

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2024.42023

代谢组和转录组分析籼稻福香占干旱胁迫的分子响应

王颖姮^{1,2} 崔丽丽^{1,2} 蔡秋华^{1,2} 林 强^{1,2} 吴方喜^{1,2} 陈飞鹤^{1,2}
谢鸿光^{1,2} 朱永生^{1,2} 陈丽萍^{1,2} 谢华安^{1,2} 张建福^{1,2,*}

¹ 福建省农业科学院水稻研究所, 福建福州 350019; ² 农业农村部华南杂交水稻种质创新与分子育种重点实验室 / 福州(国家)水稻改良分中心 / 福建省作物分子育种工程实验室 / 福建省水稻分子育种重点实验室 / 福建省作物种质创新与分子育种省部共建国家重点实验室培育基地 / 杂交水稻国家重点实验室华南研究基地 / 水稻国家工程研究中心, 福建福州 350003

摘 要: 干旱是影响农业生产最重要的原因之一。本研究以优质香稻福香占为材料, 对其苗期干旱响应的生理指标、激素代谢物及基因表达调控网络进行分析。干旱处理后, 福香占干旱存活率、抗氧化酶活性高于恢复系明恢 63、明恢 86 和干旱敏感的丽江新团黑谷, 但电导率较低且过氧化物累积较少。IAA、ICA、ABA、cZ 和 SA 等 5 种激素的代谢物含量上升, tZ、DHZ、GA1、JA 等 11 种激素的代谢物含量下降。6118 个差异表达基因(DGEs)中有 2615 个上调、3503 个下调, 涉及了光合作用、能量代谢、转录调控、氧化还原、离子结合等生物学过程和氨基酸、糖、脂肪酸、激素等合成代谢及植物激素信号转导等相关途径。激素代谢组和转录组学分析同时鉴别出植物激素信号转导、玉米素生物合成、类胡萝卜素生物合成和色氨酸代谢 4 个 KEGG 代谢通路, 并构建了差异表达基因调控网络。转录因子、抗氧化酶基因、渗透调节等相关的 28 个干旱应答关键基因在福香占干旱处理后的表达量均上调。福香占受干旱胁迫后, 激素水平发生了变化; 抗逆应答的基因表达量均上调, 包括转录因子、抗氧化系统基因、渗透调节及其他耐旱基因; 抗氧化酶活性相关生理指标发生改变。研究结果有助于进一步挖掘抗旱基因, 服务水稻抗旱育种。

关键词: 福香占; 抗旱; 生理特性; 激素代谢组; 调控网络

Metabolome and transcriptome analysis reveal molecular response to drought stress in *indica* rice Fuxiangzhan

WANG Ying-Heng^{1,2}, CUI Li-Li^{1,2}, CAI Qiu-Hua^{1,2}, LIN Qiang^{1,2}, WU Fang-Xi^{1,2}, CHEN Fei-He^{1,2}, XIE Hong-Guang^{1,2}, ZHU Yong-Sheng^{1,2}, CHEN Li-Ping^{1,2}, XIE Hua-An^{1,2}, and ZHANG Jian-Fu^{1,2,*}

¹ Rice Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350019, Fujian, China; ² Key Laboratory of Germplasm Innovation and Molecular Breeding of Hybrid Rice for South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Fuzhou Branch, National Rice Improvement Center of China / Fujian Engineering Laboratory of Crop Molecular Breeding / Fujian Key Laboratory of Rice Molecular Breeding / Incubator of National Key Laboratory of Fujian Germplasm Innovation and Molecular Breeding Between Fujian and Ministry of Sciences & Technology / Base of South China, National Key Laboratory of Hybrid Rice / National Rice Engineering Laboratory of China, Fuzhou 350003, Fujian, China

Abstract: Drought is one of the most significant factors affecting agricultural production. In this study, the physiological indexes, hormone metabolites, and gene expression regulation network of drought response were analyzed for the high grain quality fragrant rice Fuxiangzhan. After drought stress, Fuxiangzhan exhibited higher drought survival rates and antioxidant enzyme activity compared to restorer lines Minghui63, Minghui86, and the drought-sensitive line Lijiangxintuanheigu, while showing lower membrane iron leakage and less peroxide accumulation. Five hormone metabolites (IAA, ICA, ABA, cZ, and SA) increased,

本研究由福建省自然科学基金(2022J01451), 福建省人民政府-中国农业科学院协同创新工程“5511”项目(XTCXGC2021001)和福建省财政专项-福建省农业科学院科技创新团队(CXTD2021001)资助。

This study was supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2022J01451), the Collaborative Innovation Project “5511” of Fujian Provincial People’s Government and Chinese Academy of Agricultural Sciences (XTCXGC2021001), and the Science and Technology Innovation Team of Fujian Academy of Agricultural Sciences (CXTD2021001).

* 通信作者(Corresponding author): 张建福, E-mail: jianfzhang@163.com

第一作者联系方式: E-mail: 183016337@qq.com

Received (收稿日期): 2024-05-08; Accepted (接受日期): 2024-08-15; Published online (网络出版日期): 2024-09-02.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20240902.1306.008>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

whereas 11 hormone metabolites, including tZ, DHZ, GA1, and JA, decreased. A total of 6118 differentially expressed genes (DEGs) were identified, including 2615 up-regulated and 3503 down-regulated genes, which are involved in biological processes such as photosynthesis, energy metabolism, transcriptional regulation, REDOX, and ion binding, as well as molecular functions related to amino acids, sugars, fatty acids, hormones, and other anabolic metabolism and plant hormone signal transduction. KEGG pathways involving plant hormone signal transduction, zein biosynthesis, carotenoid biosynthesis, and tryptophan metabolism were identified from hormone metabolites and transcriptome analysis. Differentially expressed gene regulatory networks of the four pathways were constructed. The expression levels of 28 drought response genes related to transcription factors, antioxidant enzymes, and osmotic regulation were all up-regulated after drought stress in Fuxiangzhan. Our conclusion is that the hormone levels in Fuxiangzhan change after drought stress. The expression of anti-stress genes, including transcription factors, antioxidant system genes, osmoregulation, and other drought tolerance genes, were up-regulated. These changes lead to alterations in the activity of antioxidant enzymes and other physiological indexes. These results are helpful for further exploration of drought-resistant genes and serve in rice drought resistance breeding.

Keywords: Fuxiangzhan; drought resistance; physiological properties; hormone metabolome; regulatory network

水稻是全世界最重要的粮食作物之一, 水稻生产中常常面临水资源匮乏问题。近年来, 随着全球气温逐渐升高, 高温、干旱等极端异常气候频发, 给农业生产带来诸多不利影响, 我国每年因干旱损失粮食达上百亿公斤。水资源的日益短缺给我国粮食安全带来严峻挑战。

植物自身进化出多种策略应对干旱, 包括在干旱发生前加速生殖发育从而避开干旱, 增加组织内部含水量防止干旱带来的损伤, 以及在干旱时期保持组织低含水量的耐旱性^[1]。耐旱植物可以通过改变根系的生长和结构从而获取更多的水份, 关闭气孔减少水分散失维持组织含水量, 显著增加体内脯氨酸或可溶性糖含量来增强抗逆性, 提高抗氧化酶活性应对干旱对植物细胞造成的氧化损伤^[2]。过去几十年的研究已经证实, 植物激素脱落酸(ABA)是水分利用的中心调节剂, 直接调节气孔打开和蒸腾作用。ABA 调节植物对缺水的反应并能优化水分的利用, 脱水信号刺激植物不同器官尤其是叶肉细胞产生 ABA^[3], ABA 的积累进一步激活下游信号转导, 在逆境中发挥作用^[4]。ABA 通过 SnRK2 激活多种触发气孔关闭和改善水分平衡的基因, 当根系感知到干旱时, CLE25 肽通过维管束移动到叶片, 控制 ABA 的生物合成和气孔关闭^[5]。小麦中通过过表达 ABA 受体显著增加了 ABA 的敏感性, 并显著降低了植物生命周期内的水分消耗, 在缺水条件下保护了作物产量^[6]。在拟南芥中也通过激活 ABA 受体, 激发了 ABA 调控基因表达, 提高了抗旱性^[7]。通过提高 PYR/PYL/RCAR 和 SnRK2 的功能, 抑制 PP2C 表达, 已在多个作物中提高了水分利用效率^[6-8]。油菜素内酯(Brassinosteroid)通过下游通路组分 BIN2 激活 SnRK2, 使 SnRK2 磷酸化并激活下游信号途径, 在调节植物干旱反应中也发挥了作用。ABA 信号也可

以通过下游转录因子与油菜素内酯途径互作^[9-10], 一起调节植物抗旱能力。

研究表明, 不同水稻品种间耐旱能力有较大差异, 耐旱品种在一定程度上可以减轻干旱所带来的危害^[11-12]。通过分析耐旱品种干旱响应网络, 寻找有助于精细调控干旱响应的基因或激素产物, 进而培育耐旱水稻新品种, 是应对水源短缺、保障粮食生产的一种经济有效的方法^[13]。代谢组学通过对生物小分子代谢物进行定量分析, 迅速与生物表型建立直接相关性。转录组测序(RNA-seq)则能全面快速地获取特定组织在特定条件下的基因表达谱, 是挖掘胁迫抗性基因的重要手段。本研究通过激素代谢组和 RNA-seq, 获得了优质香稻品种福香占^[14]苗期干旱胁迫处理后激素代谢物的变化及转录组信息, 对福香占干旱响应调控网络进行了探讨, 以期进一步挖掘水稻抗旱基因和服务水稻抗旱育种。

1 材料与方法

1.1 水稻材料和处理

取当年收获的籼稻福香占(FXZ)、明恢 63(MH63)、明恢 86(MH86)、丽江新团黑谷(LTH)饱满种子, 室内浸种、催芽后, 播种于花盆营养土中进行培养。人工气候室培养条件为日间温度 28℃, 夜间温度 25℃, 相对湿度 70%, 光照培养 14 h/黑暗培养 10 h, 正常浇水直到幼苗长至三叶一心期。对照组(CK)继续正常浇水, 处理组(drought stress, DS)停止浇灌, 参考丁红等^[15]、陈力等^[16]的方法, 干旱胁迫处理 1 周左右, 植株出现明显萎蔫时取样, 剪取 CK 和 DS 植株叶片, 液氮速冻后置于-80℃冰箱, 用于生理指标测定和 RNA 提取。取样后复水恢复正常培养, 1 周后统计复水存活率。

1.2 生理指标测定

1.2.1 电导率(Conductivity)测定 取对照和干旱处理植株相同部位叶片, 浸入 3 mL 400 mmol L⁻¹ 的甘露醇中, 22℃温和震荡 3 h 后立即测定初始电导率。将叶片煮沸 10 min, 测定总电导率。电导率计算公式为: 电导率=(初始电导率/总电导率)×100%。

