

# 解淀粉芽孢杆菌增强燕麦干旱适生性及促生基因分析

杨雪<sup>1</sup>, 李嘉楠<sup>1</sup>, 王博<sup>1</sup>, 马慧媛<sup>1</sup>, 谢永丽<sup>2\*</sup>, 周国英<sup>1\*</sup>

1 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁

2 青海大学 农牧学院, 青海 西宁

杨雪, 李嘉楠, 王博, 马慧媛, 谢永丽, 周国英. 解淀粉芽孢杆菌增强燕麦干旱适生性及促生基因分析[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1871-1889.

YANG Xue, LI Jianan, WANG Bo, MA Huiyuan, XIE Yongli, ZHOU Guoying. *Bacillus amyloliquefaciens* enhances the drought tolerance of oat plants by regulating the expression of plant growth-promoting genes[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1871-1889.

**摘要:** 【目的】探究分离自青藏高原干旱沙地的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) DGL1 对干旱胁迫下燕麦(*Avena sativa*)的促生特性及机制, 以期为适用于干旱地区的菌肥研发提供优质菌源和理论基础。【方法】测定干旱胁迫下菌株 DGL1 对燕麦根长、株高、鲜重的促生效果, 测定燕麦在干旱胁迫下的细胞膜过氧化程度及抗氧化酶活性, 并利用高通量测序技术对菌株 DGL1 进行全基因组测序和转录组学测序。【结果】研究发现 DGL1 显著增加了干旱胁迫下燕麦的根长、株高和鲜重, 显著提高了燕麦抗氧化酶超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性, 降低了丙二醛和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量。全基因组测序表明, DGL1 具有谷胱甘肽过氧化物酶编码基因 *gpx*、甘氨酸甜菜碱转运蛋白编码基因 *OpuD*、烷基过氧化氢还原酶编码基因 *ahpF* 等与氧化应激相关的基因, 还具有 IAA 前体 L-色氨酸基因 *trpA*、*trpB*、*trpC* 等, 以及鞭毛生物合成蛋白编码基因 *FliP*、*FliQ*、*FliR* 等。此外, 通过转录组测序发现, 干旱胁迫下与根定殖相关的生物膜形成、氮磷吸收利用及物质能量代谢、生长素前体合成等相关基因均上调表达, 菌株可能通过这些途径增强了植物对干旱胁迫的耐受能力。【结论】菌株 DGL1 能够增强燕麦对干旱的适生性, 具有在旱地研发生物制剂的潜能。

**关键词:** 解淀粉芽孢杆菌; 燕麦; 干旱胁迫; 抗氧化酶; 促生活性; 促生基因

资助项目: 青海省自然科学基金团队项目(2023-ZJ-902T); 青海省科技厅应用基础研究项目(2023-ZJ-709)

This work was supported by the Team Project of Qinghai Natural Science Foundation (2023-ZJ-902T) and the Applied Basic Research Project of Qinghai Science and Technology Department (2023-ZJ-709).

\*Corresponding authors. E-mail: XIE Yongli, qhdxxyl@163.com; ZHOU Guoying, qhzhouguy@163.com

Received: 2025-08-12; Accepted: 2025-09-15; Published online: 2025-10-16

# *Bacillus amyloliquefaciens* enhances the drought tolerance of oat plants by regulating the expression of plant growth-promoting genes

YANG Xue<sup>1</sup>, LI Jianan<sup>1</sup>, WANG Bo<sup>1</sup>, MA Huiyuan<sup>1</sup>, XIE Yongli<sup>2\*</sup>, ZHOU Guoying<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai, China

<sup>2</sup> College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai, China

**Abstract: [Objective]** To investigate the growth-promoting properties and mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* DGL1 isolated from arid sandy soils of the Qinghai-Xizang Plateau on oat plants under drought stress, thus providing a high-quality microbial resource and a theoretical basis for developing microbial fertilizers suitable for arid regions. **[Methods]** The growth-promoting effects of strain DGL1 on oat root length, plant height, and fresh weight under drought stress were determined. The degree of cell membrane lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in oat plants under drought stress were measured. The genome and transcriptome of strain DGL1 were sequenced *via* high-throughput technology. **[Results]** Strain DGL1 significantly increased the root length, plant height, and fresh weight of oat plants under drought stress. It markedly elevated the activities of antioxidant enzymes [(superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT))] while reducing the content of malondialdehyde and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Genomic analysis revealed that DGL1 carried the genes related to oxidative stress (*gpx* encoding glutathione peroxidase, *opuD* encoding glycine-betaine transporter, and *ahpF* encoding alkyl hydroperoxide reductase), synthesis of the IAA precursor L-tryptophan (*trpA*, *trpB*, and *trpC*), and flagellar biosynthesis (*FliP*, *FliQ*, and *FliR*). Transcriptome sequencing further revealed that genes associated with biofilm formation, nitrogen and phosphorus uptake, material and energy metabolism, and auxin precursor synthesis—all crucial for root colonization—presented upregulated expression under drought stress. The strain might enhance plant drought tolerance *via* these pathways. **[Conclusion]** Strain DGL1 can enhance the drought tolerance of oat plants and has great potential for application in developing bio-inoculants for arid land agriculture.

**Keywords:** *Bacillus amyloliquefaciens*; oat; drought stress; antioxidant enzyme; plant growth-promoting properties; plant growth-promoting genes

燕麦(*Avena sativa*)是青藏高原高寒牧区主要的粮饲兼用作物,它不仅能为高寒牧区增加饲草产量,还能有效减少水土流失,满足生态和畜牧业发展的需求<sup>[1]</sup>。青藏高原地处世界屋脊,地形复杂,气候类型独特,年均降水量少,紫外线辐射强,常年遭受大风、雪灾等自然灾害,致使该地区极度干旱,因此干旱胁迫成为高寒

地区燕麦高产和稳产的主要限制因素<sup>[2]</sup>。据报道,干旱胁迫会严重抑制燕麦生产,特别是在关键的生长期,干旱会降低光合速率、气孔导度和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度,最终导致燕麦单株粒重、有效穗数、千粒重降低,籽粒萎缩,造成大幅度减产<sup>[3-4]</sup>。

干旱是制约作物生产的主要非生物胁迫之

一, 它通过扰乱植物细胞正常的生理代谢, 诱导产生过量的氧自由基, 导致活性氧和丙二醛(malondialdehyde, MDA)积累, 打破氧自由基产生和清除系统间的平衡, 加剧膜系统的损伤, 破坏植物体内蛋白质、脂质和核酸的结构与功能, 最终造成作物减产和品质下降<sup>[5-6]</sup>。Gui 等<sup>[7]</sup>研究表明, 干旱胁迫下小麦营养器官的干物质积累会受到显著限制, 同化物向籽粒的转运效率降低, 最终导致产量下降。为缓解干旱等非生物胁迫对作物的影响, 推动农业绿色可持续发展, 应用有益微生物已成为有效手段。耐逆微生物可通过增强植物抗氧化潜力、改善养分获取、预防植物真菌或细菌病害、调节植物激素、诱导系统抗性等多种方式, 提高植物对非生物胁迫的适应能力, 从而增加植物生物量和作物产量<sup>[8]</sup>。其中, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)具有抗逆芽胞, 能够适应低氧、强辐射、干旱、高盐碱等多种不利环境, 且具有良好的根际定殖能力, 对环境安全无害, 目前已在全球范围内实现商业应用, 因此将芽孢杆菌生物菌剂应用于农业生产符合绿色农业的发展理念<sup>[9]</sup>。

芽孢杆菌可通过多种机制增强植物对干旱胁迫的适应性。一方面, 它能增强植物的抗氧化能力, 抑制氧自由基积累, 减轻氧化应激对植物机体的损伤<sup>[10]</sup>。据报道, 接种巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*) BOFC15 可显著提高拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)生物量, 改善根系结构, 促进了光合作用, 增强了拟南芥超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性, 与未接种植物相比, 表现出更强的抗旱能力<sup>[11]</sup>。另一方面, 芽孢杆菌可通过色氨酸依赖性生物合成途径合成吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA), 刺激根细胞的增殖与伸长生长, 从而促进根系对水分和养分的获取, 增强植物对严重干旱胁迫的适应性<sup>[12]</sup>。据报道, 枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) PM49 在干旱条件下仍能高产 IAA 以此诱导根长增加, 形成深根系统以

提高水分获取<sup>[13]</sup>。此外, 芽孢杆菌还能通过提高养分利用率、诱导系统抗性提高植物的抗逆性。芽孢杆菌与植物形成良好互作关系的先决条件是细菌具有根定殖能力, 芽孢杆菌通过周生鞭毛进行明显的游泳和群移运动, 这对根系定殖、生物膜形成、芽胞形成等具有重要作用<sup>[14]</sup>。据报道, 枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)的鞭毛基因 *hag* 和鞭毛运动编码基因 *motA* 突变后会导致枯草芽孢杆菌无法定殖根部<sup>[15]</sup>, 这表明鞭毛运动是定殖过程所必需的。因此, 优良的定殖能力与多重抗逆机制的协同作用, 使芽孢杆菌成为增强作物抗旱性和推动农业可持续发展的重要微生物资源。

随着第三代测序技术的不断发展, 利用核苷酸序列进行功能组学的研究, 能够系统挖掘其特定功能基因, 解析生物体内基因的表达调控机制, 进而为菌剂研发提供精确指导。课题组前期对青海高原多个典型生境进行根际促生菌的分离及筛选, 发现 DGL1 具有固氮、溶磷能力, 能够分泌胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)、1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC), 展现出优异的促生活性<sup>[16-17]</sup>。因此, 本研究用 DGL1 菌悬液对不同干旱胁迫下的燕麦进行灌根处理, 通过测定燕麦幼苗生长指标、植物组织丙二醛含量、抗氧化酶活性、过氧化氢浓度, 探究芽孢杆菌 DGL1 增强燕麦干旱适生性的情况, 并对菌株 DGL1 进行基因组及转录组学测序, 解析菌株的功能序列, 探究菌株在干旱条件下与促生及抗逆相关的功能基因及其表达模式, 以期适用于干旱地区菌肥的研发提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

