

转录组分析玉米和大刍草对粘虫取食诱导的响应

陈云霄¹, 高晶¹, 田婧芸¹, 张玉荣¹, 杨雅舒¹, 杨利艳^{1,2,*}

¹山西师范大学生命科学学院, 山西临汾041004

²山西师范大学现代文理学院, 山西临汾041004

摘要: 为探明玉米及其野生近缘种大刍草对粘虫响应的异同, 采用RNA-Seq技术对两者响应粘虫取食的转录谱进行探究。结果表明, 玉米和大刍草被取食后上调的差异表达基因分别有1 755和1 761个, 下调差异表达基因分别有3 309和1 723个。GO分析和KEGG分析表明, 玉米和大刍草被取食后的上调差异表达基因较下调差异表达基因有更明显的差异, 其中玉米中最显著上调的代谢通路与光合作用相关, 而大刍草中则主要富集于植物激素信号转导、亚油酸代谢和MAPK信号通路。两者下调的差异表达基因均显著富集于核酸转录、翻译等过程。qRT-PCR验证结果与RNA-Seq测序结果一致。本研究从转录水平揭示了现代栽培玉米与其野生近缘种对害虫防御响应的不同。

关键词: 玉米; 大刍草; 粘虫; 转录组; 抗虫性

玉米是世界上重要的粮食、饲料和生物能源材料。2014年, 全球的玉米年产量超过10亿吨(<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>)。在我国, 玉米产量约占全国粮食总产量的1/4, 居三大粮食作物之首(荣廷昭等2003)。玉米的野生近缘种统称大刍草, 原产地位于中美洲和墨西哥一带, 分蘖力强, 具有多分枝和多果穗性, 同时具有抗逆性、抗病虫害性强等特点(芦立婷等2005), 是玉米改良的天然基因库, 近年来利用野生资源进行作物遗传改良越来越受到育种学家的重视。

粘虫属鳞翅目夜蛾科, 是严重威胁我国粮食生产安全的重大生物灾害, 喜食稻、麦、粟、黍、玉米、高粱等作物。粘虫是一种集群性迁飞昆虫, 每年造成作物产量的大幅度降低(白毓昕2010)。目前, 玉米已成为我国三大粮食作物中受粘虫危害最严重的一种。虫害严重威胁玉米的安全生产, 目前降低虫害的方法有物理防治、化学防治、生物防治及*Bt*转基因玉米培育, 以上方法都各有利弊(李大飞2015), 提高玉米自身抗虫性是长远和根本的降低虫害的方法。

植物在与病菌、害虫共同进化过程中, 形成了特有的机制来减少对自身的危害, 包括机械阻碍、次级代谢物质、防御蛋白等物质的直接防御及通过释放挥发性物质吸引害虫天敌而形成的间接防御(李庆亮等2017), 这些机制受茉莉酸、水杨酸和乙烯等激素调节(Smith和Clement 2012)。大刍草为玉米的直接野生祖先(John 2004), 研究表

明, 大刍草和玉米同时受粘虫取食后, 大刍草表现出更强的抗性(Bernal等2015), 但目前缺乏对大刍草抗虫分子机制的研究。

转录组测序技术(RNA-Seq)可以快速全面地获得某一物种特定细胞或组织在某一状态下几乎所有的转录本及基因序列。作为一种高通量的测序方法, RNA-Seq能够提高基因发掘的速度和效率, 有助于综合研究植物防御分子机制(黄晶2015)。近年, 转录组测序技术大大推动了对玉米与害虫互作的认识(Qi等2016)。

本研究采用RNA-Seq技术对大刍草和玉米响应粘虫取食的转录谱进行分析, 旨在从转录水平阐明大刍草抗虫性强的原因。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米粘虫(*Mythimna separate* Walker), 又名东方粘虫, 刚孵化的粘虫由中国农业科学院植物保护研究所提供。

大刍草(*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley) (Packet# 42833, 13GH-GH 45-6 OP)由美国威斯康星大学遗传系John Doebley教授提供。

玉米(*Zea mays* ssp. *mays* L.)自交系B73种子由

收稿 2018-06-12 修定 2018-11-20

资助 山西师范大学现代文理学院基础研究项目(2018JCYJ61)和山西师范大学优势专业项目(2017YSZY-01)。

* 通讯作者(yangswallow163@163.com)。

中国农业科学院生物技术所提供,用于转录组测序。玉米杂交种先玉335种子由山西省农业科学院小麦研究所提供,用于饲喂粘虫。

1.2 方法

1.2.1 材料的获得及处理

粘虫饲养:粘虫孵化后置于放有新鲜玉米(先玉335)叶片的培养瓶中上进行饲养,饲养温度为25~27°C,每天更换新鲜玉米材料,瓶口放一层湿纱布以保持湿度,至三龄,进行粘虫取食实验。