1.2.2 抗氧化酶活性测定 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)含量测定分别使用索莱宝公司的相应微量法检测试剂盒(Solarbio, 货号: BC0170, BC0095, BC0205)按说明书操作。取对照和干旱处理植株相同部位叶片各 0.1 g, 加入液氮研磨成粉末后加入 1 mL 提取液, 12,000×g 离心 10 min, 上清液用于测定酶活。分别根据相应试剂盒说明书配制测定管, 利用酶标仪在相应的波长测定吸光度, 并计算出酶活性。

1.2.3 丙二醛和过氧化氢含量测定 丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量测定分别使用索莱宝公司微量法检测试剂盒(Solarbio, 货号: BC0025, BC3595)。按说明书操作, 取对照和干旱处理植株相同部位叶片各 0.1 g, 加入液氮研磨成粉末后加入 1 mL 提取液, 12,000×g 离心 10 min, 将上清液用于测定 MDA 和 H₂O₂ 含量。利用酶标仪在相应的波长范围测定。

1.2.4 NBT 染色 将对照和干旱处理植株相同部位叶片剪下, 浸泡在含 1% nitroblue tetrazolium chloride (NBT)、10 mmol L⁻¹ NaN₃ 的 50 mmol L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0)中, 室温放置 12 h, 出现黑色斑点。用 ddH₂O 洗涤叶片 3 次, 将叶片浸泡在 75%酒精中 24 h 漂洗色素, 使产生的黑色沉淀背景明亮, 清洗后的叶片用于照相^[17]。

1.3 植物激素类目标代谢物分析

参考 Šimura 的方法^[18], 采用一步法提取叶片中的激素代谢物, 并将待测代谢物的标准品配制成分度稀释的校准溶液。使用 Waters ACQUITY I-Class 超高效液相色谱仪对目标化合物进行色谱分离, 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 (100.0 mm × 2.1 mm, 1.8 μm, Waters)。液相色谱 A 相为含 0.1% 甲酸的水溶液, B 相为含 0.1% 甲酸的乙腈。柱温箱温度为 40℃, 样品盘设为 10℃, 进样体积为 5 μL。质谱条件: 使用装备 IonDrive Turbo V ESI 离子源的 SCIEX QTRAP 6500+三重四极杆质谱仪, 以多反应监测(MRM)模式进行质谱分析。离子源参数: Curtain Gas=35 psi, IonSpray Voltage=+5500 V, -4500 V, Temperature=550℃, Ion Source Gas 1=50 psi, Ion

Source Gas 2=55 psi。质谱数据采集及目标化合物定量分析工作, 均通过 SCIEX Analyst Work Station Software (Version 1.7.2)和 Sciex OS 2.0.1 来完成。通过标准曲线计算样品中植物激素物质的绝对定量结果。

1.4 RNA-seq 和数据分析

使用 RNA prep Pure Plant Kit (Tiangen, 北京)提取植物总 RNA, NanoDrop 2000 和 Agilent Bio-analyzer 2100 用于 RNA 定量和鉴定, 质检合格后用于建库和测序, 生成 150 bp 的双末端序列。去除接头序列、低质量序列等得到 clean reads 用于后续分析。通过 Hisat 2 工具软件将有效数据比对到参考基因组^[19]。FPKM 用于基因表达水平的量化, 是通过每千碱基转录本每百万映射的序列数目来估计的。使用 DESeq 2 进行差异表达分析^[20]。使用 Benjamini 和 Hochberg 控制错误发现率的方法得到校正后的 *P* 值。由 DESeq 2 分析的校正后 *P* 值<0.01 和倍数变化≥2 的基因被定义为差异表达。差异表达基因的 GO 富集分析是通过 clusterProfiler 包实现的^[21]。使用 KOBAS 数据库^[22]和 clusterProfiler 软件来分析 KEGG 通路中差异表达基因的富集情况。

1.5 qRT-PCR 分析

实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)反应按照 FastStart Universal SYBR Green Master (ROX) (Roche)试剂盒操作。扩增程序: 95℃ 5 min; 95℃ 15 s, 60℃ 40 s, 35 个循环。内参选择水稻 *actin* 基因, 扩增反应在 Applied Biosystems Q6 (ABI, 美国)上进行, 4 次生物学重复。选取 18 个激素相关代谢通路的差异基因用于 qRT-PCR 分析, 验证福香占干旱前后基因的表达量变化, 并分析福香占和丽江新团黑谷中这些基因的表达差异。引物序列见附表 1。

1.6 数据统计与分析

Microsoft Excel 2021 用于数据整理, 采用 DPS v 7.05 进行数据间多重比较, 作图使用 SigmaPlot 10.0 或 Adobe illustrator 2022 软件。

2 结果与分析

2.1 福香占干旱抗性和生理指标

取常规籼稻福香占, 骨干恢复系明恢 63、明恢 86 和干旱敏感品种丽江新团黑谷, 在三叶一心期对水稻幼苗进行干旱胁迫处理(图 1-A)。干旱处理 1 周, 植株均出现了不同程度萎蔫, 复水 1 周, 统计存活率

(图 1-B)。结果表明, 福香占存活率达 71.9%, 显著高于其他 3 份水稻($P < 0.05$)。干旱处理前, 水稻叶片电

导率值均处于较低水平; 干旱处理后, 叶片电导率值均显著上升, 但福香占的叶片电导率值及上升水平

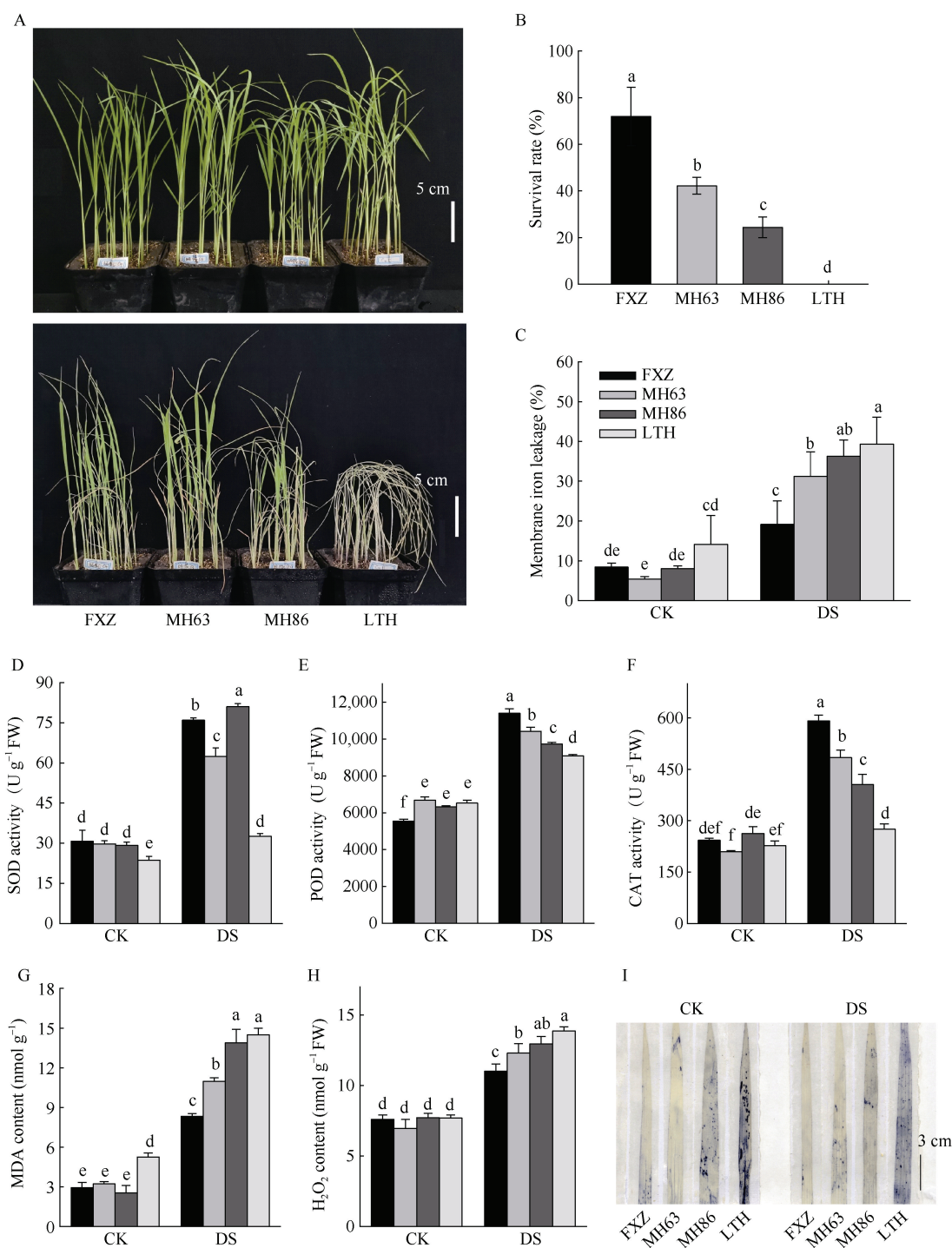


图 1 干旱胁迫处理对 4 份水稻品种的影响

Fig. 1 Effects of drought stress on four rice varieties

A: 干旱胁迫前和复水后植株形态; B: 存活率; C: 电导率; D: 超氧化物歧化酶; E: 过氧化物酶; F: 过氧化氢酶; G: 丙二醛; H: 过氧化氢含量; I: NBT 染色。FXZ: 福香占; MH63: 明恢 63; MH86: 明恢 86; LTH: 丽江新团黑谷; CK: 对照; DS: 干旱处理; 数据均为平均值 $\pm$ 标准差($n = 3$), 不同小写字母表示在 0.05 概率水平差异显著。

A: plants morphology before drought stress and after rehydration; B: survival rate; C: leaf relative electrical conductivity; D: activities of superoxide dismutase; E: peroxidase; F: catalase; G: malondialdehyde concentration; H: hydrogen peroxide; I: NBT staining. FXZ: Fuxiangzhan; MH63: Minghui 63; MH86: Minghui 86; LTH: Lijiangxintuanheigu; CK: control; DS: drought treatment. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$), different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 probability level.

