1108
- [27] 汪月宁, 代红军, 贺琰, 魏强, 郭学良, 刘妍, 殷梦婷, 王振平. 基于转录组分析油菜素内酯对高温胁迫下酿酒葡萄花色苷合成及果实品质的调控机制 [J]. *中国农业科学*, 2023, 56(6): 1139-1153
- Wang Y N, Dai H J, He Y, Wei Q, Guo X L, Liu Y, Yin M T, Wang Z P. Regulation mechanism of brassinolide on anthocyanins synthesis and fruit quality in wine grapes under high temperature stress based on transcriptome analysis [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(6): 1139-1153(in Chinese)
- [28] 王雷, 郭岩, 杨淑华. 非生物胁迫与环境适应性育种的现状及对策 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2021, 51(10): 1424-1434
- Wang L, Guo Y, Yang S H. Designed breeding for adaptation of crops to environmental abiotic stresses [J]. *Scientia Sinica: Vitae*, 2021, 51(10): 1424-1434(in Chinese)
- [29] 许睿, 祝英方. 中介体复合物在植物非生物胁迫应答中的功能 [J]. *生物技术通报*, 2023, 39(11): 54-60
- Xu R, Zhu Y F. The key roles of mediator complex in plant responses to abiotic stress [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(11): 54-60 (in Chinese)
- [30] 刘宸铭, 赵克勇, 悦曼芳, 赵延明, 吴忠义, 张春. 玉米转录因子 ZmEREB180 调控根系生长发育及耐逆的功能研究 [J/OL]. *作物学报*, (2024-04-19). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20240417.1735.006.html>
- Liu C M, Zhao K Y, Yue M F, Zhao Y M, Wu Z Y, Zhang C. Functional study of maize transcription factor ZmEREB180 in regulating root growth, development and stress tolerance [J/OL]. *Journal of Crops*, (2024-04-19). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.s.20240417.1735.006.html>(in Chinese)
- [31] Singh M, Singh V P, Prasad S M. Responses of photosynthesis, nitrogen and proline metabolism to salinity stress in *Solanum lycopersicum* under different levels of nitrogen supplementation [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 109: 72-83
- [32] 张小红, 彭琼, 鄯铮. 盐胁迫下不同甘薯品种的转录组测序分析 [J]. *作物学报*, 2023, 49(5): 1432-1444
- Zhang X H, Peng Q, Yan Z. Transcriptome sequencing analysis of different sweet potato varieties under salt stress [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(5): 1432-1444(in Chinese)
- [33] 朱永兴, 关雅静, 李新, 张春义. 盐胁迫下玉米离子变化及转录组分析 [J]. *中国农学通报*, 2021, 37(24): 110-115
- Zhu Y X, Guan Y J, Li X, Zhang C Y. Ion changes and transcriptome analysis of maize under salt stress [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(24): 110-115(in Chinese)
- [34] 董菁, 张春宵, 刘学岩, 金峰学, 刘文平, 吴委林, 李晓辉. 玉米苗期根部比较转录组分析揭示耐盐性差异机制 [J]. *玉米科学*, 2023, 31(6): 30-40
- Dong J, Zhang C Y, Liu X Y, Jin F X, Liu W P, Wu W L, Li X H. Comparative transcriptome analysis of maize seedling root reveals the different mechanism of salt tolerance differences [J]. *Journal of Maize Sciences*, 2023, 31(6): 30-40(in Chinese)
- [35] Carlsen S C K, Understrup A, Fomsgaard I S, Mortensen A G, Ravnkov S. Flavonoids in roots of white clover: Interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and a pathogenic fungus [J]. *Plant and Soil*, 2008, 302(1): 33-43
- [36] 穆红梅, 杜秀菊, 张秀省, 张敏, 曹兴. 植物 MYB 转录因子调控苯丙烷类生物合成研究 [J]. *北方园艺*, 2015(24): 171-174
- Mu H M, Du X J, Zhang X S, Zhang M, Cao X. Study on plants MYB transcription factors regulate biological synthesis of phenylpropanoid metabolism [J]. *Northern Horticulture*, 2015(24): 171-174(in Chinese)