植物材料处理:玉米B73种子和大刍草种子分别用2%次氯酸钠溶液消毒20 min,蒸馏水冲洗干净后置于湿润的滤纸上,25°C培养。将萌发后的幼苗放于铺有滤纸的培养皿中,每天换水一次,至长出2片叶,移至花盆,置于光照培养箱中培养,光暗周期16 h/8 h,温度20~28°C,相对湿度65~80%,常规管理。玉米与大刍草第三完全叶展开时,分别取长势一致且健壮的植株进行粘虫取食处理,每株幼苗为一个重复,每组设置3个重复。用毛笔粘取三龄粘虫均匀放置于植株上,每株接种4头粘虫,以不接虫材料为对照。玉米组材料分别标记为M0和M12,大刍草分别记为P0和P12;0:接虫0 h,12:接虫12 h。处理组植株置于木架中(长50 cm、宽50 cm、高80 cm),木架外罩一层薄纱,以防粘虫逃逸,12 h后取材,每株取相同叶位材料并用液氮保存,由上海生物工程有限公司进行转录组测序。

1.2.3 RNA的提取及原始数据质量评估

Trizol法提取玉米和大刍草共12个样品的RNA,琼脂糖凝胶检测RNA完整性及基因组污染情况。

测序结果经CASAVA碱基识别转化为原始数据(Raw Read),并采用Trimmomatic对原始数据中质量低、带接头的数据进行过滤,获得clean reads。

1.2.4 参考序列比对分析

使用HISAT2将质控后的测序序列与参考基因组(B73_RefGen_v4)进行比对,并通过RSeQC统计比对结果。

1.2.5 差异表达基因筛选、基因功能分类及代谢通路富集分析

为获得差异表达基因,使用DESeq进行分析。差异表达基因的筛选条件为:qValue<0.05,差异表达倍数|FoldChange|>2,并将所得到的差异表达基因进行基因功能分类(GO)和代谢通路富集分析(KEGG)。

1.2.6 差异表达基因荧光定量PCR (qRT-PCR)验证

qRT-PCR验证RNA-Seq的结果,以*ZmActine1*作为内参基因,选基因Zm00001d030028、Zm00001d006882、Zm00001d031303和Zm00001d031300进行qRT-PCR分析,差异表达倍数采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算,3次重复,荧光定量PCR中用到的引物均用Primer 5.0设计,引物序列见表1。

2 实验结果

2.1 测序质量分析

采用FastQC对玉米和大刍草测序的原始数据进行评估并与参与基因组比对。结果(表2和3)显示,测序后除去低质量、带接头的序列,高质量的序列至少有46 666 350对,碱基准确度Q30 (碱基

表1 荧光定量PCR验证表达基因及其引物序列

Table 1 Genes verified by qRT-PCR and their primer sequences

基因号	基因注释	引物序列(5'→3')
<i>ZmActine1</i> (actin)	—	CTTCGAATGCCAGCAAT CGGAGAATAGCATGAGGAAG
Zm00001d030028	无	CCATTTTGAGAACGGGAGCA GACGCGAAGTCCGAGAAATT
Zm00001d006882	polcalcin Phlp 7	GAGGAGTTCAAGGAGTGGCTG GGCGACGAGGTTCTCAATCT
Zm00001d031303	半乳糖醇-蔗糖半乳糖基转移酶1	GGTGGATGACGCAGAGGAT CTGAAGAACGGCACGGAAT
Zm00001d031300	碱性α半乳糖苷酶3	TGGGAATCGCTTGCTATC CCCTTCGCTGGGTCATCT
Zm00001d009398	甲基酯酶7	CGCTTGTTGCTGTTGGTCTT CCATCCAGTCTGACACGGTAA

表2 玉米和大刍草转录组测序质量分析

Table 2 Quality analysis of transcriptome sequencing in maize and teosinte

样品	全部序列数目	全部碱基数目	Q30比例/%	GC含量/%
M0-1	53 765 076	8 064 761 400	92.02	56.87
M0-2	55 996 086	8 399 412 900	91.84	62.47
M0-3	50 608 940	7 591 341 000	91.95	56.94
M12-1	53 566 954	8 035 043 100	91.97	63.12
M12-2	55 299 670	8 294 950 500	91.13	64.12
M12-3	59 656 512	8 948 476 800	91.33	63.64
P0-1	51 789 286	7 768 392 900	91.71	57.66
P0-2	46 666 350	6 999 952 500	91.53	59.15
P0-3	54 327 562	8 149 134 300	92.03	59.40
P12-1	48 960 452	7 344 067 800	91.91	67.20
P12-2	48 180 090	7 227 013 500	91.68	65.38
P12-3	48 465 676	7 269 851 400	91.07	60.08

表3 玉米和大刍草转录组数据与参考基因组(B73_RefGen_v4)比对结果

Table 3 Maize and teosinte transcriptional data mapping based on reference genome (B73_RefGen_v4)