均低于其余品种($P < 0.05$) (图 1-C)。对 SOD、POD 和 CAT 活性进行测定(图 1-D~F), 发现干旱处理后水稻的 3 种抗氧化酶活性都上升; 其中 SOD 活性最高的是明恢 86, 福香占次之, 而 POD 和 CAT 活性最高的均是福香占。干旱胁迫也显著增加了水稻的丙二醛(MDA)和过氧化氢(H_2O_2)的含量(图 1-G, H), 福香占的 MDA 和 H_2O_2 含量显著低于其余品种($P < 0.05$)。采用 NBT 对对照和处理植株相同部位叶片进行染色, 干旱处理后的福香占叶片黑色斑点较少, 其余水稻

品种黑色斑点较多(图 1-I)。上述结果表明, 福香占比明恢 63 和明恢 86 具有更好的干旱耐受性。

2.2 干旱胁迫下激素代谢物分析

植物激素在逆境胁迫响应中发挥着复杂而精密的调控作用。为了解干旱胁迫后福香占激素代谢物的变化, 对福香占 DS 和 CK 处理植株各 3 个生物学重复叶片中的 28 种激素代谢物进行了检测。正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)表明, Q^2Y 值为 0.957 (图 2-A), 表明所采用的模型有效可靠。

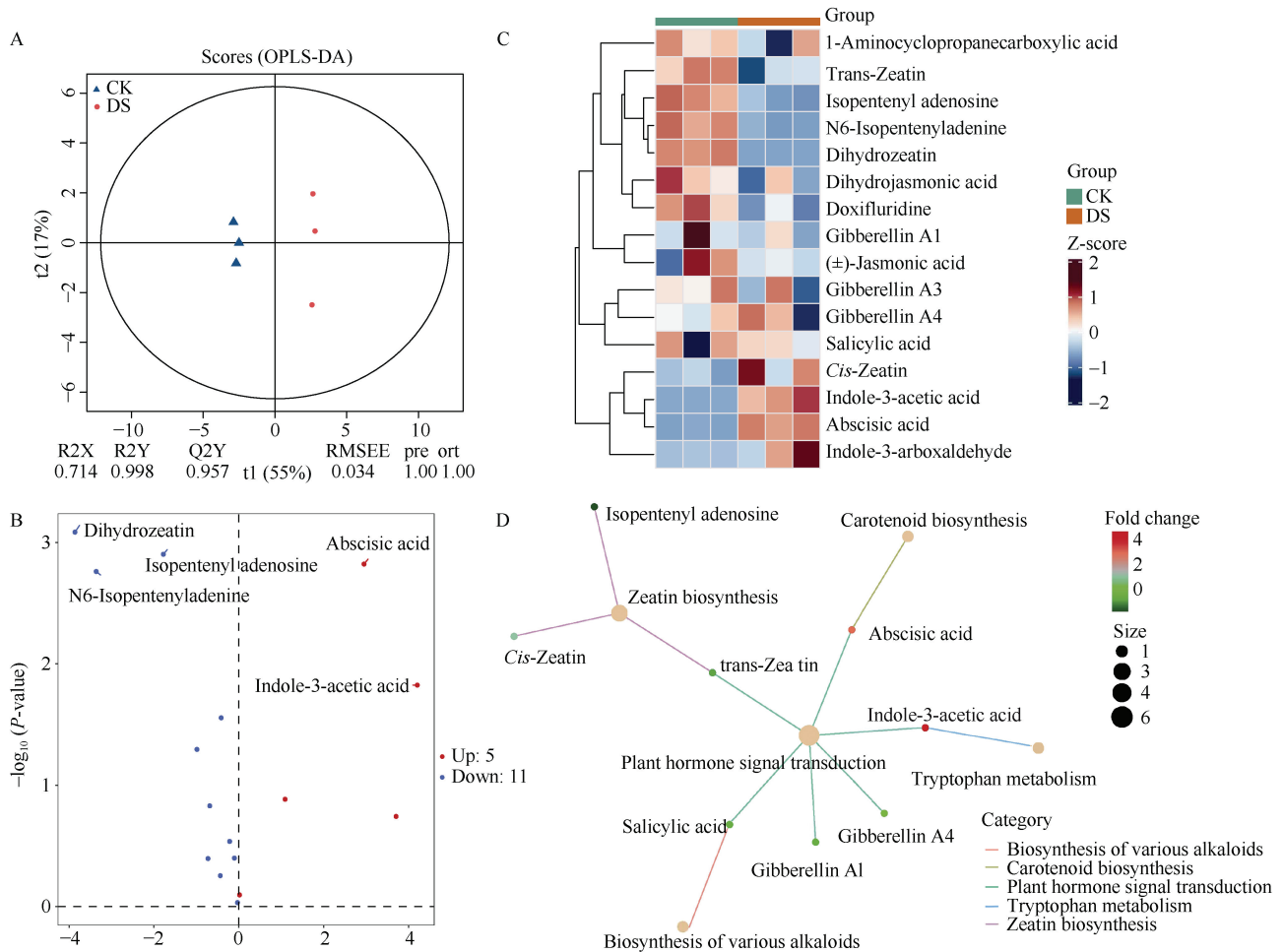


图 2 福香占干旱胁迫处理和正常条件下的激素代谢物分析

Fig. 2 Hormone metabolite analysis of Fuxiangzhan under drought stress and normal conditions

A: OPLS-DA 得分图(x 轴代表组间差异分量, y 轴代表组内差异分量, 图下方标注了模型的参数); B: 差异代谢物火山图(火山图中每个点代表 1 个代谢物, x 轴代表该组对比各物质的倍数变化取 $\log_2$ 的值, y 轴表示 t 检验的 P 值取 $\log_{10}$ 的值); C: 差异代谢聚类热图(x 轴为各样本, y 轴为层次聚类后的代谢物 Z-score 标准化后的定量值, 上方颜色条标注区分了不同组别); D: 差异代谢物 KEGG 富集网络图(淡黄色节点为通路, 与之相连的小节点是注释到该通路的具体代谢物, 颜色的深浅表示差异倍数取 $\log_2$ 的值, 该图显示 5 个通路); CK: 对照; DS: 干旱处理。

A: OPLS-DA score chart (x axis represents the difference between groups, y axis represents the difference within groups, and the parameters of the model are marked below the chart); B: volcano map of differential metabolites (each point in the volcano map represents a metabolite, x axis represents the value of $\log_2$ for the multiple change of each substance in the group, and y axis represents the value of $\log_{10}$ for the P -value of the t -test); C: differential metabolic clustering heat map (x axis is each sample, y axis is the quantitative value of metabolites standardized by Z-score after hierarchical clustering, and the color bar above distinguishes different groups); D: KEGG enrichment network diagram of differential metabolites (light yellow nodes are pathways, and the small nodes connected to them are specific metabolites annotated to this pathway, and the depth of color indicates the fold change value of $\log_2$, which shows five pathways); CK: control; DS: drought treatment.

28 种激素代谢物中, 共检出 16 种代谢物, 其中 5 种上调、11 种下调(图 2-B, C)。上调的激素代谢物有吲哚-3-乙酸(IAA) (无/有)、3-吲哚甲醛(ICA) (FC=13.0)、脱落酸(ABA) (FC=7.7)、顺式玉米素(cZ) (FC=2.1)、水杨酸(SA) (FC=1.1)。下调的激素代谢物主要有 N6-异戊烯基腺嘌呤(iPA) (FC=0.09)、反式玉米素(tZ) (FC=0.5)、二氢玉米素(DHZ) (有/无)、赤霉素 A1 (GA1) (FC=0.6)、氨基环丙烷羧酸(ACC) (FC=0.8)、茉莉酸(JA) (FC=0.7)等。

利用 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库对差异代谢物进行注释, 15 种差异代谢物注释到 6 个代谢通路, 分别为类胡萝卜素生物合成、色氨酸代谢、植物激素信号转导、玉米素生物合成、各种生物碱的生物合成和二萜生物合成(图 2-D)。

2.3 干旱胁迫下差异表达基因(DEGs)分析

RNA-seq 进一步分析福香占的干旱响应基因,

取福香占 DS 和 CK 各3个生物学重复的叶片进行 RNA-seq, 6个样品共获得38.12 Gb Clean data, Q30 碱基百分比在93.44%及以上, 符合测序要求。将 Clean Reads 与水稻参考基因组(MSU_v 7.0)进行比对, 比对率在91.80%~94.23%间, 表明数据质量可靠。DS 样品重复间相关系数值大于0.95, CK 样品重复间相关系数值大于0.85 (图 3-A)。将 Fold Change(FC)≥2且 FDR < 0.01作为 DEGs 筛选标准, 筛选到 DEGs 共6118个, 上调、下调表达基因分别有 2615个和3503个(图3-B, C)。

对所有 DEGs 进行 GO 功能注释, 分别有 11,560、7462 和 7513 个 DEGs 注释到生物学过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF) 3 个类别中。BP 富集的主要为碳水化合物代谢、光合作用、跨膜运输、转录调控和对缺水的反应等; CC 主要为叶绿体、光系统和质体等; 与 MF 相关的主要为 ATP

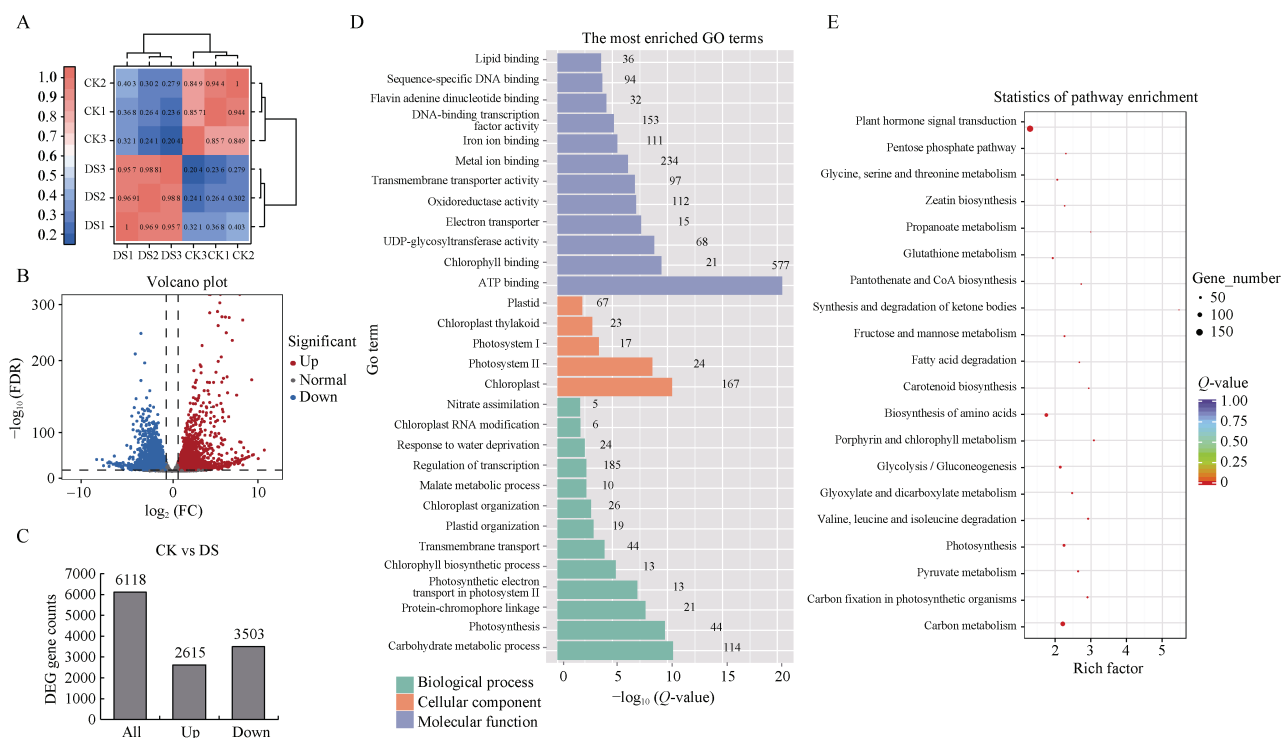


图 3 福香占干旱胁迫处理和正常条件下的转录组分析

Fig. 3 Transcriptome analysis of Fuxiangzhan under drought stress and normal conditions

A: 相关性分析热图; B: 基因火山图; C: 差异表达基因数量; D: 差异基因 GO 富集(纵坐标表示 GO 条目, 横坐标表示 q 值取 $-\log_{10}$ 的值, 数字表示条目标内富集基因的数量); E: 差异基因 KEGG 富集(纵坐标代表显著富集的 KEGG 通路名称, 横坐标代表富集基因的比率, 圆点大小代表通路中富集的基因数, 圆点颜色代表 q 值); CK: 对照; DS: 干旱处理。

A: the heatmap of transcriptome; B: volcano plot of genes; C: the number of differentially expressed genes; D: GO enrichment of DEGs (the vertical axis represents go entries, the horizontal axis represents $-\log_{10}(Q\text{-value})$, and numbers represents the number of enriched genes in the terms); E: KEGG enrichment of DEGs (the vertical axis represents the enriched KEGG pathway, the horizontal axis represents the ratio of enriched genes, the dot size represents the number of enriched genes in the pathway, and the color represents the $Q\text{-value}$); CK: control; DS: drought treatment.