菌株 DGL1 源自海拔 3 010 m 的青海省海西蒙古族藏族自治州大格勒乡干旱沙地白刺根际

土壤。燕麦‘青燕1号’由青海省畜牧兽医科学院提供。

## 1.2 干旱胁迫下接种菌剂对燕麦生长指标的测定

将消毒后的种子(20株/盆)播于穴盆(营养土:蛭石=1:1,体积比),在光照培养箱中培养至种子发芽(25℃,16h光照/8h黑暗)。取30mL浓度为 $10^6$  CFU/mL的DGL1菌悬液(将培养过夜的DGL1菌体用无菌水悬浮制备成菌悬液)进行灌根<sup>[18]</sup>。培养10d后,分别采用15%、25%PEG-6000模拟干旱胁迫<sup>[19]</sup>。共设置6个处理组,每个处理重复3次。A:对照组(Control);B:中度胁迫处理组,采用15%PEG-6000处理;C:重度胁迫处理组,采用25%PEG-6000处理;D:菌液组(DGL1);E:中度胁迫处理+菌液,菌液+15%PEG-6000;F:重度胁迫处理+菌液,菌液+25%PEG-6000。处理10d后,采集植物样品测定根长、株高、鲜重等生理指标。

## 1.3 干旱胁迫下 DGL1 对燕麦生理指标测定

取0.1g燕麦叶片组织冰浴匀浆后,采用CheKine™微量法试剂盒[亚科因(武汉)生物技术有限公司]进行过氧化氢含量、丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的测定,详细操作步骤见说明书。

## 1.4 全基因组测序分析

将培养12h的菌体经液氮速冻后收集,纯化DGL1基因组DNA,送至上海美吉生物科技有限公司。采用二代+三代即Illumina+PacBio的测序方式开展细菌基因组完成图的测序,构建基因组测序文库。在后续分析中采用Circos绘制基因组圈图,采用Blast2GO<sup>[20]</sup>、KEGG<sup>[21]</sup>和eggNOG<sup>[22]</sup>进行基因功能的注释。

## 1.5 菌株 DGL1 转录组学测序分析

将菌株DGL1接种于20mL LB液体培养基

(对照组)和含15%PEG-6000的LB培养基的三角瓶中,37℃、200r/min条件下培养6h,4℃、4000r/min离心5min取菌体,液氮冷冻后放置-80℃超低温冰箱。使用TRIzol®试剂[生工生物工程(上海)股份有限公司]提取解淀粉芽孢杆菌DGL1的总RNA,送至上海美吉生物医药科技有限公司进行转录组测序,使用TruSeq™ RNA Sample Prep Kit(Illumina公司)进行RNA文库构建,将mRNA随机断裂成200bp左右的小片段,反转录合成双链cDNA,然后消除cDNA第二链,使文库中只包含cDNA的第一链,最后使用Illumina HiSeq×Ten进行RNA-seq双端测序。

## 1.6 差异表达基因分析

将拼接好的数据剪切后得到的高质量reads,将每个样本中的高质量reads与参考基因组进行对比(参考基因组已上传至NCBI,登录号为CP05539)。用FPKM方法衡量表达水平,以正常LB培养基培养的DGL1为对照(LB),在15%PEG-6000干旱胁迫下培养的DGL1为试验组(LP),对2组样本进行差异表达分析,显著性标准为 $P\text{-adjust}<0.05$ 、 $|\log_2 \text{fold change}|\geq 1$ ,基于差异基因表达数据库GO(<http://geneontology.org/>)和KEGG(<https://www.kegg.jp/>)寻找干旱胁迫相关表达基因。

## 1.7 实时荧光定量逆转录 PCR 分析

为了验证RNA-seq数据,以芽孢杆菌编码基因16S rRNA为内参基因,挑选基体杆状结构蛋白编码基因*flgC*、亚硝酸还原酶编码基因*nasD*、6-磷酸-β-葡萄糖苷酶编码基因*BglA*、磷酸盐ABC转运蛋白编码基因*PatA*(LP vs. LB)分别进行实时荧光定量逆转录PCR(real-time RT-PCR, RT-qPCR)分析,利用PerIPrimer软件设计引物,序列如表1所示。按照1.5节方法提取DGL1在干旱下条件和对照组的总RNA,然后将其反转录为cDNA模板。RT-qPCR反应体系(25μL): 2×Universal Blue SYBR Green qPCR

**表1 RT-qPCR引物序列**

Table 1 Primer sequences for RT-qPCR

Genes	Primer sequences (5'→3')
16S rRNA gene	Forward: TACGGYTACCTTGTTACGACTT Reverse: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG
<i>flgC</i>	Forward: CGAGAGCGAAGCAGGTAAAT Reverse: GCTTCCTGTTCCGTTTCATCT
<i>nasD</i>	Forward: CGGTGAAACAGTCATCAAAGTC Reverse: CCCGGAATCGGAAGGATAAA
<i>BglA</i>	Forward: ATTGACCCGACCGGTTTAC Reverse: TGAACCGTCCTTCTAATGTG
<i>Pata</i>	Forward: CGAAGGGAAGAGACATCAATCC Reverse: TCTTCAGCCAGCATCACATC

Master Mix 12.5 μL, 上、下游引物(2.5 μmol/L)各 1.0 μL, DNA 模板 1.0 μL, ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL。PCR 反应条件: 95 °C预变性 5 min; 95 °C变性 30 s, 60 °C退火 30 s, 72 °C延伸 90 s, 共 35 个循环; 72 °C终延伸 10 min。每次 PCR 分析重复 3 次, 利用相对定量法 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 分析基因的相对表达量。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫下菌株 DGL1 对燕麦生长效应的影响

如表 2 所示, 随着胁迫强度的增加, 燕麦根长先升高后下降, 低浓度的干旱胁迫可促进燕麦根系的伸长生长。在不同处理条件下, 菌株 DGL1 均显著提高了燕麦的根长, 在无胁迫、中度胁迫、重度胁迫处理组中根长分别提高了 55.50%、46.12%、58.14%; 随着胁迫强度的增加, 燕麦株高逐渐降低, 在无胁迫处理和重度胁迫处理条件下, 菌株 DGL1 显著提高了燕麦的株高, 分别提高 16.54%、34.89%; 在重度胁迫下, 菌株 DGL1 虽提高了燕麦的株高, 但差异并不显著。随着干旱程度的增加, 燕麦的鲜重也随之降低, 菌株 DGL1 显著提高了燕麦的鲜重, 在无胁迫、中度胁迫、重度胁迫处理组中鲜重分别提高了 31.03%、23.81%、

**表2 干旱胁迫下DGL1对燕麦促生活性**

Table 2 The effect of DGL1 on oat probiotic activity under drought stress

Treatment	Average root length (cm)	Average plant height (cm)	Fresh weight (g)
No stress	7.91±1.13bc	17.90±1.11b	0.29±0.02b
No stress+DGL1	12.30±2.09a	20.86±1.97a	0.38±0.03a
Moderate stress	9.41±0.83b	14.42±1.99c	0.21±0.02c
Moderate stress+DGL1	13.75±1.14a	16.73±1.14bc	0.26±0.03b
Severe stress	5.47±0.82c	10.72±0.75d	0.14±0.02d
Severe stress+DGL1	8.65±1.49b	14.46±0.63c	0.19±0.03c

Values are presented as mean±SD. The letters marked after the data of different groups indicate the statistical significance difference markers for that group of data.

35.71%。因此, 菌株 DGL1 能够促进燕麦在干旱胁迫下生长。

### 2.2 干旱胁迫下 DGL1 对燕麦生理生化的影响

#### 2.2.1 干旱胁迫下 DGL1 对燕麦膜脂过氧化的影响

随着干旱胁迫强度的不断增加, 燕麦 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量呈现不断增加的趋势。菌株 DGL1 能够显著降低燕麦 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量, 在无胁迫处理时 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量由 662.85 nmol/g 降低至 557.07 nmol/g, 降低了 15.96%; 在中度干旱胁迫时接种菌株 DGL1, 燕麦 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量由 1 096.78 nmol/g 降低至 847.11 nmol/g, 降低了 22.76%; 在重度干旱时接种菌株 DGL1, 燕麦 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量由 1 368.85 nmol/g 降低至 964.49 nmol/g, 降低了 29.54% (图 1C)。这说明在干旱胁迫下接种 DGL1 的燕麦与对照组相比生长效果更好, 氧化应激损伤较小。随着干旱胁迫强度的不断增加, 燕麦丙二醛含量呈现不断增加的趋势。菌株 DGL1 能够显著降低干旱胁迫下燕麦丙二醛的含量, 在无胁迫处理时菌株 DGL1 虽降低了燕麦丙二醛含量, 但差异并不显著; 在中度干旱胁迫时接种菌株 DGL1, 燕麦丙二醛含量由 34.15 nmol/g 降低至