样品	过滤后Reads	比对到参考基因组的Reads /%	比对到参考基因组多位置的比例 /%	比对到参考基因组单一位置的比例 /%
M0-1	50 862 960	89.74	3.28	86.47
M0-2	52 629 798	89.00	2.80	86.20
M0-3	47 821 356	89.80	3.00	86.80
M12-1	50 562 332	90.20	3.50	86.70
M12-2	51 656 642	89.75	2.73	87.02
M12-3	55 471 518	90.43	3.72	86.71
P0-1	48 892 702	85.61	3.00	82.61
P0-2	43 816 434	85.97	3.06	82.91
P0-3	51 448 506	86.02	4.00	82.01
P12-1	46 344 544	86.55	3.58	82.97
P12-2	45 000 978	86.77	5.19	81.58
P12-3	45 253 442	85.03	2.67	82.36

质量值越高, 碱基识别准确度越高。Q30代表碱基识别出错率仅为0.01%的碱基)的碱基数比率在91.51%左右。与参考基因组比对分析表明, 12个样品中至少有85.03%以上的序列与参考基因组吻合, 其中单一位置匹配序列比例为81.58%~87.02%, 说明测序结果良好。

2.2 差异表达基因的统计分析

为明确玉米和大刍草对粘虫取食的响应情况, 对玉米和大刍草被取食前后的基因进行了分析(图1)。粘虫取食12 h后, 玉米中有1 755个基因上调, 3 309个基因下调; 大刍草中则分别为1 761个上调, 1 723个下调。可见, 玉米中有更多基因表达被抑制。

2.3 差异表达基因的qRT-PCR验证

分别在在玉米中选取Zm00001d009398、Zm-

00001d031300, 大刍草中选取Zm00001d031303、Zm00001d006882和Zm00001d030028上调表达基因进行实时荧光定量验证实验, 结果(图2)显示5个基因的荧光定量结果与转录组测序结果显著相关, 说明测序结果可靠。

2.4 差异表达基因的表达模式分析

为进一步明确玉米和大刍草差异表达基因之间的关系, 使用差异表达基因韦恩图进行了分析。上调基因中, 玉米和大刍草中711个基因为共有, 其各自特有的上调基因分别有1 067、1 057个; 下调基因中有1 085个基因为共有, 特有基因分别有2 231、661个(图3)。以上结果表明玉米和大刍草对粘虫的取食响应有既有共同的响应基因或相同的机制, 同时也有二者各自特有的响应。

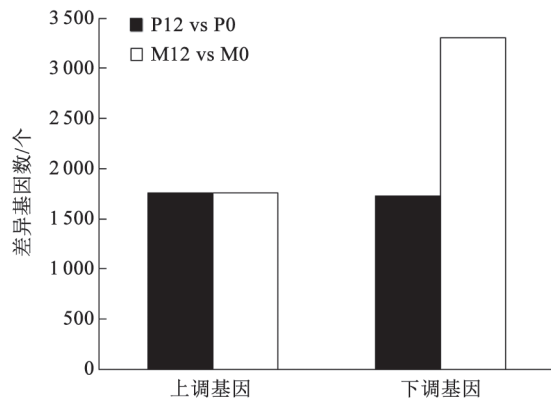


图1 差异表达基因数量分析

Fig.1 Quantitative analysis of differentially expressed genes

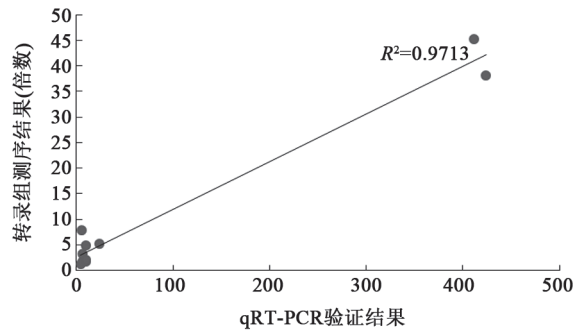


图2 差异表达基因实时荧光定量结果与转录组测序结果相关性分析

Fig.2 Analysis of correlation between real-time fluorescent quantitative results and transcriptome sequencing

通过NCBI分别对玉米和大刍草中特有的差异表达基因进行分析。结果显示在上调基因中,玉

米中特有表达最显著基因属于糖基转移酶家族和肌醇加氧酶家族。大刍草中则属于细胞色素氧化酶P450家族和蛋白磷酸酶2c家族蛋白。在下调基因中,玉米中真核生物转录起始因子4E、IIF家族下调最为显著;大刍草中最显著下调基因则为核糖核酸酶III超家族、核糖体蛋白家族基因。