结合、叶绿素结合、氧化还原活性、跨膜转运蛋白活性、离子结合和转录活性等(图 3-D)。说明在干旱胁迫后,福香占在光合作用、能量代谢和转录调控等方面进行了调节以应对植株水分缺失。

通过 KEGG 数据库对 DEGs 的通路注释分析,从代谢途径寻找与目标基因相关的代谢通路。图 3-E 呈现了显著性 q 值最小的前 20 个代谢通路,显著性富集的代谢通路一方面涉及各类物质合成与代谢,如氨基酸、糖、脂肪酸和激素等;另一类则为与环境信息处理相关的植物激素信号转导通路,

共有 180 个差异基因富集到植物激素信号转导代谢通路中。

2.4 福香占干旱响应的激素信号转导基因调控

对激素代谢组和转录组进行联合分析,激素代谢物和基因表达呈现出高度的相关性(图 4-A)。4 个 KEGG 代谢通路是激素代谢组和转录组共有的,分别为植物激素信号转导、玉米素生物合成、类胡萝卜素生物合成和色氨酸代谢(图 4-B)。表明这些植物激素相关代谢通路在福香占干旱响应的过程中发挥了重要作用。

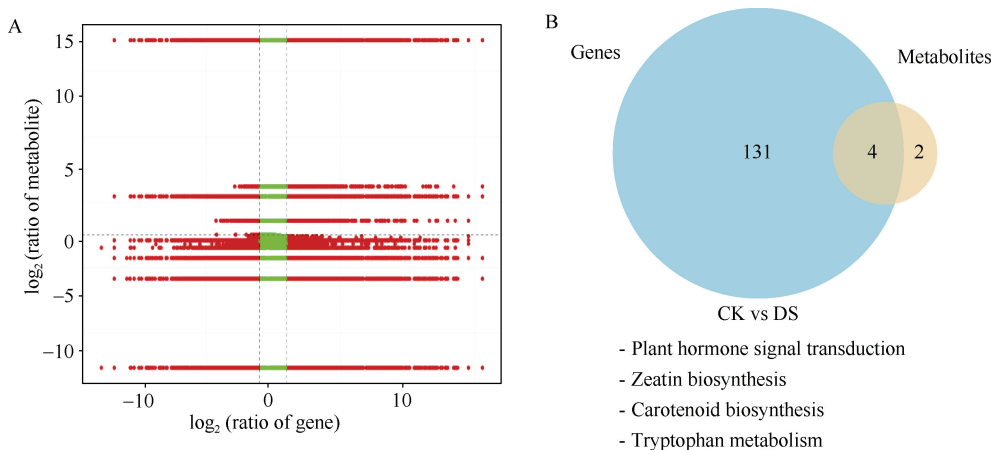


图 4 激素代谢组和转录组相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis of hormone metabolite and transcriptome

A: 激素代谢物和基因表达相关性分析的九象限图; B: 激素代谢组和转录组差异代谢通路韦恩图(列出 4 个共有的代谢通路); CK: 对照; DS: 干旱处理。

A: nine-quadrant diagram illustrating the correlation of hormone metabolites and genes. B: venn diagram showing the number of hormone metabolite and transcriptome pathways significantly changed (followed by a list of the four pathways at both the metabolite and gene levels); CK: control; DS: drought treatment.

4 个共有的 KEGG 代谢通路中,色氨酸代谢、玉米素生物合成、类胡萝卜素生物合成的产物都参与到植物激素信号转导。吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)是植物体内主要的生长素,可以调节茎生长速率,抑制侧芽生长,促进根的生长。依赖色氨酸(Tryptophan, Trp)的 IAA 合成途径主要有 4 条,吲哚乙醛途径(IAOX)、吲哚丙酮酸途径(IPyA)、色胺途径(TAM)和吲哚乙酰胺(IAM)途径。DS 中 IPyA 途径色氨酸转氨酶基因 *OsTAA1* 及 *LOC_Os05g48760* 表达下调($\log_2$ FC 分别为-3.48 和-1.04); 而 YUC 基因家族 *LOC_Os06g10170* 表达上调($\log_2$ FC=4.03), *LOC_Os01g16750*、*LOC_Os04g03980*、*LOC_Os07g25540* 和 *LOC_Os12g32750* 表达下调。TAM 途径催化 Trp 转变成 TAM 的色氨酸脱羧酶基因 *OsTDC3* 表达上调($\log_2$ FC=1.57),但同时 *OsTDC2* 表达下调($\log_2$ FC=-1.46); 吲哚-3-乙醛(IAAld)在脱氢

酶作用下被氧化成 IAA,这一过程多个乙醛脱氢酶基因表达上调(*LOC_Os02g49720*、*LOC_Os11g08300*、*LOC_Os11g43900*、*LOC_Os12g07810* 和 *LOC_Os09g26880*, $\log_2$ FC 分别为 4.01、2.14、1.92、1.52 和 1.77)。IAOX 途径基因未发生差异表达。IAM 途径中,催化 IAM 转化为 IAA 的酰胺酶基因 *LOC_Os11g33090* 表达上调($\log_2$ FC=1.74) (图 5)。最终,IAA 浓度由处理前的未检出,提高到干旱处理后的 61.74 ng mg^{-1} 。IAA 信号转导途径中,生长素转运载体编码基因 *OsAUX1* 和生长素受体编码基因 *OsAFB4* 和 *OsAFB6* 表达均下调,而有 3 个 AUX/IAA 编码基因表达上调(*LOC_Os01g53880*、*LOC_Os02g56120* 和 *LOC_Os07g08460*), 4 个下调(*LOC_Os01g08320*、*LOC_Os01g13030*、*LOC_Os01g48444* 和 *LOC_Os02g57250*)。生长素应答因子编码基因仅 *LOC_Os06g09660* 表达上调, *LOC_Os01g13520*、

LOC_Os01g54990、*LOC_Os02g06910*、*LOC_Os02g35140*、*LOC_Os02g41800*、*LOC_Os04g36054*、*LOC_Os04g43910* 和 *LOC_Os04g56850* 则表达下调。吲哚乙酸氨基化合成酶基因 *LOC_Os01g57610* 表达显著上调, 其作用是催化过量的 IAA 与多种氨基酸结合来维持生长素的体内平衡。SAUR 基因家族 *LOC_Os01g06230* 和 *LOC_Os06g50040* 表达上调, *LOC_Os02g52990*、*LOC_Os09g37394*、*LOC_Os09g37480* 和 *LOC_Os10g36703* 下调(图 5)。

玉米素合成途径中, 异戊烯基转移酶(IPTs)以

ATP、ADP、AMP 为底物进行异戊烯基修饰, 是细胞分裂素(CTK)合成的限速酶, 接着 IPTs 催化合成的 IP 核糖被细胞色素 P450 CYP735A1/CYP735A2 催化转变为 tZ 类型的 CTK。干旱处理后, 福香占中 *OsIPT4* 和 *LOC_Os05g47840* 表达下调, 细胞色素 P450 单加氧酶基因 *CYP734A4* 和 *LOC_Os09g23820* 表达下调; 而 tRNA 途径二甲丙烯基转移酶基因 *TRIT1* 表达也发生下调。代谢物 N6-iPA 和 tZ 含量均下降(FC 分别为 0.09 和 0.50)。CTK 受体基因 *OsHK2/3* 表达上调, 但 *OsHK4* 和 *OsHK5/6* 表达下

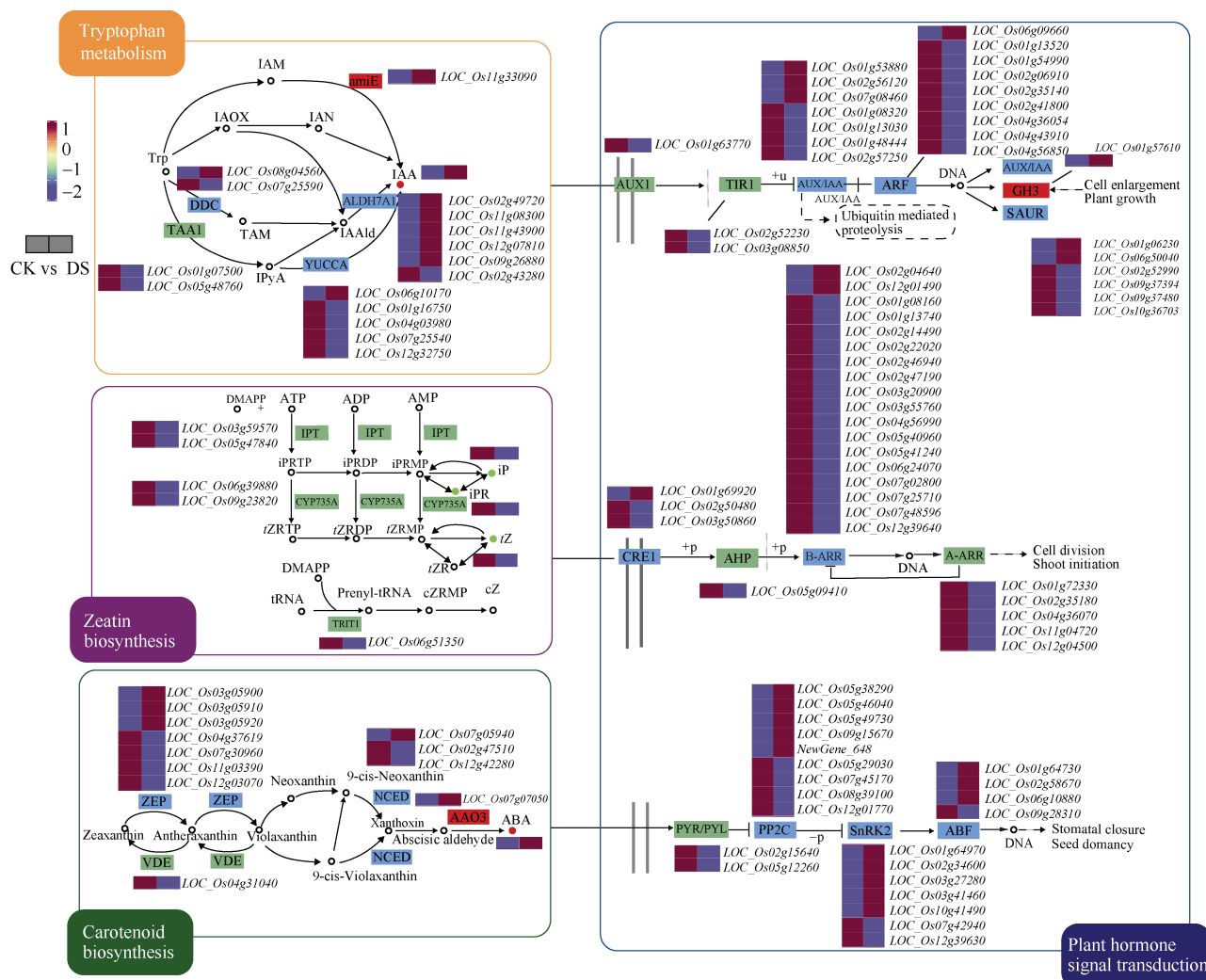


图 5 福香占干旱胁迫后激素合成及信号转导调控

Fig. 5 Hormone biosynthesis and signal transduction regulatory of Fuxiangzhan in response to drought stress