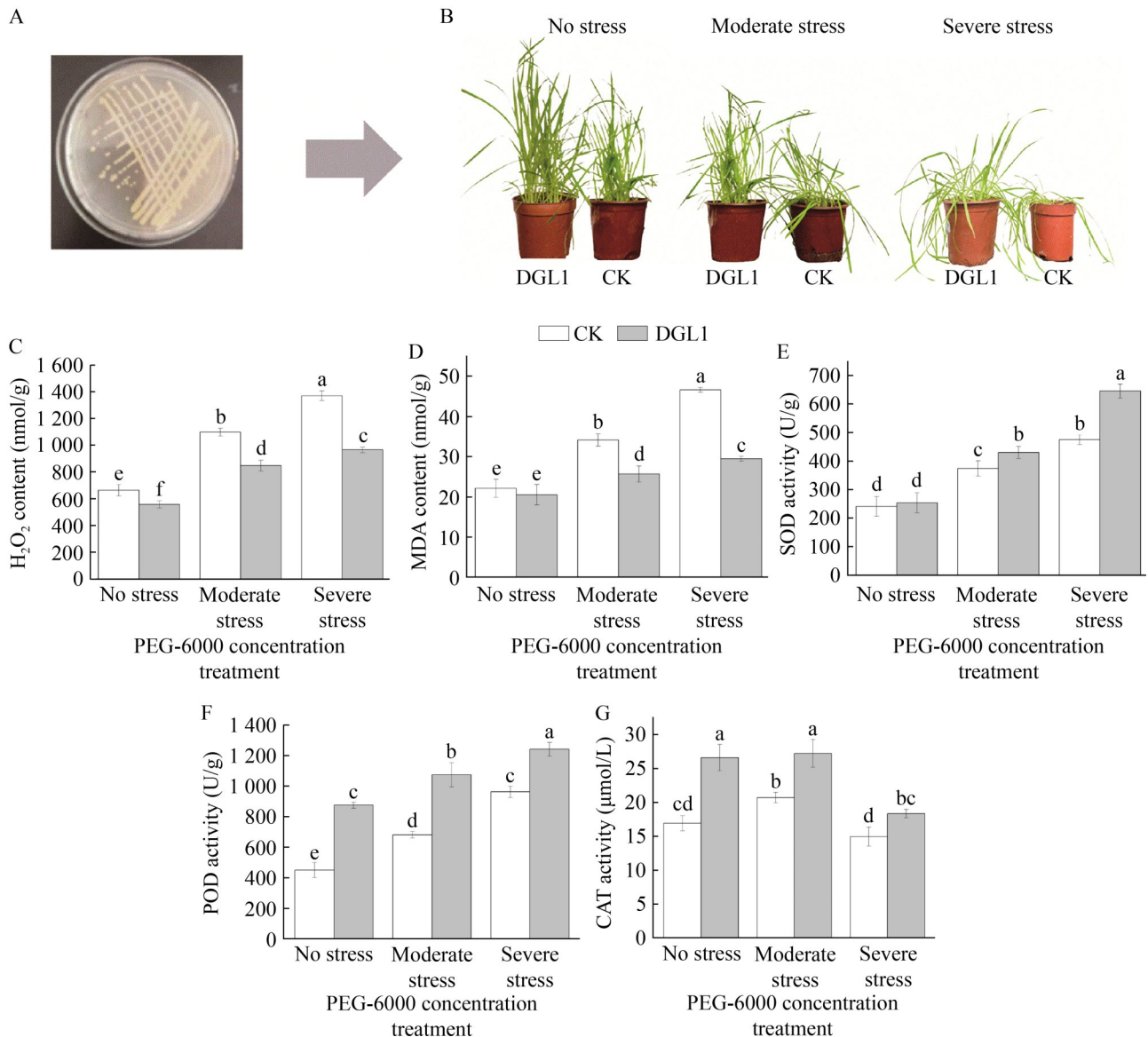


图1 菌株DGL1在干旱胁迫下促燕麦幼苗生长生理特性

Figure 1 Physiological characteristics of oat seedling growth promoted by strain DGL1 under drought stress. A: Growth period of strain DGL1 in culture medium; B: Effect of DGL1 inoculation on plant growth under drought stress; C: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content; D: Malondialdehyde content; E: SOD content; F: POD content; G: CAT content. Different lowercase letters indicate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

25.71 nmol/g, 降低了 24.71%; 在重度干旱时接种菌株 DGL1, 燕麦丙二醛含量由 46.63 nmol/g 降低至 29.53 nmol/g, 降低了 36.67%。这说明接种 DGL1 能够缓解干旱胁迫对燕麦细胞膜的损伤(图 1D)。

## 2.2.2 干旱胁迫下 DGL1 对燕麦氧化酶活性的影响

随着干旱胁迫强度的不断增加, 燕麦 SOD 含量呈现不断增加的趋势。菌株 DGL1 能够增加燕麦 SOD 的含量, 在无胁迫处理条件下, 接

种菌株 DGL1 较对照组, 燕麦 SOD 含量小幅上升但差异并不显著; 在中度干旱胁迫条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 SOD 含量由 373.18 U/g 增加至 429.65 U/g, 增加了 15.13%; 在重度干旱条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 SOD 含量由 474.70 U/g 增加至 644.52 U/g, 增加了 35.77% (图 1E)。这表明在干旱胁迫下, 接种菌株 DGL1 能够显著提高燕麦 SOD 含量。随着干旱胁迫强度的不断增加, 燕麦 POD 含量呈现不断上升的趋势。在不同处理条件下, 菌株 DGL1 均能够显著增加燕麦 POD 的含量, 在无胁迫处理条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 POD 含量由 451.33 U/g 增加至 875.67 U/g, 增加了 94.02%; 在中度干旱胁迫条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 POD 含量由 681.33 U/g 增加至 1 074.00 U/g, 增加了 57.63%; 在重度干旱条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 POD 含量由 962.67 U/g 增加至 1 241.33 U/g, 增加了 28.95% (图 1F)。随着干旱胁迫强度的不断增加, 燕麦 CAT 含量呈现先上升再下降的趋势。菌株 DGL1 能够显著增加燕麦 CAT 的含量, 在无胁迫处理条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 CAT 含量由 16.92  $\mu\text{mol/L}$  增加至 26.58  $\mu\text{mol/L}$ , 增加了 57.09%; 在中度干旱胁迫条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 CAT 含量由 20.70  $\mu\text{mol/L}$  增加至 27.20  $\mu\text{mol/L}$ , 增加了 31.40%; 在重度干旱条件下接种菌株 DGL1, 燕麦 CAT 含量由 14.96  $\mu\text{mol/L}$  增加至 18.34  $\mu\text{mol/L}$ , 增加了 22.59% (图 1G)。

## 2.3 全基因组测序及相关功能基因分析

### 2.3.1 基因组的基本特征

DGL1 的染色体为一条长 3 915 550 bp 的环状结构, 基因的平均 G+C 含量为 47.27%, 预测编码基因 3 972 个, 基因总长度为 3 483 438 bp (图 2)。采用 GO、KEGG 和 COG 数据库对细菌基因组进行快速注释, 分别注释到 2 926、

2 160、2 970 个编码基因。DGL1 基因组序列已上传至 NCBI, 登录号为 CP05539。

### 2.3.2 抗逆相关功能基因

通过基因组分析发现, DGL1 具有氧化应激相关基因, 包括谷胱甘肽过氧化物酶编码基因 *gpx*、烷基过氧化氢还原酶编码基因 *ahpF*、过氧化氢酶编码基因 *katE*, 这些基因编码的蛋白质作为氧化剂的清除剂, 能够帮助 DGL1 减缓氧自由基对细胞的损伤。甘氨酸甜菜碱转运蛋白编码基因 *OpuD* 能够帮助细菌从外界吸收离子或通过生物合成来维持胞内的高渗透压, 以帮助细胞适应胁迫环境。同时, 还筛选出冷休克蛋白编码基因 *cspA*、热休克蛋白编码基因 *HtpG*, 这些基因的存在能帮助菌株 DGL1 更好地适应不同的生境。细胞色素 P450 编码基因 *pksS* 能够帮助细菌转化各种生物活性物质, 具有为机体提供能量、维持调节等重要作用。此外, DGL1 基因组还具有亚精胺合成相关基因, 即 N1-乙酰基转移酶编码基因 *speG* 及亚精胺合酶编码基因 *speE*。

### 2.3.3 促生相关基因

DGL1 可能通过诱导 IAA 合成相关的多个信号转导途径, 促进燕麦在干旱胁迫下的生长发育。研究发现, 在菌株 DGL1 中筛选到参与 IAA 前体色氨酸合成的编码基因, 包括 *trpA* (色氨酸合成酶  $\alpha$  亚基)、*trpB* (色氨酸合成酶  $\beta$  亚基)、*trpC* (吲哚-3-甘油磷酸合成酶)、*trpD* (邻氨基苯甲酸磷酸核糖转移酶)、*trpE* (邻氨基苯甲酸合成酶)、*trpF* (磷酸核糖邻氨基苯甲酸异构酶)、*trpS* (色氨酸-tRNA 连接酶)。另外, 发现多条色氨酸合成 IAA 途径的多个编码基因, 如在 IpyA (吲哚丙酮酸) 途径中筛选到参与吲哚丙酮酸脱羧反应的磷酸吡哆醛依赖性氨基转移酶编码基因 *patB*、*bioA*, 以及在 TAM (色胺) 途径中参与色氨酸脱羧反应的脱羧酶编码基因 *padC*、*yclB*; 同时, 在 IPyA 途径和 TAM 途径中筛选到吲