2.5 差异表达基因的生物学功能(GO)分析

为明确差异表达基因在功能上的分布,采用clusterProfiler分别对玉米和大刍草响应粘虫的上调和下调基因进行了GO分析,标准为 $q < 0.05$ 。结果表明,玉米和大刍草中上调基因分别注释到细胞组分(cellular component)的基因有703和1 057个、分子功能(molecular function)的基因有900和620个以及生物过程(biological process)的基因有1 046和857个。玉米中上调差异表达基因最显著富集的生物学过程为光合作用(GO:0015979),而在大刍草中为单细胞代谢过程(GO:0044710);玉米和大刍草最显著上调的分子功能分别是糖基键水解酶活性(GO: 0016-798)和氧化还原酶活性(GO:0016491);在玉米中最显著上调的细胞组分与光合组分有关(GO:0009521),在大刍草中与质外体相关(GO:0048046)(图4)。

对下调基因的GO分析结果(图5)表明,玉米中下调基因注释到分子功能和生物学过程的差异基因显著富集于小分子连接(GO:0003723)和有机氮复合代谢过程(GO:1901564);大刍草中则分别与RNA连接(GO:0003723)和RNA加工(GO:0006396)有关。即玉米和大刍草中响应粘虫的下调基因有很高的相似性。

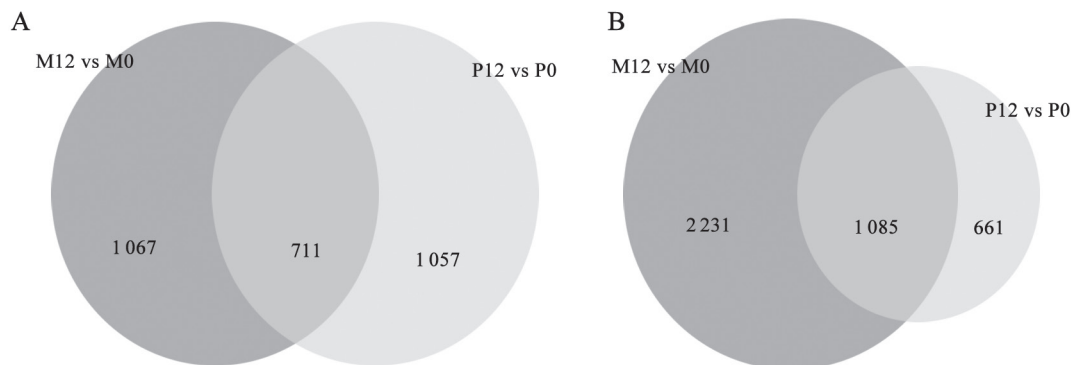


图3 粘虫取食12 h后玉米和大刍草差异表达基因分析

Fig.3 Statistical analysis of differentially expressed gene from maize and teosinte ate by armyworm after 12 h

A: 上调基因; B: 下调基因。

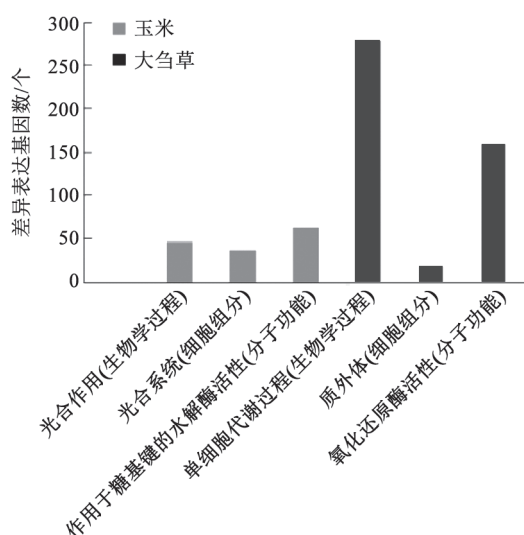


图4 上调差异表达基因数目及生物学功能分析
Fig.4 The number of up-regulated genes and their biological function analysis

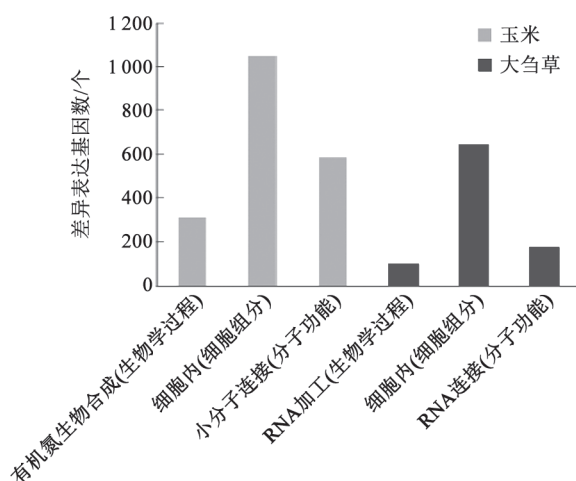


图5 下调差异表达基因数目及生物学功能分析
Fig.5 The number of down-regulated genes and their biological function analysis