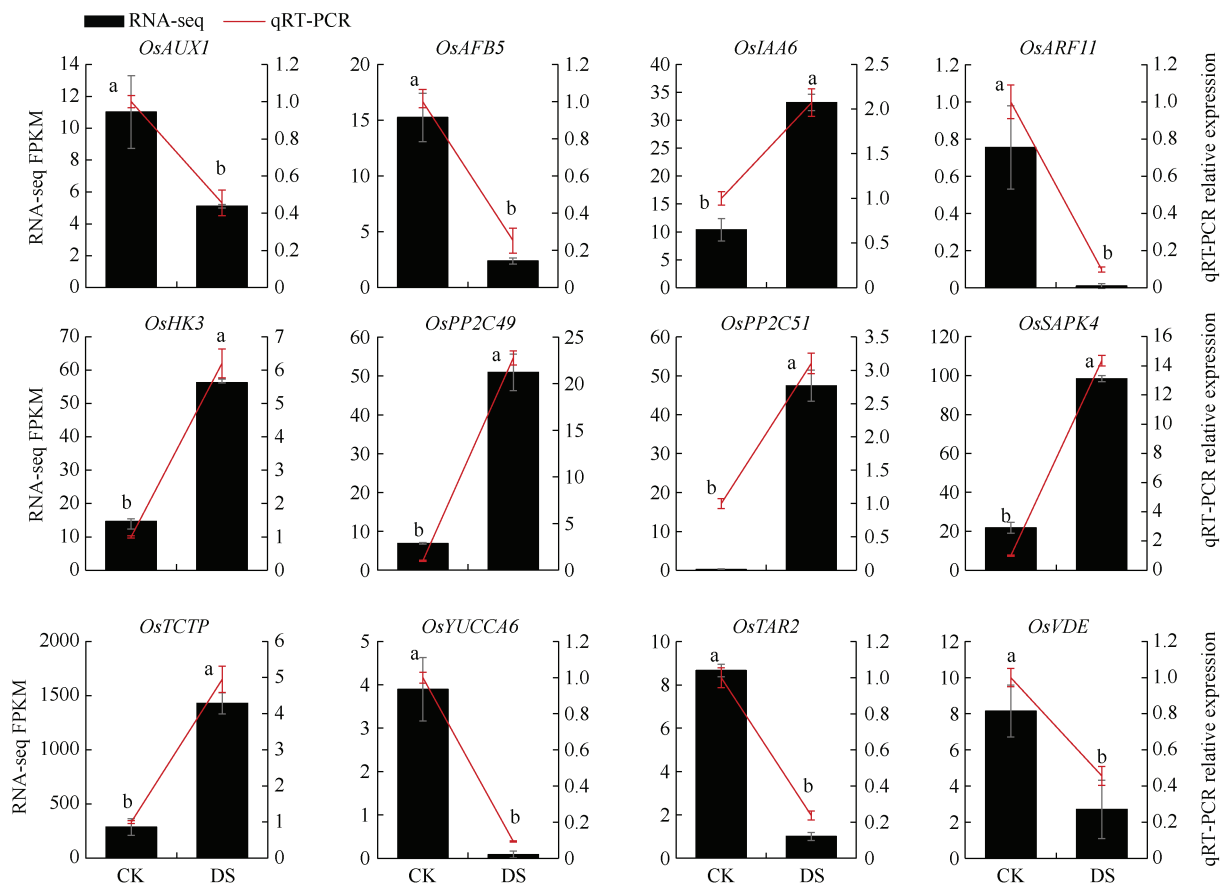
热图中红色表示基因表达上调, 紫色表示下调。小圆圈表示代谢物, 红色表示上调, 绿色下调; 方框表示基因产物, 红色代表上调, 绿色代表下调, 蓝色代表既有上调又有下调。CK: 对照; DS: 干旱处理; TAM: 色胺; IAN: 吲哚-3-腈; IAAld: 吲哚乙醛; IPyA: 吲哚丙酮酸; IAOX: 吲哚乙醛; IAM: 吲哚乙酰胺; Trp: 色氨酸。

Red indicates up regulation and purple indicates down regulation. CK indicates untreated; DS indicates drought treated. The heat map shows up-regulated gene expression in red and down-regulated gene expression in purple. Small circles represent metabolites, red up-regulated, green down-regulated. The boxes represent gene products, with red representing up-regulation, green representing down-regulation, and blue representing both up-regulation and down-regulation. CK: control; DS: drought treatment; TAM: tryptamine; IAN: indole-3-acetonitrile; IAAld: indole acetaldehyde; IPyA: indole pyruvate; IAOX: indole acetaldehyde; IAM: indole acetamide; Trp: tryptophan.

调。磷酸转移蛋白编码基因 *LOC_Os05g09410* 表达下调, 反应调节因子 *ARR-B* 有 2 个编码基因 *OsPHR3* 和 *LOC_Os12g01490* 表达上调, *LOC_Os01g08160* 等其他 16 个均下调。*ARR-A* 类型调节因子的 5 个编码基因 *OsRR1*、*OsRR2*、*OsRR4*、*OsRR9* 和 *OsRR10* 表达均下调(图 5)。类胡萝卜素生物合成代谢途径中, 玉米黄质环氧酶(ZEP)多个编码基因发生差异表达, *LOC_Os03g05900*、*LOC_Os03g05910* 和 *LOC_Os03g05920* 表达上调, *OSZEP1*、*LOC_Os07g30960*、*LOC_Os11g03390* 和 *OsFHA1* 表达下调。*ABA* 合成的关键酶 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶基因 *OsNCED4* ($\log_2FC=44.54$)表达上调, 而 *OsNCED1* ($\log_2FC=-3.25$) 和 *OsNCED5* ($\log_2FC=-2.26$)表达下调。醛氧化酶基因 *LOC_Os07g07050* 表达量提高($\log_2FC=2.05$) (图 5)。福香占干旱处理后, *ABA* 含量由 $100.13 \text{ ng mg}^{-1}$ 上升为 $773.82 \text{ ng mg}^{-1}$ 。2 个 *ABA* 受体基因 *OsPYL3* 和 *OsPYL5* 表达下调, 而 *PP2C* 磷酸酶多个编码基因差异表达, *OsPP2C49*、*OsABIL3*、*OsPP2C51*、*OsSIPP2C1* 等 5 个基因表达上调, *LOC_Os05g29030*、*LOC_Os07g45170*、*LOC_*

Os08g39100 和 *LOC_Os12g01770* 表达下调。*SnRK2* 激酶基因 *OsSAPK6*、*OsSAPK1*、*OsSAPK10*、*OsSAPK3* 和 *LOC_Os01g08160* 表达上调, 而 *OsSAPK2* 和 *OsSAPK9* 表达下调。转录因子编码基因 *OsZIP12*、*OsZIP24* 和 *OsZIP46* 表达上调, 而 *OsZIP72* 表达下调(图 5)。

从激素相关的 4 个 KEGG 代谢通路中随机挑选 18 个 DEGs, qRT-PCR 验证 RNA-seq 实验结果。18 DEGs 中, 16 个的变化趋势(上调或下降)同 RNA-seq (图 6), 有 2 个趋势不一致。同时, 分析了这些基因在丽江新团黑谷 CK 和 DS 中的表达情况(图 7), 福香占和丽江新团黑谷干旱处理后基因表达变化趋势一致的有 *OsIAA6*、*OsHK3*、*OsPP2C49*、*OsPP2C51*、*OsTCTP*、*OsTAR2* 和 *OsNCED4*, 除 *OsTAR2* 在 2 个品种中均下调表达, 其余 6 个基因都受到干旱诱导, 表达量上调。而变化趋势相反的基因有 *OsAUX1*、*OsAFB5*、*OsARF11*、*OsYUCCA6*、*OsVDE*、*OsNCED1*、*OsNCED5* 和 *CYP734A4*, 干旱处理后在福香占中表达均下调, 而在丽江新团黑谷中表达均上调。*OsSAPK4* 在福香占中上调表达, 而在丽江新团黑谷中处理前后表达量均较低。以上结果表明, 干旱处



(图 6)

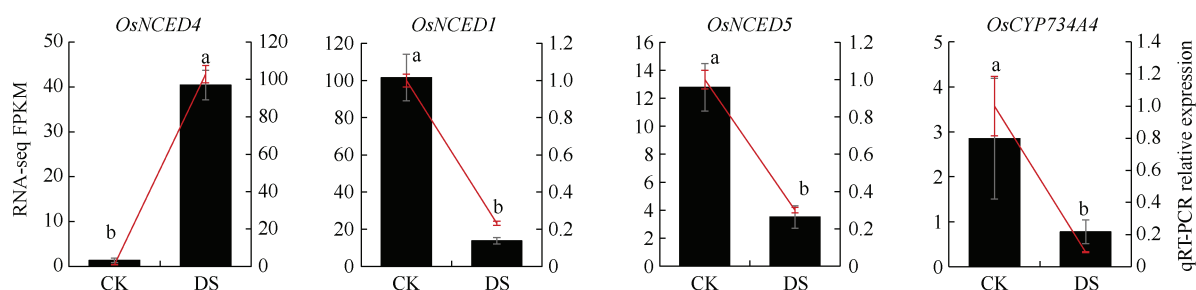


图 6 qRT-PCR 验证差异表达基因

Fig. 6 qRT-PCR verified of DEGs

黑色柱子表示 RNA-seq FPKM 值, 红色线条表示 qRT-PCR 相对表达量; 左边纵坐标轴为 RNA-seq FPKM 值, 右边纵坐标轴为 qRT-PCR 相对表达量; CK: 对照, DS: 干旱处理; 数据均为平均值 $\pm$ 标准差($n=4$), 不同小写字母表示在 0.05 概率水平差异显著。

The black column represents the FPKM value of RNA-seq, and the red line represents the relative expression of qRT-PCR. The left vertical axis is the FPKM value of RNA-seq, and the right vertical axis is the relative expression of qRT-PCR. CK: control; DS: drought treatment. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation ($n=4$), different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 probability level.