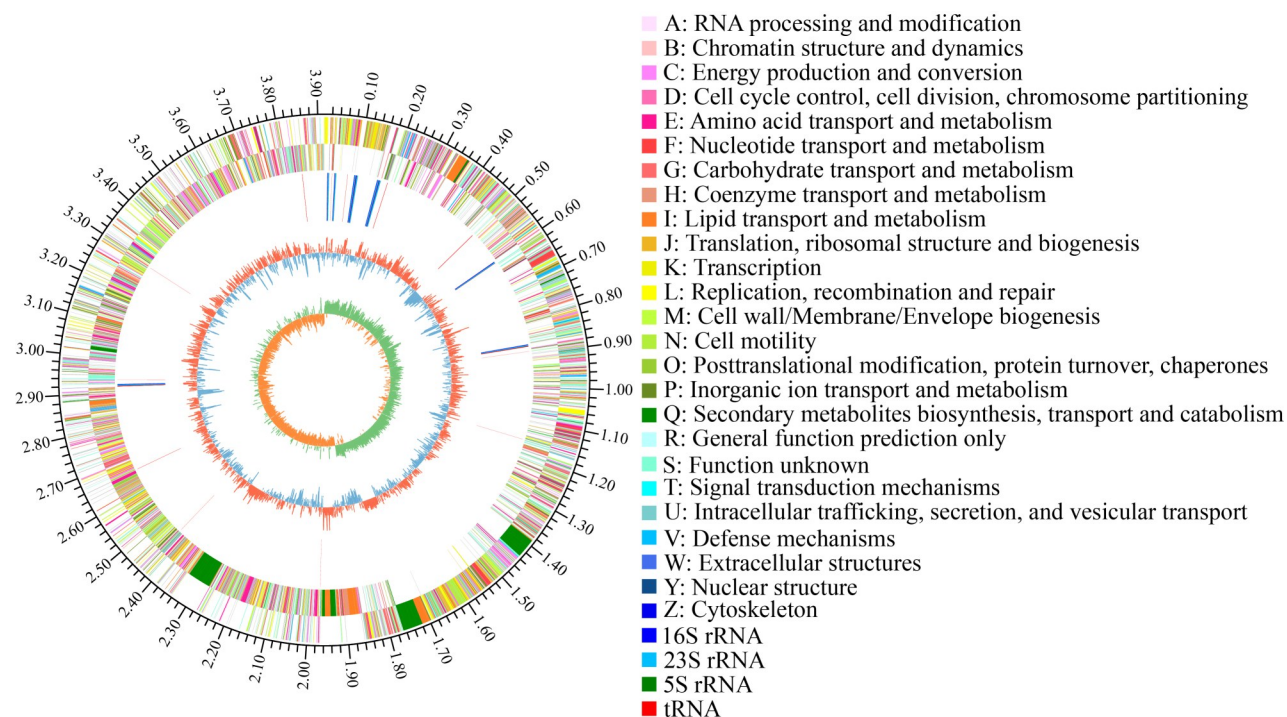


图2 Circos基因组圈图

Figure 2 Circos genomic circle diagram. The outermost circle of the circular map indicates the genome size; The second and third circles represent the CDS (coding sequences) on the positive strand and negative strand respectively, where different colors correspond to different COG (clusters of orthologous groups) functional categories of the CDS; The fourth circle shows rRNA (ribosomal RNA) and tRNA (transfer RNA); The fifth circle represents the G+C content.

啉-3-乙醛脱氢酶编码基因 *aldX*、*dhaS*；在 IAN (吡啉-3-乙腈)途径中筛选出脲化酶基因 *yhcX*；在非色氨酸依赖途径中筛选到色氨酸乙酰转移酶基因 *ysnE*。

### 2.3.4 定殖相关基因

DGL1 可能通过形成生物膜提高燕麦对干旱胁迫的抵抗能力。研究发现 DGL1 的基因组存在 48 个与细胞运动相关的基因，包括编码鞭毛丝形成的基因 *FlhD*、*FlgK*、*FlgL*、*Hag*，其中主丝蛋白编码基因 *Hag* 是鞭毛组装必需基因，基体由 4 种杆状结构蛋白编码基因 *FlgB*、*FlgC*、*FlgG*、*FlgF* 组成。此外，还包括鞭毛马达蛋白编码基因 *MotA*、*MotB*，以及鞭毛生物合成蛋白编码基因 *FliP*、*FliQ*、*FliR*、*FlhB*、*FlhA*。生物

膜主要由胞外多糖和蛋白质组成，基因组分析发现，菌株 DGL1 存在多糖生物合成编码基因、纤维素合酶编码基因 *bcsA*、生物膜形成主要调控因子 *sinR*、邻氨基苯甲酸合酶编码基因 *trpE*、感应蛋白激酶 *kinB*、调控基因 *spo0A*、*spo0F*、*degU*、*degS* 等。

## 2.4 菌株 DGL1 转录组学测序

### 2.4.1 测序数据统计与评估

本研究共检测到 3 697 个表达基因，其中已知表达基因 3 657 个，新表达基因 33 个，表达 smallRNA 7 个。6 组样本的 clean data 均达到 3.07 Gb 以上，Q30 碱基百分比在 94.62% 以上，表明数据测序错误率较低，测序质量较好(表 3)。使用 SeqPrep 软件去除接头序列、低

表3 过滤后的reads质量统计

Table 3 Filtered reads quality statistics

Sample names	Raw reads	Raw Q20 (%)	Raw Q30 (%)	Clean reads	Clean Q20 (%)	Clean Q30 (%)
LB1	23 663 774	97.89	94.40	23 486 790	98.21	94.85
LB2	22 515 572	97.92	94.49	22 344 858	98.25	94.95
LB3	22 665 050	97.90	94.39	22 498 388	98.23	94.85
LP1	21 062 896	97.78	94.18	20 876 862	98.16	94.72
LP2	23 555 686	97.97	94.64	23 370 582	98.30	95.12
LP3	23 641 926	97.71	94.07	23 360 338	98.13	94.62

LB represents strain DGL1 cultured in LB normal medium (control group), LP represents strain DGL1 cultured in LB medium containing 15% PEG-6000 (drought stress group), and each treatment group was replicated three times.

质量及含 N 过多的 reads 后, 组装得到基因组大小为 3 915 550 bp, 含有 3 731 个 CDS, G+C 含量为 46.47%。将 UniGene 比对到六大功能数据库进行功能注释, 最终分别有 3 711 个 (NR: 99.46%)、3 507 个 (Swiss-Prot: 94.00%)、3 128 个 (COG: 83.84%)、2 374 个 (KEGG: 63.63%)、2 841 个 (GO: 76.15%) 以及 3 393 个 (Pfam: 90.94%) 基因获得功能注释(图 3A)。

#### 2.4.2 基因表达量统计

利用 FPKM 法计算 6 个样本中基因的表达, 根据表达量信息, 采取盒形图展示样品基因表达量分布的整体水平(图 3B), 表明各样本基因表达的整体水平较为一致。使用 DESeq2 软件对比较组间表达差异的基因/转录本进行统计分析, 默认参数:  $P\text{-adjust} < 0.05$ 、 $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ , 以在 LB 培养基中的芽孢杆菌 DGL1 为对照, 筛选出在干旱胁迫下芽孢杆菌 DGL1 发生差异性表达的基因。结果表明, 相较于 CK 对照组, 芽孢杆菌 DGL1 共有 224 个基因发生上调表达, 300 个基因发生下调表达(图 3C、3D)。

#### 2.4.3 互作不同时间点的 GO 富集分析

对于干旱胁迫组 LP 与 CK 对照组间的表达基因进行 GO 功能富集分析。在生物学过程中, 基因显著富集于新 IMP 生物合成过程、嘌呤核苷酸代谢过程、IMP 代谢过程相关; 在细胞组分中, 基因显著富集于硝酸还原酶复合物、外部封装

结构、氧化还原酶复合物相关; 在分子功能过程中, 基因显著富集水解酶活性、转运体活性相关(图 4A)。

#### 2.4.4 KEGG 富集分析

对于干旱胁迫组 LP 与 CK 对照组间的表达基因进行 KEGG 功能富集分析。结果表明, 差异表达基因显著富集于非核糖体肽结构、组氨酸代谢、淀粉和蔗糖代谢、细菌趋化性、鞭毛组装、嘌呤代谢、色氨酸代谢、ABC 转运、氮代谢(图 4A)。

#### 2.4.5 基因本体论(gene ontology, GO)功能分类分析

根据差异基因检测结果, 本研究对差异表达基因进行 GO 功能分类。对于干旱胁迫组与 CK 对照组的差异表达基因进行 GO 功能分析, 在分子功能中筛选到与 ATP 结合相关基因 49 个, 跨膜转运蛋白活性相关基因 23 个, 金属离子结合相关基因 23 个; 在细胞组分中筛选到与膜的组成部分相关基因 127 个, 与质膜相关基因 59 个, 与细胞质相关基因 36 个; 在生物学过程中, 筛选到与碳水化合物代谢过程相关基因 12 个, 从头开始的 IMP 生物合成过程相关基因 12 个, 蛋白水解相关基因 10 个(图 4C)。