2.6 差异表达基因代谢通路富集(KEGG)分析

利用KOBAS 2.0分别对玉米和大刍草中显著差异表达基因($q < 0.05$)进行KEGG分析。结果(图6和7)显示, 上调和下调基因分别富集于203个和386个代谢途径中, 其中上调基因在玉米中富集于102个代谢通路, 在大刍草中富集于101个通路; 下调基因在玉米富集于178个代谢通路, 在大刍草中则富集于208个通路。图6表示玉米上调基因中富集最显著的代谢通路是光合作用(ko00195), 而大刍

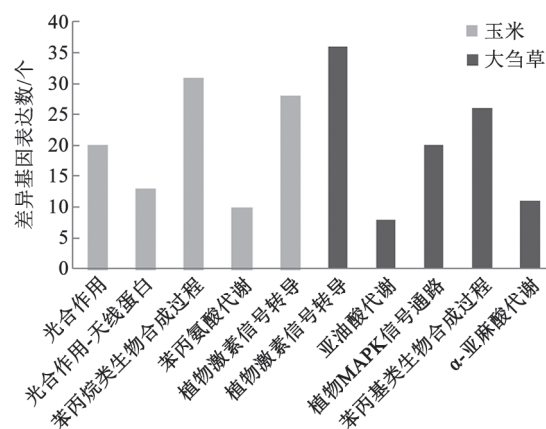


图6 玉米和大刍草最显著上调的前5条代谢通路及基因数目
Fig.6 Gene number of the top 5 enriched up-regulated metabolic pathways in maize and teosinte

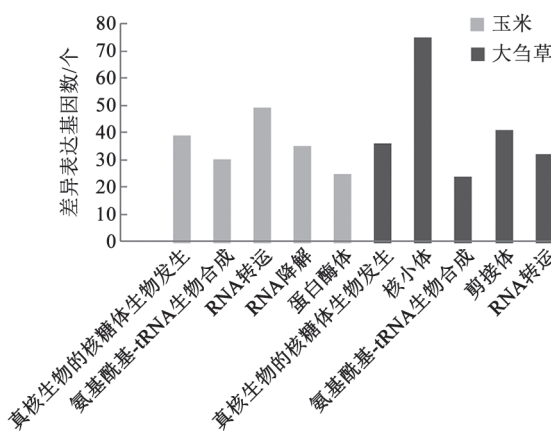


图7 玉米和大刍草中最显著下调的前5条代谢通路
Fig.7 Gene number of the top 5 enriched down-regulated metabolic pathways in maize and teosinte

草中则为植物激素信号转导(ko04075)。光合作用作为植物能量的来源, 能够产生大量的初生代谢物质, 是多种后期物质的合成前体。而植物激素参与植物虫害的防御机制已经得到充分证明。

玉米和大刍草中下调基因最显著富集的代谢途径相同, 均为真核生物的核小体生物合成。其中, 玉米中氨基酰基-tRNA生物合成(ko00970)和RNA转运(ko03013)这两个代谢通路也是大刍草中较为显著的代谢通路(图7), 说明玉米和大刍草响应粘虫取食的下调代谢通路更具相似性。

2.7 玉米、大刍草中响应粘虫相关基因分析

结合GO和KEGG分析, 玉米中叶绿素a/b结合蛋白家族、光系统II反应中心PSB28蛋白家族、光

系统I反应中心亚基家族基因在受粘虫取食后显著上调,以上基因和光合作用有关。大刍草中,细胞色素酶P450家族、烯-氧化物合酶家族、油酸脂氧合酶家族、茉莉酮酸酯ZIM结构域蛋白和脱落酸受体类PYL4家族基因显著上调,以上基因分别是次生代谢、茉莉酸代谢、亚油酸代谢和脱落酸途径中的关键酶基因,与防御害虫密切相关。玉米和大刍草中下调基因均最显著富集于RNA转运、转录、翻译等过程,包括RNA连接蛋白家族、核帽结合蛋白家族、H/ACA核蛋白复合物家族、核仁蛋白和GTP结合蛋白。可以看出,玉米和大刍草响应粘虫取食的下调基因有一定的相似性。

3 讨论

野生作物与现代栽培作物相比,在长期复杂恶劣的环境中形成了更强的生物抗性和非生物抗性(Chelsea等2012)。本研究转录组结果显示,玉米和大刍草在分别被粘虫取食12 h后,与各自对照组相比,玉米中上调差异表达基因显著富集于光合作用、苯丙烷代谢及植物激素代谢通路中,而大刍草中则富集于植物激素代谢、亚油酸代谢、MAPK代谢通路及苯丙基类生物合成通路。其中,苯丙烷类生物代谢及植物激素通路是二者共同的防御响应。因此对光合作用、苯丙烷代谢途径、植物激素信号转导、亚油酸代谢和MAPK信号通路进行分析。