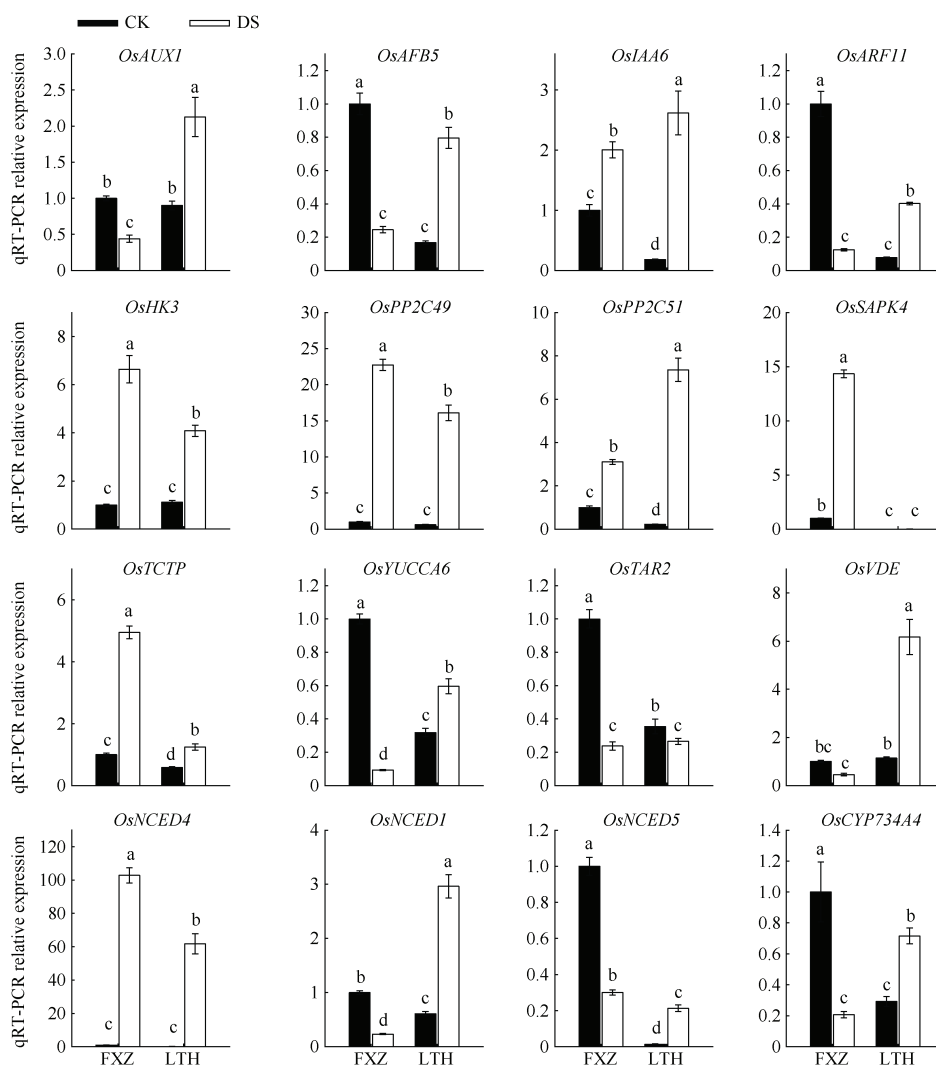


图 7 福香占和丽江新团黑谷干旱处理前后激素相关代谢通路基因表达变化

Fig. 7 Changes of hormone-related metabolic pathway gene expression in Fuxiangzhan and Lijiangxintuanheigu before and after drought treatment

FXZ: 福香占; LTH: 丽江新团黑谷; CK: 对照; DS: 干旱处理; 数据均为平均值 $\pm$ 标准差($n=4$), 不同小写字母表示在 0.05 概率水平差异显著。

FXZ: Fuxiangzhan; LTH: Lijiangxintuanheigu; CK: control, DS: drought treatment. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation ($n=4$), different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 probability level.

理后福香占和丽江新团黑谷激素相关代谢通路基因的表达变化情况有较大差异,表达量和变化趋势都有所不同,这可能是品种间干旱反应差异的原因。

2.5 耐旱应答关键基因表达分析

本文对福香占 CK 和 DS 处理中水稻耐旱应答关键基因的表达进行了检测(图 8)。其中包含 11 个转录因子编码基因,4 个 bZIP 转录因子 *OsbZIP23*、*OsbZIP46*、*OsbZIP71* 和 *OsbZIP40*,1 个 WRKY 转录因子 *OsWRKY30*,2 个 NAC 转录因子 *OsNAC6* 和 *OsNAC9*,和 3 个 AP2/EREBP 转录因子 *OsDREB1C*、*OsDREB2A* 和 *OsERF48*;7 个与活性氧自由基清除、抗氧化相关的基因, *OsCATB*、*OsAPX1*、*OsAPX3*、*OsAPX6*、*MnSOD1*、*RSODB* 和 *RSODA*;3 个与脯氨酸合成相关的基因,包含鸟氨酸 δ -氨基转移酶基因 *OsOAT* 和 $\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶基因 *OsP5CS1*、*OsP5CS2*;1 个海藻糖合成相关基因,海藻糖-6-磷酸合酶基因 *OsTPS11*;2 个晚期胚胎富集蛋白基因 *OsLEA3* 和 *OsLEA3-2*;1 个胁迫相关蛋白基因 *OsSAP8*;2 个 RING 型 E3 泛素连接酶基因 *OsRDCP1* 和 *OsSDIR1*;1 个耐旱基因 *OsRCI2-5*;1 个双孔钾离子通道基因 *OsTPKb*。福香占中这些基因在干旱胁迫处理后表达均上调。

3 讨论

3.1 干旱胁迫后福香占的生理响应

干旱条件下,植物通过调节生理机能、改变根的生长和结构、关闭气孔以减少水分散失等方式,将水分分配给重要的组织器官,维持细胞含水量以度过干旱期。这种感知水分不足信号并启动应对策略的反应称为干旱抗性。经过一段时间的干旱,恢复供水后存活植物的百分比即为干旱存活率。在细胞水平上,干旱信号促进脯氨酸和海藻糖等应激保护代谢物的产生,触发抗氧化系统维持氧化还原稳态,并调动过氧化物酶来防止急性细胞损伤和维持膜完整性^[23]。对籼稻福香占苗期进行干旱处理,复水后干旱存活率达 71.9%,高于明恢 63 (42.2%)和明恢 86 (24.4%)。抗氧化酶除 SOD 活性低于明恢 86,POD 和 CAT 都最高,过氧化物的含量和膜离子渗透率则最低。干旱存活率和生理指标都表明苗期福香占具有优于恢复系明恢 63 和明恢 86 的干旱耐受性,干旱胁迫可能触发了其应激保护代谢物的生成和抗氧化系统。

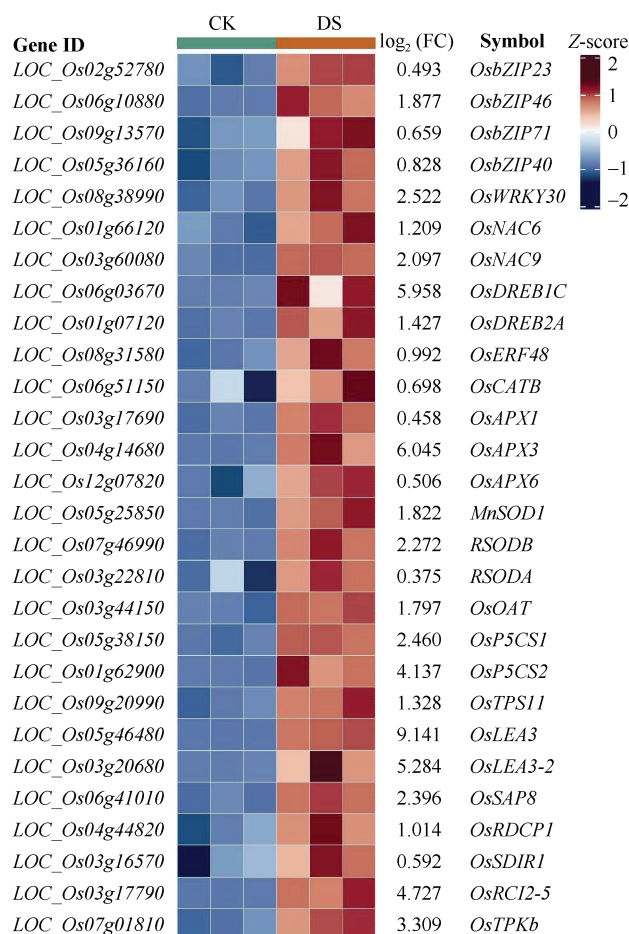


图 8 干旱胁迫下的耐旱应答关键基因表达水平值 heatmap

Fig. 8 Heatmap of the expression level of key genes in drought tolerance under drought stress

CK: 对照; DS: 干旱处理; log₂(FC)为差异倍数取 log₂ 的值。

CK: control; DS: drought treatment; log₂(FC) indicates the fold change value of log₂.

3.2 激素代谢物的变化

激素代谢物分析表明,干旱处理后,福香占 5 种激素代谢物上调,上调的激素代谢物 IAA、ICA 和 cZ 主要涉及细胞生长分裂,ABA 和 SA 则与抗逆反应相关。其中植物生长素 IAA 合成前体为 Trp, IAA 较低浓度促进生长,较高浓度抑制生长。ICA 为 Trp 代谢产物,通过降低内皮细胞中的 ROS 水平和炎症因子表达,缓解人类动脉粥样硬化^[24]。ABA 具有抑制生长、促进休眠、引起气孔关闭、调节种子胚发育和增加抗逆性等作用,干旱、高温、盐渍、水涝、寒冷等多种逆境下,植物体内 ABA 迅速积累,抗逆性增强。ABA 生物合成主要有类萜途径和类胡萝卜素 2 条途径。福香占干旱处理后,ABA 含量由干旱前 100.12 ng mg⁻¹ 上升为 773.82 ng mg⁻¹。cZ 是细胞分类素的一类,作用是促进组织分化和生长,

延缓蛋白质和叶绿素降解, 协同生长素, 调节植物细胞生长发育。SA 作为植物内源信号分子, 调控植物生长、发育、成熟、衰老等生理过程, 参与到干旱、盐渍、高低温、重金属等抗逆反应中。下调的激素代谢物有 11 种, 其中 3 种为细胞分裂素包括 N6-iPA、tZ、DHZ。GA₁、GA₃ 和 GA₄, 乙烯前体 ACC 和 JA 也发生下调。福香占干旱胁迫后, 生长速率降低, 这与其细胞分裂和分化相关激素的降低有关。而 ABA、SA 等激素的上调, 可能是其抗旱性高于其他水稻品种的原因。