#### 2.4.6 促生相关差异基因分析

在生物膜合成途径中 DGL1 在干旱胁迫下与鞭毛组件合成编码基因均上调表达, 包括基

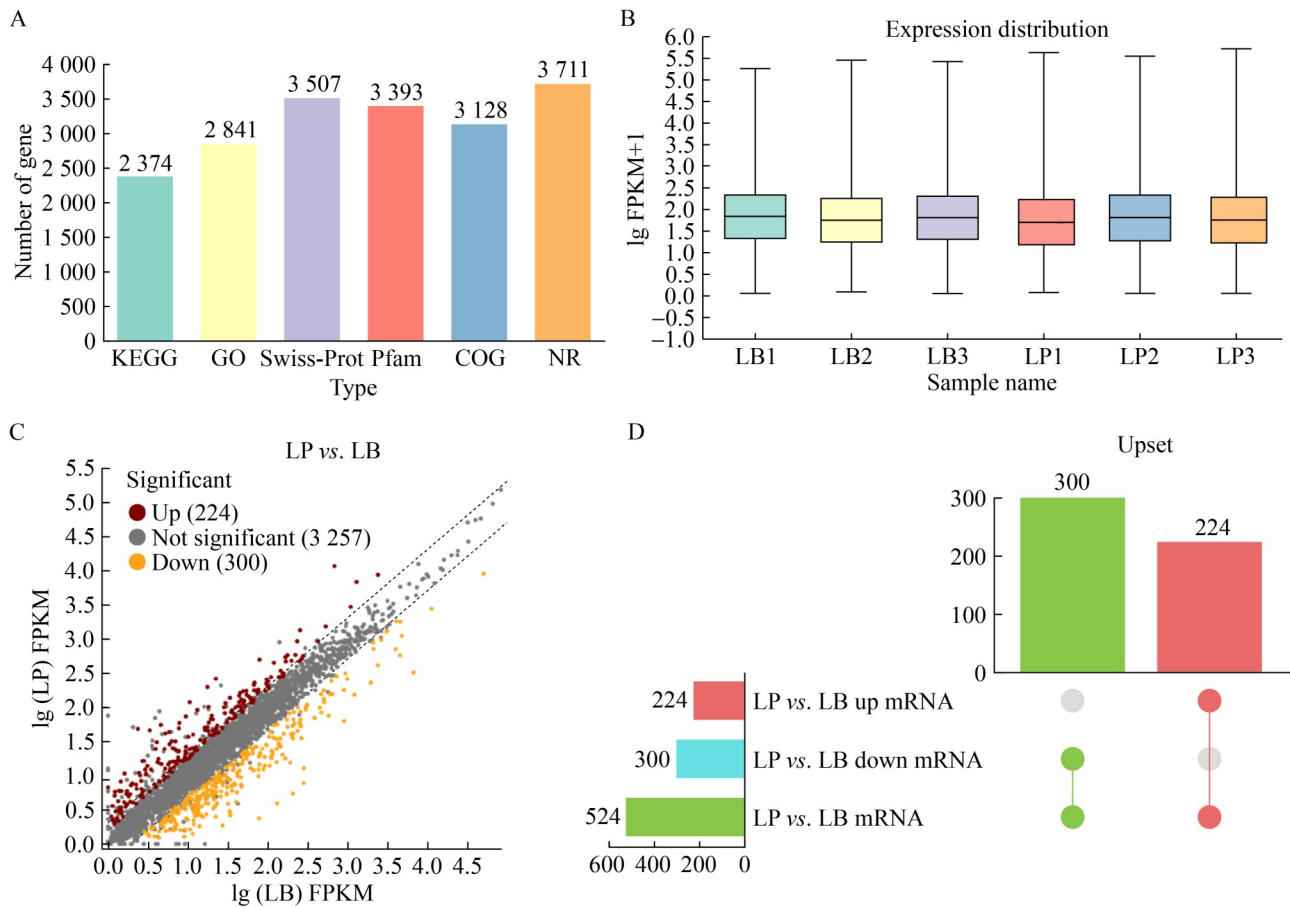


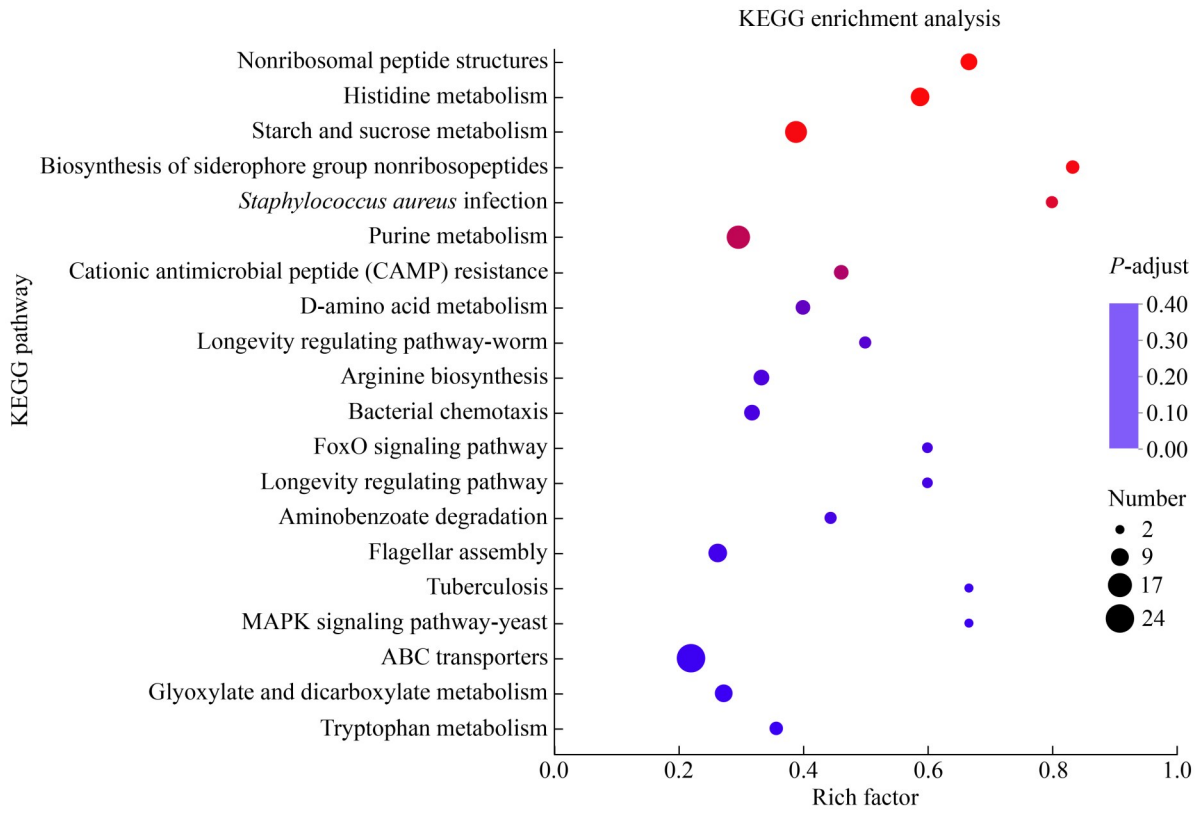
图3 差异基因统计分析

Figure 3 Statistical analysis of differentially expressed genes (DEGs). A: Gene annotation result diagram; B: Box plot of gene expression levels; C: Volcano plot of DEGs (differentially expressed genes), where the abscissa is the fold change of expression, the ordinate is the  $P$  value, red dots represent significantly up-regulated genes, yellow dots represent significantly down-regulated genes, and gray dots represent non-significant genes; D: Upset plot of differentially expressed genes, with red representing up-regulation, blue representing down-regulation, and green representing the total number of differentially expressed genes.

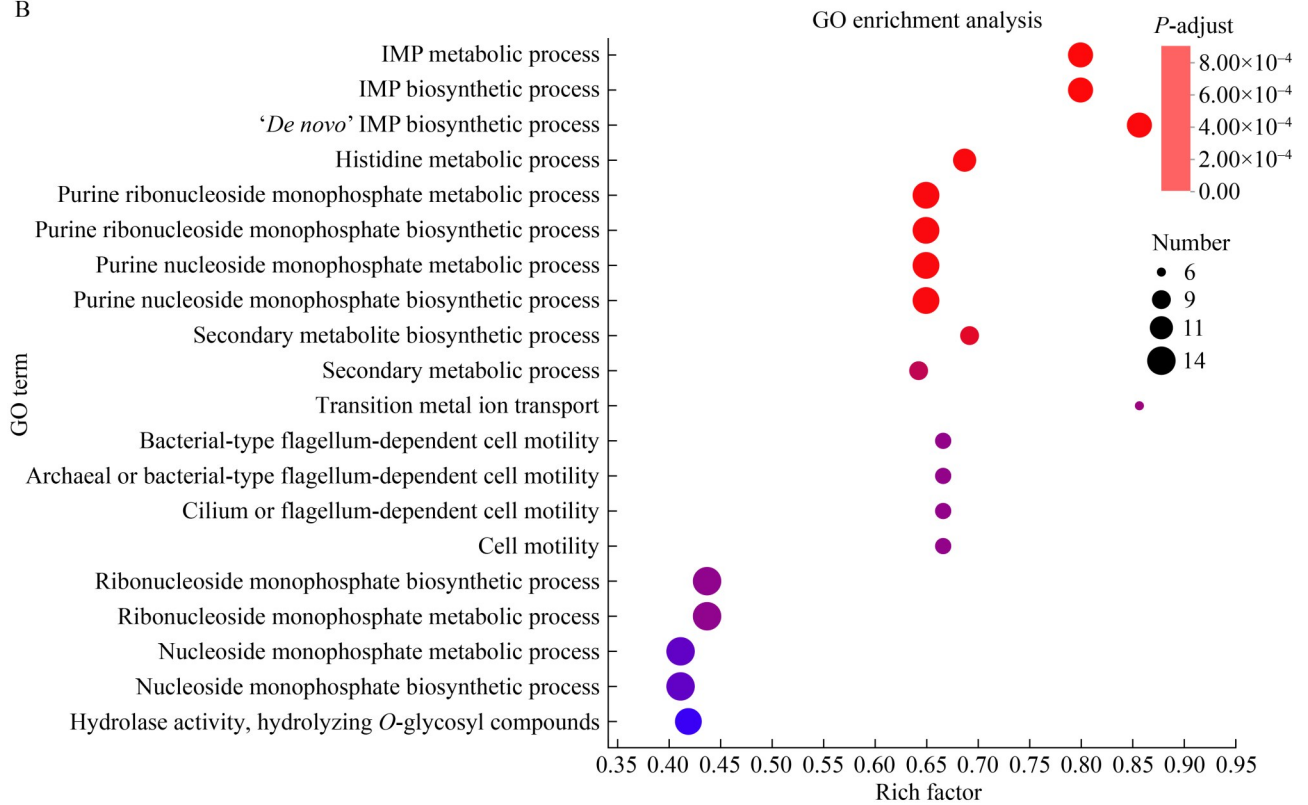
体杆状结构蛋白编码基因 *FlgB*、*FlgC*，鞭毛生物合成蛋白编码基因 *FliY*、*FliH*、*FliG*、*FliF*、*FliE*、*FliJ*、*FliI*。此外，ABC 转运蛋白、单糖转运蛋白、多糖、脂多糖生物合成和转运相关的蛋白质，如纤维二糖转运蛋白、亚纤维素酶家族糖基水解酶、6-磷酸- $\beta$ -葡萄糖苷酶、蔗糖-6-磷酸水解酶等多个基因均上调表达，可能促进干旱胁迫下的生物膜形成和根定殖。