糖类被认为是植物初生代谢的主要产物之一,也是植物光合作用的主要产物,会对取食的昆虫造成不利的影 响(Zhou等2015)。本研究发 现玉米被取食后,富集于糖代谢的碱性 α -半乳糖苷酶3基因表达量会提高,且qRT-PCR验证结果与测序结果一致。有研究认为植物被昆虫取食后,有关光合作用的表达基因会下调(李庆亮等2017)。本研究的结果却恰恰相反,但与Gutsche等(2009)研究结果一致,即被昆虫取食后植物体内光合作用相关基因表达上调。其原因可能是植物通过加强光合作用来合成防御物质,或者是在未被取食的部位增加光合作用以补充被取食部位叶面积减少造成的光合产物损失(Zhou等2015),植物抗虫性与光合作用的关系有待进一步研究。

苯丙代谢途径是植物体内重要的抵抗病虫害侵蚀的有效代谢途径,它从苯丙氨起始,经苯丙氨

酸解氨酶等一系列酶的催化作用下合成苯丙类衍生物如木质素和类黄酮(Zhong和Ye 2009)。木质素存在于植物细胞壁纤维素的骨架中,是植物防御病虫害的一道屏障(程智慧等2006)。类黄酮是次生代谢物的一种,在植物抵抗病虫害、UV-B辐射、抗氧化损伤等过程中有不可替代的作用(Buer等2010)。本研究发 现,玉米和大刍草被取食,玉米中的苯丙烷类的生物合成更为显著,表明在对粘虫的防御响应中,苯丙烷类代谢是玉米显著的代谢应答,而在大刍草中,激素代谢、亚油酸代谢和MAPK代谢是更为主要的防御响应。

茉莉酸、水杨酸和乙烯等激素与植物的抗虫防御密切相关(Wu和Baldwin 2010)。本研究结果显示,植物激素信号转导是玉米和大刍草共有的代谢通路,但显著性和富集于该通路的基因个数也有所不同。深入分析发现,茉莉酸信号途径是玉米和大刍草中共有的代谢通路,但脱落酸信号途径只存在于大刍草中。说明茉莉酸信号途径可能是玉米和大刍草中的关键和共同的响应途径。脱落酸是植物五大激素之一,它在调节植物生长有不可替代的作用,同时在植物抵御生物和非生物胁迫起到重要作用(刘红娟等2008)。深入分析大刍草被取食后最显著的KEGG代谢通路(植物激素信号转导)中的基因发现,存在脱落酸受体PYL2和类PYL4,且两者表达量均上升,说明脱落酸信号途径可能参与了大刍草对粘虫的防御响应。

当植物遭到生物或非生物侵害后,通常都会产生亚油酸。小麦挥发物对蚜虫天敌行为的研究表明除1-己醇外,水杨酸甲酯、3-己酰醋酸酯和己烯醇均可以作为引诱蚜虫天敌的挥发物(Xie 2014)。本研究结果表明,粘虫取食后大刍草中亚油酸代谢通路显著富集,说明亚油酸代谢可能是大刍草中重要的抗虫机制。

MAPK代谢通路是存在于真核生物中一种保守的信号传递途径,广泛参与植物对病虫害、干旱、冻害等多种胁迫的响应(Meng和Zhang 2013)。本研究结果显示,MAPK代谢通路中的Zm0000-1d006882 (polcalcin Phlp 7)在大刍草中被取食后的表达量上升,并且在qRT-PCR中得到验证。但是在玉米中没有发现该基因的差异表达,即MAPK代谢通路可能是大刍草不同于玉米的防御响应。

对玉米和大刍草响应粘虫的特有差异基因的分析有助于理解大刍草的高抗虫性。本研究对特有差异基因分析表明, 玉米上调特有差异表达基因中, 糖基转移酶家族和肌醇加氧酶家族基因显著上调, 两者分别在防御反应、次生代谢物修饰和细胞壁的合成其关键作用(秦晶晶等2018; 王学敏等2017)。而大刍草中的细胞色素氧化酶P450家族基因显著上调, 已有研究表明其在水稻被褐飞虱取食后会明显上调, P450家族在抗虫性中发挥重要作用(单丽红等2018)。蛋白磷酸酶2c家族蛋白在抗病、适应不良环境的能力和抗盐胁迫等逆境胁迫发挥作用(陈冠旭等2018)。考虑到植物抗病性、抗逆性及抗虫性在分子机制存在一定的相似性, 因此推测脂质转运超家族蛋白和蛋白磷酸酶2c家族蛋白可能在大刍草抗虫机制中发挥作用。

下调特有差异基因中, 玉米中的转录起始因子4E、IIF家族和大刍草中的核糖核酸酶III超家族、核糖体蛋白家族在植物的转录和翻译过程中起关键的调节作用(胡凌飞2014; 张余洋2006), 同时在抗病毒侵害和抗逆性也存在一定的作用(靳聪聪等2018), 所以推测以上下调特有差异基因可能在玉米和大刍草的抗虫性中也发挥重要作用。