3.3 4 个关键代谢通路差异表达基因

RNA-seq 分析福香占干旱胁迫前后差异表达基因, 表达下调基因数量高于表达上调数量。干旱处理导致福香占光合作用、能量合成代谢、逆境反应、氧化还原反应、跨膜运输、转录调控及信号转导相关基因表达水平发生了改变。激素代谢组和转录组联合分析获得 4 个共有的 KEGG 代谢通路, 分别为玉米素、类胡萝卜素合成、色氨酸代谢及植物信号转导通路。前 3 个代谢通路分别与 CTK、ABA 和 IAA 的合成相关, 这些激素代谢物都参与到了福香占信号转导途径, 共同调节抗旱反应。

依赖 Trp 合成 IAA 的 4 个途径中, 吲哚丙酮酸途径、色胺途径和吲哚乙酰胺途径基因在福香占干旱处理后发生差异表达。吲哚丙酮酸途径依赖 YUCs 充当含黄素的单加氧酶(FMO), 催化吲哚丙酮酸途径的限速不可逆的氧化脱羧反应, 形成 IAA^[25], 是植物产生生长素的最重要的途径。福香占干旱处理后 YUC 家族基因 *LOC_Os06g10170* 表达量上调 21.19 倍, 该基因位于水稻 6 号染色体, 是假定的含黄素单加氧酶家族蛋白, 在水稻中还未见其功能研究的相关报道。色胺途径广泛存在于高等植物中, Trp 首先在色氨酸脱氢酶的作用下, 形成 TAM, 而后经历一系列酶促反应, TAM 被转变为 IAAld, 进而在专一的脱氢酶作用下被氧化成 IAA。福香占干旱处理后色氨酸脱羧酶 *OsTDC3* 表达量上调 3.92 倍, 而催化 IAAld 氧化为 IAA 的 5 个乙醛脱氢酶基因 (*LOC_Os02g49720*、*LOC_Os11g08300*、*LOC_Os11g43900*、*LOC_Os12g07810* 和 *LOC_Os09g26880*) 表达上调。尽管生长素在福香占干旱处理后大量产生, 但是生长素转运载体编码基因 *OsAUX1* 和生长素受体编码基因 *OsAFB4*、*OsAFB6* 表达量下调, 这可能与干旱处理后植物光合作用、能量合成代谢下降有关, 由于光合同化物的降低导致合成的生长素

不能发挥促进植物生长的作用。另一方面, GH3 家族 IAA 氨基化合成酶基因 *OsGH3.1* 表达量显著上调 (从无到有, $\log_2 FC=9.53$), 该基因可催化过量的 IAA 与多种氨基酸结合来维持生长素的体内平衡, 降低 IAA 含量的同时可以增强水稻的防御反应^[26]。

CTK 合成途径催化以 ATP、ADP、AMP 为底物进行异戊烯基修饰的 *OsIPT4* 和 *LOC_Os05g47840*, 以及催化 IP 核糖转变为 tZ 的细胞色素 P450 基因 *OsCYP735A* 表达均下调。激素代谢物 N6-iPA 和 tZ 含量均下降。CTK 信号转导途径的 CTK 受体、磷酸转移蛋白、反应调节因子等的编码基因表达量下调。植物受干旱胁迫时, 植株生长减弱以降低对水分的需求。干旱的早期阶段, 抗旱品种有更多的干物质优先向根和茎分配^[27]。当 CTK/IAA 比值较小时候, 有利于根的形成, 在适度干旱环境下, 抗旱品种根系密度提高, 从而提高抗旱性和从土壤中吸收水分的能力。因此, 福香占干旱处理 CTK 水平降低以及其信号转导途径基因表达量的下降可能是其通过降低植株生长速率, 保持一定含水量, 维持生命的抗旱策略。

ABA 是普遍存在于高等植物的生长调节剂, 也是植物感知逆境信号并响应胁迫的关键因子。ABA 的合成起始于含 40 个碳原子的 β 胡萝卜素, 经过含有 40 个和 15 个碳原子的中间体最终形成 ABA^[28]。参与 ABA 合成途径中的 *OsZEP* 基因表达上调, 同时, 控制 ABA 合成的关键酶基因 *OsNCED4* 表达量提高了 29.95 倍, ABA 含量上升 7.73 倍。ABA 信号转导途径多个基因发生差异表达, *OsbZIP12*、*OsbZIP24* 和 *OsbZIP46* 表达上调。*OsbZIP12* 受非生物胁迫诱导, 是 ABA 信号途径和耐旱胁迫中一个正效调节因子, 转该基因水稻对 ABA 超敏感, 能显著提高耐旱性^[29]; 该基因还能调节磷酸酶 2C 编码基因 *OsPP48*、*OsPP108* 和 bZIP 家族基因 *OsbZIP23*、*OsbZIP46*、*OsbZIP72* 的表达, 在干旱/ABA 信号通路中形成复杂的反馈回路^[30]。*OsbZIP46* 受干旱、低温、盐碱、ABA 等多个非生物胁迫诱导, 正向调控干旱, 负向调控花期^[31]。未见 *OsbZIP24* 功能的相关研究, 推测可能也与水稻干旱抗性相关。Mathan 等^[32]研究表明 *OsbZIP72* 能与 *OsSWEET13* 和 *OsSWEET15* 的启动子结合并激活其表达, 从而调节蔗糖的运输和分布以响应非生物胁迫, 有助于在干旱和盐胁迫下维持水稻的糖稳态。本研究中, 尽管福香占干旱处理后 *OsbZIP72* 表达下降, 但是 *OsSWEET13* 和

OsSWEET15 表达却都上调(log₂FC 分别为 2.11 和 9.26), 说明这 2 个蔗糖转运蛋白编码基因还存在其他调控途径, 在福香占干旱抗性中发挥作用。

3.4 28 个干旱应答关键基因表达上调

转录因子在植物抗旱过程发挥着重要作用, bZIP^[33-34]、NAC^[35-36]、WRKY^[37]、AP2/EREBP^[38]和 MYB^[39]等几类转录因子都参与了植物干旱胁迫反应。福香占干旱处理后, 多个转录因子表达上调, 通过转录因子激活或抑制下游靶基因的表达, 交叉调控抗旱反应。抗氧化酶基因 *OsCATB*、*OsAPX1*、*OsAPX3*、*OsAPX6*、*MnSOD1*、*RSODB* 和 *RSODA* 在 DS 中表达量均上调, 这与福香占 DS 中 SOD、POD 和 CAT 酶活性上升、过氧化物含量降低一致。且福香占 DS 处理中膜离子电导率降低, 表明福香占抗氧化酶系统在其干旱抗性中发挥作用, 降低了体内过多自由基, 减轻了对膜脂氧化的程度。植物通过在细胞内合成脯氨酸、糖类、小分子多肽等, 增加细胞持水能力, 起到渗透调节的作用。福香占 DS 中脯氨酸合成相关的基因 *OsOAT*、*OsP5CS1* 和 *OsP5CS2*, 海藻糖合成基因 *OsTPSII*, LEA 蛋白编码基因 *OsLEA3* 和 *OsLEA3-2* 均上调表达, 提高了福香占的抗旱性。*OsTPKb* 表达量增加, TPKb 能够改变小液泡 K⁺ 状态, 这对于胞内正常的 K⁺ 稳态十分重要, 进而影响胁迫耐受性^[40]。

本研究基于代谢组和转录组分析了干旱胁迫与是否苗期福香占的生理指标、激素代谢物和基因表达调控。干旱处理后福香占生长素相关激素水平下降, 抗逆相关激素水平上升; 抗逆应答的基因包括转录因子、抗氧化系统基因、渗透调节及其他耐旱基因表达上调; 抗氧化酶活性等生理指标发生改变。在干旱缺水条件下, 通过调节生理机能, 保持了细胞活力和生命力。今后可进一步分析干旱对福香占经济产量、生物量等的影响, 进一步为生产应用奠定理论基础。福香占不仅米质优、抗逆性好, 其稻瘟病抗性和耐储藏性都表现良好, 目前已在生产中广泛应用, 是福建省农业主导品种, 受到广大农民的喜悦。可利用其耐旱、优质、抗病和耐储藏等优异性状, 将其作为优异种质资源, 进行水稻新材料创制及新品种培育。

4 结论

福香占受干旱胁迫后, SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶活性增加; 5 种激素代谢物含量上升, 11 种下

降; 激素代谢组和转录组联合分析鉴别出玉米素、类胡萝卜素合成、色氨酸代谢及植物信号转导通路等 4 个共有的 KEGG 代谢通路; 构建了 4 个 KEGG 代谢通路的差异表达基因调控网络; 28 个干旱应答关键基因在福香占干旱胁迫后表达量上调。福香占通过调节基因表达, 改变自身代谢物水平和生理指标, 应对干旱胁迫。

References

- [1] Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado A I. The physiology of plant responses to drought. *Science*, 2020, 368: 266–269.
- [2] Zhang C M, Shi S L, Liu Z, Yang F, Yin G L. Drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties is associated with enhanced antioxidative protection and declined lipid peroxidation. *J Plant Physiol*, 2019, 232: 226–240.
- [3] McAdam S A M, Brodribb T J. Mesophyll cells are the main site of abscisic acid biosynthesis in water-stressed leaves. *Plant Physiol*, 2018, 177: 911–917.
- [4] Kuromori T, Seo M, Shinozaki K. ABA transport and plant water stress responses. *Trends Plant Sci*, 2018, 23: 513–522.
- [5] Takahashi F, Suzuki T, Osakabe Y, Betsuyaku S, Kondo Y, Dohmae N, Fukuda H, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. A small peptide modulates stomatal control via abscisic acid in long-distance signalling. *Nature*, 2018, 556: 235–238.
- [6] Mega R, Abe F, Kim J S, Tsuboi Y, Tanaka K, Kobayashi H, Sakata Y, Hanada K, Tsujimoto H, Kikuchi J, Cutler S R, Okamoto M. Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors. *Nat Plants*, 2019, 5: 153–159.
- [7] Okamoto M, Peterson F C, Defries A, Park S Y, Endo A, Nambara E, Volkman B F, Cutler S R. Activation of dimeric ABA receptors elicits guard cell closure, ABA-regulated gene expression, and drought tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 12132–12137.
- [8] Park S Y, Peterson F C, Mosquna A, Yao J, Volkman B F, Cutler S R. Agrochemical control of plant water use using engineered abscisic acid receptors. *Nature*, 2015, 520: 545–548.
- [9] Chen J N, Yin Y H. WRKY transcription factors are involved in brassinosteroid signaling and mediate the crosstalk between plant growth and drought tolerance. *Plant Signal Behav*, 2017, 12: e1365212.
- [10] Xie Z L, Nolan T, Jiang H, Tang B Y, Zhang M C, Li Z H, Yin Y. The AP2/ERF transcription factor TINY modulates brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2019, 31: 1788–1806.
- [11] Luo L J. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. *J Exp Bot*, 2010, 61: 3509–3517.
- [12] Sun X, Xiong H, Jiang C, Zhang D, Yang Z, Huang Y, Zhu W, Ma S, Duan J, Wang X, Liu W, Guo H, Li G, Qi J, Liang C, Zhang Z, Li J, Zhang H, Han L, Zhou Y, Peng Y, Li Z. Natural variation of *DROT1* confers drought adaptation in upland rice. *Nat Commun*, 2022, 13: 4265–4281.
- [13] Zhang Q F. Strategies for developing Green Super Rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16402–16409.