通过转录组分析发现，在干旱胁迫下菌株 DGL1 的氮代谢通路中参与硝酸盐还原、氨同化过程的硝酸盐转运蛋白编码基因 *NarK* 上调表达 2.1 倍，硝酸还原酶编码基因 *narG* 上调表达 1.2 倍，*narI* 上调表达 1.6 倍，*narH* 上调表达 1.7 倍，亚硝酸还原酶编码基因 *nasD* 上调表达 2.0 倍，亚硝酸盐还原酶编码基因 *nirB* 上调表达 1.4 倍。这些基因的差异性表达可能提高了植物

A



B



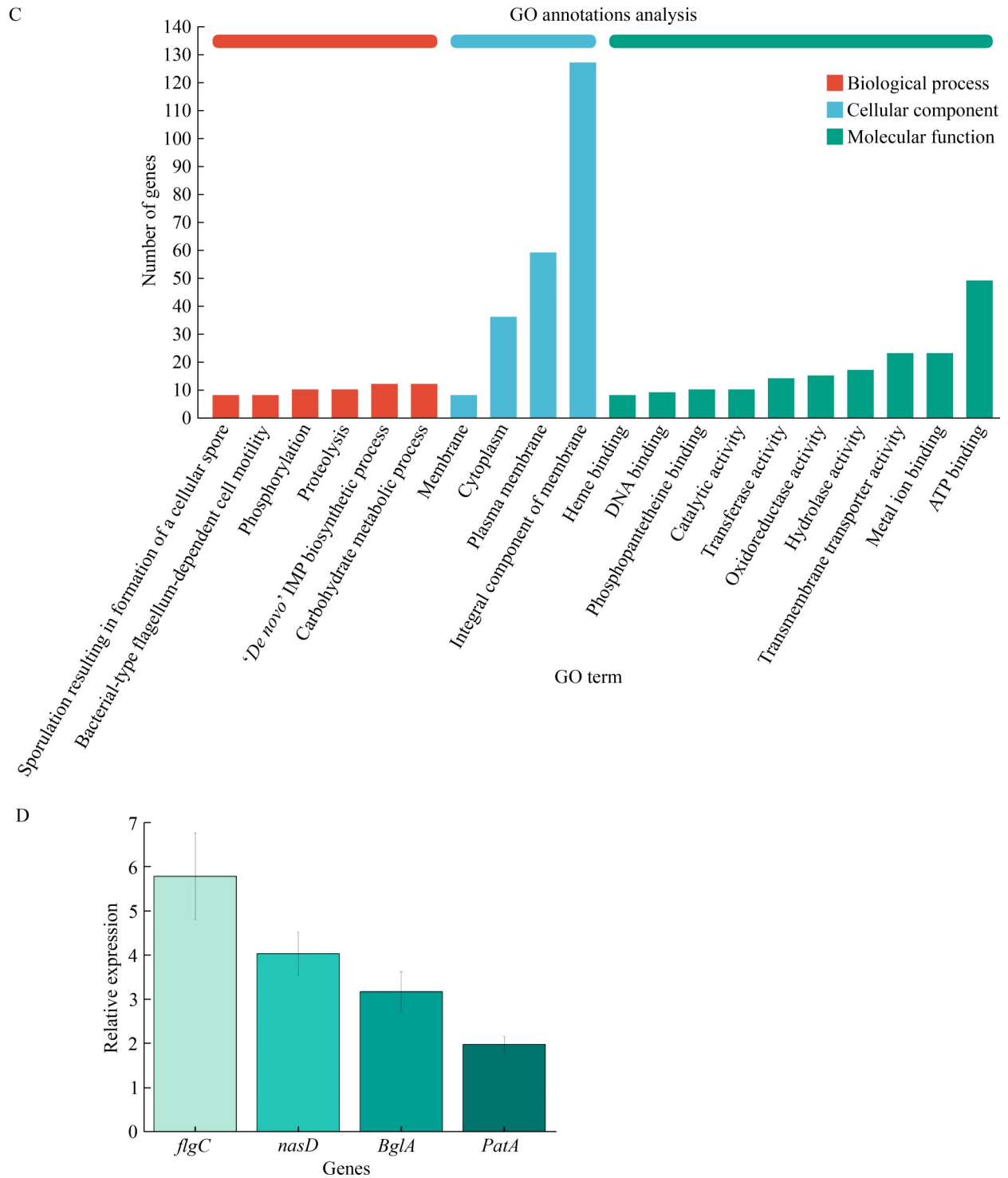


图4 差异基因功能分类分析

Figure 4 Functional classification analysis of differentially expressed genes (DEGs). A: KEGG functional classification between the drought stress group (LP) and the control group (CK); B: GO functional enrichment results of DEGs; C: GO functional classification result diagram; D: qRT-PCR.

对氮素的吸收利用。在细菌中主要由磷酸盐特殊转运系统(phosphate specific transport, Pst)和磷酸盐转运系统(Pi transport, Pit)完成对无机磷酸盐(inorganic phosphates, Pi)的吸收和利用。通过转录组分析发现,在干旱胁迫下,菌株 DGL1 的 Pst 编码基因 *PstA*、*PstB*、*PstC* 及磷酸盐 ABC 转运蛋白编码基因 *PatA* 均显著上调表达,分别上调 4.6、3.4、3.8、4.6 倍。干旱胁迫下,菌株 DGL1 转录组发现磷酸戊糖途径代谢中参与异构化反应不可或缺的 6-磷酸己酮糖异构酶 *hclB*、葡萄糖脱氢酶编码基因 *gdh*、NADP 依赖性葡萄糖磷酸脱氢酶编码基因 *gndA*、6-磷酸己酮糖合成酶编码基因 *hxlA*、葡萄糖酸激酶编码基因 *gntK* 均上调表达,分别上调 3.2、3.1、1.5、1.2、3.2 倍。

在有机酸代谢途径中天冬氨酸激酶编码基因、组氨酸脱氢酶编码基因 *hisD*、丝氨酸羟甲基转移酶编码基因 *glyA* 均上调表达,有机酸代谢对微生物的生长和代谢具有重要影响,菌株 DGL1 在干旱胁迫下可能通过有机酸代谢途径为微生物提供生命活动的能量。在色氨酸代谢途径中细胞色素 P450 编码基因显著上调表达,色氨酸作为吲哚乙酸的前体物质对植物的生长具有促进作用。在糖酵解途径中 NADP 依赖性醇脱氢酶编码基因上调表达 1.5 倍、二氢脂酰脱氢酶编码基因 *ipdA* 上调表达 1.4 倍、6-磷酸- $\beta$ -葡萄糖苷酶编码基因 *licH* 上调表达 1.5 倍、6-磷酸- $\beta$ -葡萄糖苷酶编码基因 *bglA* 上调表达 2.8 倍,因此推测菌株 DGL1 在干旱胁迫下诱导了糖酵解信号转导途径,从而释放更多的能量维持正常的生命活动(表 4)。

#### 2.4.7 实时荧光定量 PCR 验证

利用实时荧光定量 PCR 技术检测基体杆状结构蛋白编码基因 *flgC*、亚硝酸还原酶编码基因 *nasD*、6-磷酸- $\beta$ -葡萄糖苷酶编码基因 *BglA*、磷酸盐 ABC 转运蛋白编码基因 *PatA* 在干旱胁迫

下的表达模式(图 4D),结果表明 4 个基因均呈现上调表达趋势,与 RNA-seq 结果一致,证明了测序数据的可靠性。

### 3 讨论

植物能够耐受一定限度内的水分胁迫,超过该限度,产量会严重下降。有报道称芽孢杆菌能够通过提高植物抗氧化酶活性、产 IAA、固氮等多个途径增强植物的耐逆性,且对环境安全无污染,有助于农业实现可持续发展<sup>[23]</sup>。本研究测定了 DGL1 在干旱胁迫下对燕麦的促生活性,研究发现菌株 DGL1 显著提高了燕麦的根长和鲜重。在无胁迫处理和重度胁迫处理条件下,菌株 DGL1 显著提高了燕麦的株高;在中度胁迫下,菌株 DGL1 虽提高了燕麦的株高,但差异并不显著。综上所述,菌株 DGL1 能够增强燕麦的干旱适生性,这些结果与邢媛<sup>[24]</sup>、张顺顺等<sup>[25]</sup>、Batool 等<sup>[26]</sup>的研究结果一致,即芽孢杆菌能够增强番茄和马铃薯的耐旱性,提高植物产量。

SOD、POD 和 CAT 是清除 ROS 的主要酶,这些抗氧化酶存在于植物细胞的不同位置,并协同清除机体的 ROS<sup>[27]</sup>。干旱胁迫能够改变植物抗氧化酶的活性,本研究发现干旱胁迫下,燕麦抗氧化酶 SOD、POD 活性随着干旱程度的加重均呈现逐渐上升的趋势,CAT 活性呈现先上升后下降的现象,说明燕麦在一定胁迫范围内可以通过激活自身抗氧化酶防御系统,增强植物自身抗性,维护膜系统的稳定性。菌株 DGL1 处理后,无胁迫和干旱胁迫条件下燕麦抗氧化酶活性均显著提高,说明 DGL1 能减轻燕麦膜脂过氧化程度,进而提高燕麦对干旱的适应性。燕麦随着干旱胁迫的加重,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 MDA 含量随之升高,表明 PEG-6000 模拟干旱胁迫对燕麦的细胞膜系统造成不同程度的伤害,干旱胁迫下接种 DGL1 导致燕麦 MDA 含量、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