综合转录组数据分析, 玉米和大刍草响应粘虫取食的防御反应有一定的相似性, 即苯丙氨酸代谢等代谢通路为共有的防御机制, 但差异更为显著, 其中上调基因的差异较为明显: 玉米被取食后上调基因最显著富集于与光合作用, 而大刍草主要通过植物激素信号通路、MAPK信号通路及亚油酸代谢参与对粘虫的响应。

参考文献(Reference)

- Bai YX (2010). Effect of larval density on growth, development and defense capabilities of the oriental armyworm, *Mythimna separate* (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [白毓昕(2010). 幼虫密度对粘虫生长发育及防御能力的影响(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Bernal JS, Melancon JE, Salzman K (2015). Clear advantages for fall armyworm larvae from feeding on maize relative to its ancestor *Balsas teosinte* may not be reflected in their mother's host choice. *Entomol Exp Appl*, 155: 206–217
- Buer CS, Imin ND, Jorjordjevic MA (2010). Flavonoids: new roles for old molecules. *J Inter Plant Biol*, 52 (1): 98–111
- Chelsea G, Takahashi, Lauren L, et al (2012). Plant defense against fall armyworm in micro-sympatric maize (*Zea mays* ssp. *mays*) and *Balsas teosinte* (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). *Entomol Exp Appl*, 145: 191–200
- Chen GX, Qin GL, Li EG, et al (2018). Identification and salinity stress-responsive analysis of PP2C genes in peanut. *Acta Agric Boreali Sin* 33 (3): 71–77 (in Chinese with English abstract) [陈冠旭, 秦贵龙, 李恩广等(2018). 花生蛋白磷酸2C家族基因的鉴定和盐胁迫响应分析. *华北农学报*, 33 (3): 71–77]
- Chen ZH, Li YH, Meng HW, et al (2006). The relationship between BTH-induced resistance to downy mildew in cucumber seedlings and content of HRGP and lignin cell wall. *Sci Agric Sin*, 39 (5): 935–940 (in Chinese with English abstract) [程智慧, 李玉红, 孟焕文等(2006). BTH诱导黄瓜幼苗对霜霉病的抗性与细胞壁HRGP和木质素含量的关系. *中国农业科学*, 39 (5): 935–940]
- Gutsche A, Heng-Moss T, Sarath G, et al (2009). Gene expression profiling of tolerant barley in response to *Diuraphis noxia* (Hemiptera:Aphididae) feeding. *Bull Entomol Res*, 99: 163–173
- Hu LF (2014). Functional analysis of rice insect resistance related genes *OsWRKY53* and *OsHI-PSKR* (dissertation). Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese with English abstract) [胡凌飞(2014). 水稻抗虫相关基因*OsWRKY53*及*OsHI-PSKR*的功能解析(学位论文). 杭州: 浙江大学]
- Huang J (2015). Comparative study on transcriptome of annual teosinte and maize and identification of domesticated genes (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [黄晶(2015). 一年生大刍草-玉米转录组的比较研究及驯化相关基因鉴定(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Jin CC, Hou MY, Pan YY (2018). Research progress of ribosomal protein function in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 54 (2): 203–212 [靳聪聪, 侯名语, 潘延云(2018). 拟南芥核糖体蛋白生物学功能研究进展. *植物生理学报*, 54 (2): 203–212]
- John D (2004). The genetics of maize evolution. *Ann Rev Genetics*, 38: 37–59
- Li DF (2015). Selection of endogenous insect-resistant genes in maize under double stress induced by MeJA and feeding of corn borer (dissertation). Harbin: Heilongjiang University (in Chinese with English abstract) [李大飞(2015). 玉米螟取食与MeJA诱导双重胁迫筛选玉米内源抗虫基因(学位论文). 哈尔滨: 黑龙江大学]
- Li QL, Zhang J, Zong H, et al (2017). Tobacco resistance mechanism to insect herbivores: research progress. *J Agric*, 7 (8): 48–54 (in Chinese with English abstract) [李庆亮, 张佳, 宗浩等(2017). 烟草抗虫机制进展. *农学学报*, 7 (8): 48–54]
- Liu HJ, Liu Y, Liu L (2008). Progress of research on the influence of abscisic acid in plant resistance. *Biotechnol Bull*, (6): 7–9 (in Chinese with English abstract) [刘红娟, 刘洋,