- [14] 吴方喜, 罗翠琴, 王颖姮, 谢云杰, 罗曦, 朱永生, 谢鸿光, 蒋家焕, 蔡秋华, 谢华安, 张建福. 优质、抗病、耐储藏香稻新品种福香占的选育与应用. 福建农业学报, 2022, 37: 683–690. Wu F X, Luo C Q, Wang Y H, Xie Y J, Luo X, Zhu Y S, Xie H G, Jiang J H, Cai Q H, Xie H A, Zhang J F. Breeding and application of high-quality, blast-resistant, long-shelf-life fragrant Fuxiangzhan rice. *Fujian J Agric Sci*, 2022, 37: 683–690 (in Chinese with English abstract).
- [15] 丁红, 张智猛, 徐扬, 张冠初, 郭庆, 秦斐斐, 戴良香. 氮素缓解花生干旱胁迫的生理和转录调控机制. 作物学报, 2023, 49: 225–238. Ding H, Zhang Z M, Xu Y, Zhang G C, Guo Q, Qin F F, Dai L X. Physiological and transcriptional regulation mechanisms of nitrogen alleviating drought stress in peanut. *Acta Agron Sin*, 2023, 49: 225–238 (in Chinese with English abstract).
- [16] 陈力, 王靖, 邱晓, 孙海莲, 张文浩, 王天佐. 不同耐旱性紫花苜蓿干旱胁迫下生理响应和转录调控的差异研究. 作物学报, 2022, 49: 2122–2132. Chen L, Wang J, Qiu X, Sun H L, Zhang W H, Wang T Z. Differences of physiological responses and transcriptional regulation of alfalfa with different drought tolerances under drought stresses. *Acta Agron Sin*, 2022, 49: 2122–2132 (in Chinese with English abstract).
- [17] Liu H H, Ma Y, Chen N, Guo S Y, Liu H L, Guo X Y, Chong K, Xu Y Y. Overexpression of stress-inducible *OsBURP16*, the β subunit of polygalacturonase 1, decreases pectin content and cell adhesion and increases abiotic stress sensitivity in rice. *Plant Cell Environ*, 2014, 37: 1144–1158.
- [18] Šimura J, Antoniadis I, Široká J, Tarkowská D, Strnad M, Ljung K, Novák O. Plant hormonomics: multiple phytohormone profiling by targeted metabolomics. *Plant Physiol*, 2018, 177: 476–489.
- [19] Kim D, Paggi J M, Park C, Bennett C, Salzberg S L. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 907–915.
- [20] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*, 2014, 15: 550.
- [21] Wu T, Hu E, Xu S, Chen M, Guo P, Dai Z, Feng T, Zhou L, Tang W, Zhan L, Fu X, Liu S, Bo X, Yu G. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation (Camb)*, 2021, 2: 100141.
- [22] Xie C, Mao X Z, Huang J J, Ding Y, Wu J M, Dong S, Kong L, Gao G, Li C Y, Wei L P. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: W316–W322.
- [23] Dinnyen J R. Developmental responses to water and salinity in root systems. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2019, 35: 239–257.
- [24] Lu Y, Yang W, Qi Z, Gao R, Tong J, Gao T, Zhang Y, Sun A, Zhang S, Ge J. Gut microbe-derived metabolite indole-3-carboxaldehyde alleviates atherosclerosis. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8: 378.
- [25] Cao X, Yang H L, Shang C Q, Ma S, Liu L, Cheng J L. The roles of auxin biosynthesis YUCCA gene family in plants. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 6343.
- [26] Domingo C, Andrés F, Tharreau D, Iglesias D J, Talón M. Constitutive expression of *OsGH3.1* reduces auxin content and enhances defense response and resistance to a fungal pathogen in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 2009, 22: 201–210.
- [27] Tschaplinski T J, Tuskan G A, Gebre G M, Todd D E. Drought resistance of two hybrid *Populus* clones grown in a large-scale plantation. *Tree Physiol*, 1998, 18: 653–658.
- [28] Chen K, Li G J, Bressan R A, Song C P, Zhu J K, Zhao Y. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants. *J Integr Plant Biol*, 2020, 62: 25–54.
- [29] Joo J, Lee Y H, Song S I. Overexpression of the rice basic leucine zipper transcription factor *OsbZIP12* confers drought tolerance to rice and makes seedlings hypersensitive to ABA. *Plant Biotechnol Rep*, 2014, 8: 431–441.
- [30] Zhang C, Li C, Liu J, Lv Y, Yu C, Li H, Zhao T, Liu B. The *OsABF1* transcription factor improves drought tolerance by activating the transcription of *COR413-TM1* in rice. *J Exp Bot*, 2017, 68: 4695–4707.
- [31] Hossain M A, Cho J I, Han M, Ahn C H, Jeon J S, An G, Park P B. The ABRE-binding bZIP transcription factor *OsABF2* is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice. *J Plant Physiol*, 2010, 167: 1512–1520.
- [32] Mathan J, Singh A, Ranjan A. Sucrose transport in response to drought and salt stress involves ABA-mediated induction of *OsSWEET13* and *OsSWEET15* in rice. *Physiol Plant*, 2021, 171: 620–637.
- [33] Tang N, Zhang H, Li X, Xiao J, Xiong L. Constitutive activation of transcription factor *OsbZIP46* improves drought tolerance in rice. *Plant Physiol*, 2012, 158: 1755–1768.
- [34] Xiang Y, Tang N, Du H, Ye H Y, Xiong L Z. Characterization of *OsbZIP23* as a key player of the basic leucine zipper transcription factor family for conferring abscisic acid sensitivity and salinity and drought tolerance in rice. *Plant Physiol*, 2008, 148: 1938–1952.
- [35] Yuan X, Wang H, Cai J, Bi Y, Li D, Song F. Rice NAC transcription factor *ONAC066* functions as a positive regulator of drought and oxidative stress response. *BMC Plant Biol*, 2019, 19: 278.
- [36] Lee D K, Chung P J, Jeong J S, Jang G, Bang S W, Jung H, Kim Y S, Ha S H, Choi Y D, Kim J K. The rice *OsNAC6* transcription factor orchestrates multiple molecular mechanisms involving root structural adaptations and nicotianamine biosynthesis for drought tolerance. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15: 754–764.
- [37] Shen H, Liu C, Zhang Y, Meng X, Zhou X, Chu C, Wang X. *OsWRKY30* is activated by MAP kinases to confer drought tolerance in rice. *Plant Mol Biol*, 2012, 80: 241–253.
- [38] Jung H, Chung P J, Park S H, Redillas M C F R, Kim Y S, Suh J W, Kim J K. Overexpression of *OsERF48* causes regulation of *OsCML16*, a calmodulin-like protein gene that enhances root growth and drought tolerance. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15: 1295–1308.
- [39] Tang Y, Bao X, Zhi Y, Wu Q, Guo Y, Yin X, Zeng L, Li J, Zhang J, He W, Liu W, Wang Q, Jia C, Li Z, Liu K. Overexpression of a MYB family gene, *OsMYB6*, increases drought and salinity stress tolerance in transgenic rice. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 168.
- [40] Ahmad I, Devonshire J, Mohamed R, Schultze M, Maathuis F J M. Overexpression of the potassium channel TPKb in small vacuoles confers osmotic and drought tolerance to rice. *New Phytol*, 2016, 209: 1040–1048.

附表 1 qRT-PCR 引物序列

Table S1 qRT-PCR primer sequence

基因登录号 Gene ID	基因符号 Gene symbol	上游引物 Forward primer (5'-3')	下游引物 Reverse primer (5'-3')
<i>LOC_Os01g63770</i>	<i>OsAUX1</i>	TGATGGTCGTCATGGCTTATAA	GAGGAATCGCCGATTACAATTG
<i>LOC_Os03g08850</i>	<i>OsAFB5</i>	CTGATAAATAGCCAGCCTGAGA	GACTCCAGCTATCTTACCTTCC
<i>LOC_Os01g53880</i>	<i>OsIAA6</i>	ACCTGATCTTAACCTCCGTGTTT	TTCTACACTCAACTTAGGCTGG
<i>LOC_Os04g56850</i>	<i>OsARF11</i>	CAGCCTGTCATTGATTGCGATT	TACTGTTTTGCTCCGAAGTACT
<i>LOC_Os01g69920</i>	<i>OsHk3</i>	GTTTCATGGACATACAGATGCC	ATAGCCATCCATTTGCTTTTC
<i>LOC_Os07g25710</i>	<i>OsPHR2</i>	TCTTCAGTTTCAAGCAATGAGC	CCAGCTGCAATAGAACTGTTTT
<i>LOC_Os05g38290</i>	<i>OsPP2C49</i>	CGTGATCCGCCATTATTATTGG	ATCGCAGGAGTAAATTAGGAGG
<i>LOC_Os05g49730</i>	<i>OsPP2C51</i>	CGAAGTTGTAGTAGCCGGAG	CTTCACCGACCGGATTCTCTTC
<i>LOC_Os01g64970</i>	<i>OsSAPK4</i>	GTTTGTGTGCAGCTATTGTGTA	CGCCAAACAGAAGCAAATTTAC
<i>LOC_Os07g25590</i>	<i>OsTDC2</i>	ATTGTTTGCCCTTCGAGTATTG	TCAAACGACCTAACCCACTAAA
<i>LOC_Os11g43900</i>	<i>OsTCTP</i>	CGTTCAAGGAGCTATTGATGTG	GTCACAAACTGCTTCTTGTCAA
<i>LOC_Os07g25540</i>	<i>OsYUCCA6</i>	CTCAAGGGAAGTGACTTCTTCA	TTGTGAAGCCAACAGAGTAGAG
<i>LOC_Os01g07500</i>	<i>OsTAR2</i>	CTTCTGCAACTTCACCAAGGAG	AATCCTCCACATCCTCCCTATC
<i>LOC_Os04g31040</i>	<i>OsVDE</i>	GGTGAAACAGGACTTGATGAAC	TTACTTGTTGCCCTTGACTTGC
<i>LOC_Os07g05940</i>	<i>OsNCED4</i>	GCGACAAGCTTAGCTCAAATTA	GCTAAACTATTTCAACTCCCTAGC
<i>LOC_Os02g47510</i>	<i>OsNCED1</i>	AGCACCAATGATACAAACCAAC	TGTGTGCACTTATACTACGTGT
<i>LOC_Os12g42280</i>	<i>OsNCED5</i>	TTTGCTTTGCTTGACAGACAG	CACTGCAACTATCCCTATCACT
<i>LOC_Os06g39880</i>	<i>OsCYP734A4</i>	GCTAGCTAGGAAAAGACAGGAA	GTACCACTAGTCTGTTAGCGAG