表4 促生差异基因

Table 4 Differentiation-promoting genes

Metabolic pathway	Genes	LB vs. LP
Biofilm synthesis	Genes encoding basal body rod structure proteins ( <i>FlgB</i> , <i>FlgC</i> ), and genes encoding flagellar biosynthesis proteins ( <i>FliY</i> , <i>FliH</i> , <i>FliG</i> , <i>FliF</i> , <i>FliE</i> , <i>FliJ</i> , <i>FliI</i> ); Cellobiose transporters; Subcellulase family glycoside hydrolases; 6-phospho- $\beta$ -glucosidase; Sucrose-6-phosphate hydrolase	Up-regulated expression
Nitrogen fixation	Synthesis pathway genes encoding nitrate transporter ( <i>NarK</i> ), genes encoding nitrate reductase ( <i>narG</i> , <i>narI</i> , <i>narH</i> ), gene encoding nitrite reductase ( <i>nasD</i> ), gene encoding nitrite reductase ( <i>nirB</i> )	Up-regulated expression
Phosphate-specific transport system	Pst-encoding genes ( <i>PstA</i> , <i>PstB</i> , <i>PstC</i> ); Phosphate ABC transporter-encoding gene ( <i>PatA</i> )	Up-regulated expression
Pentose phosphate pathway	Hexulose-6-phosphate isomerase-encoding gene ( <i>hclB</i> ); NADP-dependent gluconate-6-phosphate dehydrogenase-encoding gene ( <i>gndA</i> ); Hexulose-6-phosphate synthase-encoding gene ( <i>hxlA</i> ); Gluconate kinase-encoding gene ( <i>gntK</i> )	Up-regulated expression
Organic acid metabolism pathway	Aspartate kinase-encoding gene; Histidine dehydrogenase-encoding gene ( <i>hisD</i> ); Serine hydroxymethyltransferase-encoding gene ( <i>glyA</i> )	Up-regulated expression
Tryptophan metabolism pathway	Cytochrome P450-encoding gene	Up-regulated expression
Glycolytic pathway	NADP-dependent alcohol dehydrogenase-encoding gene; Dihydropyridyl dehydrogenase-encoding gene ( <i>ipdA</i> ); 6-phospho- $\beta$ -glucosidase-encoding gene ( <i>licH</i> ); 6-phospho- $\beta$ -glucosidase-encoding gene ( <i>bglA</i> )	Up-regulated expression

显著降低，表明芽孢杆菌 DGL1 能够减轻干旱下氧自由基对燕麦细胞的损伤，该结果与张妙玲<sup>[28]</sup>关于解淀粉芽孢杆菌提升紫花苜蓿抗氧化能力、缓解氧化损伤的发现高度一致，进一步阐明了 DGL1 通过强化植物内源抗氧化系统增强燕麦干旱适应性的机制。

吲哚乙酸(IAA)作为信号分子，参与调控植物生长发育的诸多方面。它通过改善植物根系的发育，增加根系表面积，促进植物更好地吸收水分和养分，从而导致植物产量的增加<sup>[29]</sup>。有益微生物能够通过产生植物激素直接影响植物，或通过诱导宿主信号传导间接发挥作用，从而参与调控植物对逆境胁迫的响应。当植物暴露在干旱胁迫时其体内生长素的合成、代谢、

运输和活性会发生改变，研究发现在干旱胁迫下，植物生长素反应因子(ARF)直接与生长素响应基因的启动子结合，激活下游信号通路，进而增强植物的抗旱性，该研究结果已在番茄中得到验证，其抗旱能力显著提升<sup>[30]</sup>。此外，Armada 等<sup>[31]</sup>发现苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)可以通过合成 IAA 促进薰衣草(*Lavandula*)和鼠尾草(*Salvia officinalis*)侧根和根毛的生长，从而提高吸水能力和抗旱性。色氨酸是色氨酸依赖途径中 IAA 生物合成的关键前体，细菌合成的 IAA 除了调节自身生理功能外，还作为信号转导分子参与微生物与植物的相互作用，据报道从伊朗中部沙漠分离出的根际促生菌可以产生 IAA，增强了玉米和小麦种子在

萌发过程中的耐盐性<sup>[32]</sup>。本研究通过基因组分析发现, DGL1 具有参与 IAA 前体 L-色氨酸合成的编码基因 *trpA*、*trpB*、*trpC*、*trpD*、*trpE*、*trpF*、*trpS*、*patB*, 以及吲哚-3-丙酮酸途径的关键酶吲哚-3-丙酮酸脱羧酶编码基因 *ipdC*。此外, 从菌株 DGL1 中筛选到多条色氨酸合成 IAA 途径的多个编码基因, 包括在 IPyA 途径中磷酸吡哆醛依赖性氨基转移酶编码基因 *patB*、*bioA*; TAM 途径中的脱羧酶编码基因 *padC*、*yclB*; IPyA 和 TAM 途径中吲哚-3-乙醛脱氢酶编码基因 *aldX*、*dhaS*; IAN 途径中的脲化酶基因 *yhcX* 以及非色氨酸依赖途径合成途径中的色氨酸乙酰转移酶基因 *ysnE*。转录组测序表明, 在色氨酸代谢途径中细胞色素 P450 编码基因在干旱胁迫下显著上调表达, 色氨酸作为吲哚乙酸的前体物质, 不仅对植物的生长具有促进作用, 而且有报道称吲哚作为细胞间信号分子可通过对芽孢形成、耐药性、生物膜形成发挥重要作用从而影响微生物群落<sup>[33]</sup>。因此推测 DGL1 能够通过多条途径合成 IAA, 诱导植物 IAA 合成信号转导途径, 促进燕麦根系发育, 增强燕麦对干旱胁迫适应性。

鞭毛运动对于细菌在植物根部的定殖、生物膜形成以及与宿主互作过程至关重要。其中, 生物膜的形成成为细菌提供了保护, 使其免受各种环境胁迫的伤害。同时, 生物膜可促进细菌在植物根系的定殖, 提高植物对逆境胁迫的抵抗能力<sup>[34]</sup>。基因组分析发现, DGL1 存在 48 个与细胞运动相关的基因, 包括编码鞭毛丝形成的基因 *FilD*、*FlgK*、*FlgL*、*Hag*, 基体由 4 种杆状结构蛋白编码基因 *FlgB*、*FlgC*、*FlgG*、*FlgF* 组成, 鞭毛马达蛋白编码基因 *MotA*、*MotB*, 以及鞭毛生物合成蛋白编码基因 *FliP*、*FliQ*、*FliR*、*FlhB*、*FlhA*。据报道, 固氮弓菌 (*Azoarcus* sp.) BH72 突变体因鞭毛合成受损导致根系定殖能力大幅减弱<sup>[35]</sup>。因此, 推测芽孢杆

菌 DGL1 可能通过群移运动增强根系定殖能力。细菌附着于植物根系后会形成成熟的生物膜, 生物膜成为抵御外部有害刺激的物理屏障。生物膜主要由多糖、水和蛋白质等组成, 基因组分析发现菌株 DGL1 存在多糖生物合成编码基因、纤维素合酶编码基因 *bcsA*、生物膜形成主要调控因子 *sinR*、邻氨基苯甲酸合酶组分 1 编码基因 *trpE*、感应蛋白激酶 *kinB*、调控基因 *spo0A*、*spo0F*、*degU*、*degS* 等, 揭示其具备合生物膜主要成分及调控生物膜形成的分子基础。通过转录组分析发现, DGL1 在干旱胁迫下与鞭毛组件合成相关的编码基因均上调表达, 包括基体杆状结构蛋白编码基因 *FlgB*、*FlgC*, 鞭毛生物合成蛋白编码基因 *FliY*、*FliH*、*FliG*、*FliF*、*FliE*、*FliJ*、*FliI*。这也说明干旱条件下菌株仍具有产 IAA 活性。此外, ABC 转运蛋白、单糖转运蛋白、多糖、脂多糖生物合成和转运相关的蛋白质, 如纤维二糖转运蛋白、亚纤维素酶家族糖基水解酶、6-磷酸- $\beta$ -葡萄糖苷酶、蔗糖-6-磷酸水解酶等多个基因均上调表达, 这些基因促进干旱胁迫下的生物膜形成和根定殖。由此可以推断, DGL1 诱导根系定殖, 进而增强寄主植物对干旱胁迫的耐受性。因此, 推断 DGL1 能够通过形成生物膜, 提高燕麦对干旱胁迫的抵抗能力。

通过基因组分析发现, DGL1 具有氧化应激相关基因, 包括谷胱甘肽过氧化物酶编码基因 *gpx*、甘氨酸甜菜碱转运蛋白编码基因 *OpuD*、烷基过氧化氢还原酶编码基因 *ahpF*、过氧化氢酶编码基因 *katE*。这些蛋白作为氧化剂的清除剂, 能够帮助 DGL1 减缓氧自由基对细胞的损伤, 提高其对干旱胁迫的适应能力。同时, 还筛选出低亲和性钾转运蛋白编码基因 *mscL*、*putP*, 冷休克蛋白编码基因 *cspA*, 热休克蛋白编码基因 *HtpG* 以及细胞色素 P450 编码基因 *pksS*, 这些基因的存在有助于菌株 DGL1 在干旱

胁迫下更好地生存, 促进细菌的生长繁殖及次生代谢物生产。此外, DGL1 基因组还具有亚精胺合成相关基因, 即 N1-乙酰基转移酶编码基因 *speG*、亚精胺合酶编码基因 *speE*。亚精胺是细菌主要合成的多胺类物质, 据报道, 芽孢杆菌产生的亚精胺能够提高植物的耐旱性, 还对生物膜形成起至关重要的作用<sup>[36]</sup>。