- [37] 申晚霞, 王志彬, 薛杨, 赵婉彤, 朱世平, 赵晓春. 柑橘 4CL 基因家族的结构及其功能分析 [J]. *园艺学报*, 2019, 46(6): 1068-1078
- Shen W X, Wang Z B, Xue Y, Zhao W T, Zhu S P, Zhao X C. Characterization of 4-coumarate: CoA ligase (4CL) gene family in Citrus [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(6): 1068-1078(in Chinese)
- [38] Li X J, Yang Y, Yao J L, Chen G X, Li X H, Zhang Q F, Wu C Y. FLEXIBLE CULM 1 encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice. [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(6): 685-697
- [39] 秦丽霞, 张德静, 李龙, 李学宝, 许文亮. 参与植物细胞壁半纤维素木聚糖合成的糖基转移酶 [J]. *植物生理学报*, 2011, 47(9): 831-839
- Qin L X, Zhang D J, Li L, Li X B, Xu W L. Glycosyltransferases involved in biosynthesis in plant cell walls [J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(9): 831-839(in Chinese)
- [40] 郁凯, 霍钰阳, 朱俊俊, 陈兵林, 汤秋香. 盐胁迫下施钾调节棉纤维断裂比强度的糖代谢机制 [J]. *棉花学报*, 2021, 33(1): 22-32
- Yu K, Huo Y Y, Zhu J J, Chen B L, Tang Q X. The mechanism of sucrose metabolism of potassium regulating the cotton fiber strength under salt stress [J]. *Cotton Science*, 2021, 33(1): 22-32(in Chinese)
- [41] 高玉刚. 基于转录组和代谢组联合分析燕麦响应盐碱胁迫的机制研究 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2022
- Gao Y G. Study on the mechanism of oats response to saline-alkali stress based on transcriptome and metabolomics joint analysis [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2022(in Chinese)
- [42] Liao Y, Zou H F, Wang H W, Zhang W K, Ma B, Zhang J S, Chen S Y. Soybean GmMYB76, GmMYB92, and GmMYB177 genes confer stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. [J]. *Cell research*, 2008, 18(10): 1047-1060
- [43] Zhang G Y, Chen M, Li L C, Xu Z S, Chen X P, Guo J M, Ma Y Z. Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(13): 3781-3796
- [44] Seok H Y, Nguyen L V, Park H Y, Tarte V N, Ha J M, Lee S Y, Moon Y H. *Arabidopsis* non-TZF gene AtC3H17 functions as a positive regulator in salt stress response [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 498(4): 954-959

- [45] 蔡荣号, 李尉, 陈浩伟, 罗国伟, 戴浩然, 宋文雷, 伯晨. 异源表达玉米 ZmWRKY114 基因增强拟南芥对盐胁迫的敏感性[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(6): 1040-1047
- Cai R H, Li Y, Chen H W, Luo G W, Dai H R, Song W L, Bo C. The maize ZmWRKY114 gene negatively regulates salt stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2019, 46(6): 1040-1047(in Chinese)
- [46] Liu Q L, Xu K D, Zhao L J, Pan Y Z, Jiang B B, Zhang H Q, Liu G L. Overexpression of a novel chrysanthemum NAC transcription factor gene enhances salt tolerance in tobacco [J]. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(10): 2073-2082
- [47] 苏莹, 甄军波, 张曦, 王玉美, 华金平. 陆地棉转录因子基因 GhC₂H₂ 的克隆与功能分析[J]. 棉花学报, 2016, 28(6): 555-564
- Su Y, Zhen J B, Zhang X, Wang Y M, Hua J P. Cloning and functional analysis of a transcription factor gene GhC₂H₂ in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Cotton Science*, 2016, 28(6): 555-564(in Chinese)
- 责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 李涛, 宁夏大学农学院农艺与种业(作物)专业硕士研究生。参与国家重点研发计划(2021YFD1900603)。曾获得宁夏大学励志奖学金和校级三等奖学金。



通讯作者简介: 刘吉利, 博士, 宁夏大学生态环境学院研究员, 硕士生导师。主要从事盐碱地改良与作物逆境生理生态等方面的教学与研究工作。主持国家自然科学基金3项、国家重点研发计划子课题1项、宁夏重点研发计划项目1项、宁夏自然科学基金2项。登记科技成果6项, 获省部级奖励3项, 授权国家发明专利2项、实用新型专利4项, 参编专著2部, 发表论文30余篇。