- 刘琳(2008). 脱落酸对植物抗逆性影响的研究进展. 生物技术通报, (6): 7-9]
- Lu LT, Chen JT, Huang YQ, et al (2005). Preliminary study of trait variations in the progenies of inbred maize lines \times *Zea luxurians*. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 25 (9): 1751-1755 (in Chinese with English abstract) [芦立婷, 陈景堂, 黄亚群等(2005). 玉米自交系 \times 大白草远缘杂交后代性状变异研究初探. 西北植物学报, 25 (9): 1751-1755]
- Meng X, Zhang S (2013). MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Ann Rev Phytopathol*, 51 (1): 245-266
- Qi JF, Sun GL, Wang L, et al (2016). Oral secretions from *Mythimna separate* insects specifically induce defense responses in maize as revealed by high-dimensional biological data. *Plant Cell Environ*, 39: 1749-1766
- Qin JJ, Sun CY, Zhang MP, et al (2018). Classification, function and evolution of plant UDP-glycosyltransferase. *Genom Applied Biol*, 37 (1): 440-450 (in Chinese with English abstract) [秦晶晶, 孙春玉, 张美萍等(2018). 植物UDP-糖基转移酶分类、功能以及进化. 基因组学与应用生物学, 37 (1): 440-450]
- Rong TZ, Li WC, Pang GT (2003). Suggestion on development of science and technology in maize genetics and breeding at the beginning of 21st century. *J Maize Sci*, (2): 42-53 (in Chinese with English abstract) [荣廷昭, 李晚忱, 潘光堂(2003). 新世纪初发展我国玉米遗传育种科学技术的思考. 玉米科学, (2): 42-53]
- Shan LH, Jiang DD, Zhao SS, et al (2018). Molecular cloning and bioinformatics analysis of cytochrome P450 oxidase gene from *Fusarium oxysporum*. *J Zhengzhou Univ (Med Sci)*, 53 (1): 34-38 (in Chinese with English abstract) [单丽红, 姜冬冬, 赵沙沙等(2018). 一株尖孢镰刀菌细胞色素P450氧化酶基因的克隆及生物信息学分析. 郑州大学学报(医学版), 53 (1): 34-38]
- Smith CM, Clement SL (2011). Molecular bases of plant resistance to arthropods. *Ann Rev Plant Biol Entomol*, 57: 309-328
- Wang XM, Yang RW, Wang C, et al (2017). Expression analysis of GmMIOX gene response to SCN stress. *Chin J Oil Crop Sci*, 39 (6): 778-784 (in Chinese with English abstract) [王学敏, 杨若巍, 王超等(2017). 大豆肌醇加氧酶基因响应线虫胁迫的表达分析. 中国油料作物学报, 39 (6): 778-784]
- Wu JQ, Baldwin IT (2010). New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Ann Rev Genetics*, 44: 1-24
- Xie HC (2014). Effect of wheat plant volatiles on aphids and associated predator behavior: selection of efficient in chemicals for field study. *Chin J Applied Entomol*, 51 (6): 1470-1478
- Zhang YY (2006). Transgenic tomato marker gene knockout and translation initiation factor 4E gene modification of plant virus resistance (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [张余洋(2006). 转基因番茄标记基因剔除及翻译起始4E基因顺化植物的病毒抗性(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Zhong R, Ye ZH (2009). Transcriptional regulation of lignin biosynthesis. *Plant Signal Behav*, 4 (11): 1028-1034
- Zhou SQ, Lou YR, Tzin V, et al (2015). Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory. *Plant Physiol*, 169 (3): 1488-1498

Different responses of maize and teosinte to armyworm based on comparative transcriptome analysis

CHEN Yun-Xiao¹, GAO Jing¹, TIAN Jing-Yun¹, ZHANG Yu-Rong¹, YANG Ya-Shu¹, YANG Li-Yan^{1,2,*}

¹College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China

²Modern College of Humanities and Sciences, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China

Abstract: To explore the different responses of maize (*Zea mays* ssp. *mays*) and teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) attacked by armyworm, we adopted RNA-Seq technology to analyze their transcriptomes. The results showed that the number of up-regulated differentially expressed gene (DEGs) after attacked by armyworm were 1 755 and 1 761 in maize and teosinte, respectively, and the down-regulated DEGs were 3 309 and 1 723, respectively. GO function and KEGG pathway analysis showed that the up-regulated DEGs in maize and teosinte were more distinct than those of down-regulated DEGs. In the maize, the up-regulated DEGs were mostly associated with photosynthesis, while in the teosinte they enriched the process of plant hormone signal transduction, linoleic acid metabolism and MAPK signaling pathway. For the down-regulated DEGs, they all dominated the processes of transcription and translation in both maize and teosinte. The results of qRT-PCR agreed with the RNA-Seq from the aspect of transcriptome, for the first time, the present study revealed that the modern cultivated maize and its wild ancestor showed significant different responses by armyworm attack.

Key words: maize (*Zea mays* ssp. *mays*); teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*); armyworm; transcriptome; insect resistance

Received 2018-06-12 Accepted 2018-11-20

This work is supported by the Basic Research Project of Modern College of Humanities and Sciences, Shanxi Normal University (2018JCYJ61) and Advantage Specialty Project of Shanxi Normal University (2017YSZY-01).

*Corresponding authors (yangswallow163@163.com).