据报道, 细菌的 Pst 系统能够通过改变磷酸酶的活性影响微生物的溶磷作用, 加速分解土壤中植物难以吸收利用的含磷有机化合物, 促进磷素释放, 从而提高植物体内磷素的含量<sup>[37]</sup>。此外, 磷酸盐转运系统对细菌生物膜形成和黏附性具有重要作用。Liang 等<sup>[38]</sup>报道, 克罗诺杆菌(*Cronobacter sakazakii*) BAA-894 中缺失 *pst* 操纵子的突变体  $\Delta pst$  在低磷酸盐培养基中生长的细胞表现出更强的自聚集性、更少的生物膜形成和更高的黏附能力。本研究发现菌株 DGL1 显著上调了 Pst 编码基因 *PstA*、*PstB*、*PstC* 的表达, 推测干旱胁迫下 DGL1 激活了磷酸盐转运信号转导通路, 从而提高了干旱条件下芽孢杆菌的溶磷能力, 增强了植物对可溶性磷酸盐的吸收和利用。土壤微生物积极参与生物地球化学氮循环, 促进农业生态系统中植物氮的获取。氮代谢是微生物代谢的核心, 它通过行使复杂的内部调控网络使细菌能够自主地对不同的外部氮环境作出反应, 保持理想状态, 绝大多数芽孢杆菌能够在固氮酶作用下将  $N_2$  转化为生物可利用的  $NH_3$ , 以此提高作物对氮素的吸收利用<sup>[39]</sup>。Li 等<sup>[40]</sup>报道, 在土壤中施用菌剂后, 土壤速效氮(46.7%)和速效磷(88.6%)显著增加。此外, 参与氮循环的关键基因 *amo*、*hao* 和 *nar* 显著上调表达, 受刺激的土壤微生物有助于增强养分转化, 最终改善植物生长, 显著增加养分可用性。通过转录组分析发现, 在干旱胁迫下菌株 DGL1 的氮代谢通路中参与硝酸盐还原、

氨同化过程的硝酸盐转运蛋白编码基因 *NarK* 表达上调 2.1 倍、硝酸还原酶编码基因 *narG* 表达上调 1.2 倍、*narI* 表达上调 1.6 倍、*narH* 表达上调 1.7 倍、亚硝酸还原酶编码基因 *nasD* 表达上调 2.0 倍、亚硝酸盐还原酶编码基因 *nirB* 表达上调 1.4 倍。这些基因的差异性表达可能提高了植物的对氮素的吸收利用。因此, 菌株 DGL1 可能在干旱胁迫下通过氮代谢途径为植物提供营养物质, 促进植物生长发育。

磷酸戊糖途径是细胞内主要能量来源, 产生的 NADPH 不仅参与 DNA 合成、电子传递等多个过程, 而且 NADPH 可作为还原剂清除细胞内产生的氧自由基, 保护细胞免受氧化损伤, 同时磷酸戊糖途径的产物包括 5-磷酸核糖、5-磷酸木酮糖、6-磷酸果糖等也会参与氨基酸代谢等多个生物化学过程<sup>[41]</sup>。在本研究中干旱胁迫下的菌株 DGL1 参与磷酸戊糖途径中的编码基因 *hclB*、*gntK*、*gdh*、*gndA*、*hxlA* 均表达上调, 因此菌株 DGL1 可能在干旱胁迫下通过磷酸戊糖途径增强其代谢通量, 产生更多的还原力 NADPH, 增加的 NADPH 对于清除干旱胁迫诱导产生的活性氧(ROS)至关重要, 可有效缓解氧化应激对菌体造成的损伤。此外在有机酸代谢途径中的 *hisD*、*glyA*, 以及糖酵解途径中的 *ipdA*、*licH*、*bglA* 等基因均表达上调, 表明菌株 DGL1 在干旱胁迫下诱导了糖酵解信号转导途径, 释放更多能量维持正常生命活动。

本研究筛选出的芽孢杆菌 DGL1 展现出显著的植物抗逆性与促生潜能, 是一种极具开发前景的优质微生物菌剂。为推动其实际应用, 后续研究应着重评估 DGL1 在真实田间环境下的定殖效率与效应稳定性, 同时深入解析其代谢物组成及其与植物互作的分子调控网络, 为应用提供坚实的理论基础。

## 4 结论

芽孢杆菌 DGL1 能够促进燕麦在干旱条件下的根长、株高和鲜重。与未接种处理组相比, DGL1 能够显著提高燕麦在干旱胁迫下的抗氧化酶活性, 降低了 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量, 表明 DGL1 增强了燕麦的干旱适生性。结合基因组与转录组分析发现, DGL1 具备多重功能机制, 可通过多条途径合成 IAA, 促进燕麦根系发育; 借助鞭毛运动与生物膜形成增强根系定殖能力; 通过激活磷酸戊糖途径、氮代谢及磷酸盐转运系统等, 提升自身在干旱环境中的生存能力与养分供给效率。同时, 其基因组中含有的氧化应激相关基因及亚精胺合成基因也为增强植物抗逆性提供了支撑。这些结果共同揭示了芽孢杆菌 DGL1 增强高寒牧草燕麦干旱适生性的综合作用机制, 不仅为旱区农业微生物制剂的研发提供了优质菌种资源, 更为其实际应用奠定了重要的理论与实验基础。

### 作者贡献声明

杨雪: 方法论、数据收集与监管、数据分析、验证、撰写文章; 李嘉楠、王博、马慧媛: 数据分析; 谢永丽、周国英: 获取基金、提供资源、监督管理、审阅。

### 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

### 参考文献

- [1] 段连学, 马祥, 琚泽亮, 贾志锋. 高寒地区氮肥减量分期施用对燕麦生物量及氮肥利用率的影响[J]. 草地学报, 2024, 32(10): 3185-3193.  
Duan LX, Ma X, Ju ZL, Jia ZF. Impact of reduced and split nitrogen fertilization on oat biomass and nitrogen use efficiency in Alpine regions[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(10): 3185-3193 (in Chinese).
- [2] 崔灏, 韦刚健. 青藏高原周缘始新世—渐新世气候转换期风化演变及其对全球及区域气候环境变化的响应[J]. 地学前缘, 2025, 32(3): 274-287.
- [3] Zhang XJ, Liu WT, Lv YC, Li TL, Tang JZ, Yang XH, Bai J, Jin X, Zhou HT. Effects of drought stress during critical periods on the photosynthetic characteristics and production performance of Naked oat (*Avena nuda* L.)[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 11199.
- [4] Warzecha T, Bocianowski J, Warchoł M, Bathelt R, Sutkowska A, Skrzypek E. Effect of soil drought stress on selected biochemical parameters and yield of oat × maize addition (OMA) lines[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(18): 13905.
- [5] 时晓蕊, 洪旭, 朱文彬. 多种干旱指数对我国主粮作物水分亏缺的适用性及应用[J]. 应用生态学报, 2025, 36(4): 1135-1146.  
Shi XR, Hong X, Zhu WB. Applicability and application of multiple drought indices to water deficit of staple crops in China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2025, 36(4): 1135-1146 (in Chinese).
- [6] 汤东, 程平, 杨建军, 李宏, 孙建文, 王凯. 天山北坡山前植物对干旱胁迫的生理响应[J]. 干旱区研究, 2021, 38(6): 1683-1694.  
Tang D, Cheng P, Yang JJ, Li H, Sun JW, Wang K. Physiological responses of plants to drought stress in the Northern Piedmont, Tianshan Mountains[J]. Arid Zone Research, 2021, 38(6): 1683-1694 (in Chinese).
- [7] Gui YW, Sheteiwy MS, Zhu SG, Zhu L, Batool A, Jia TT, Xiong YC. Differentiate responses of tetraploid and hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) to moderate and severe drought stress: a cue of wheat domestication[J]. Plant Signaling & Behavior, 2021, 16(1): 1839710.
- [8] Liu H, Wang ZG, Xu WH, Zeng J, Li LX, Li SL, Gao Z. *Bacillus pumilus* LZP02 promotes rice root growth by improving carbohydrate metabolism and phenylpropanoid biosynthesis[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions®, 2020, 33(10): 1222-1231.
- [9] Blake C, Christensen MN, Kovács ÁT. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions®, 2021, 34(1): 15-25.
- [10] Murali M, Singh SB, Gowtham HG, Shilpa N, Prasad M, Aiyaz M, Amruthesh KN. Induction of drought tolerance in *Pennisetum glaucum* by ACC deaminase producing PGPR-*Bacillus amyloliquefaciens* through Antioxidant defense system[J]. Microbiological Research, 2021, 253: 126891.
- [11] Zhou C, Ma ZY, Zhu L, Xiao X, Xie Y, Zhu J, Wang JF. Rhizobacterial strain *Bacillus megaterium* BOFC15 induces cellular polyamine changes that improve plant growth and drought resistance[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 976.

- [12] Zhou H, Ren ZH, Zu X, Yu XY, Zhu HJ, Li XJ, Zhong J, Liu EM. Efficacy of plant growth-promoting bacteria *Bacillus cereus* YN917 for biocontrol of rice blast[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 684888.
- [13] Rukh M, Khan J, Bibi N, Khan M, Paker NP, Rehman FU, Chaudhary HJ. Characterization of *Bacillus subtilis* PM49 and its role in drought stress amelioration in *Linum usitatissimum* L.[J]. *Plant and Soil*, 2025, 515(1): 325-341.
- [14] 卢惠芳, 黄健, 闵迅. 细菌的鞭毛运动及其调控机制研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(14): 2711-2716.  
Lu HF, Huang J, Min X. Research progress of bacterial flagellar motility and its regulatory mechanism[J]. *Medical Recapitulate*, 2022, 28(14): 2711-2716 (in Chinese).
- [15] Hu GH, Wang Y, Blake C, Nordgaard M, Liu X, Wang B, Kovács ÁT. Parallel genetic adaptation of *Bacillus subtilis* to different plant species[J]. *Microbial Genomics*, 2023, 9(7): 001064.
- [16] Van Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D, Thermes C. The third revolution in sequencing technology[J]. *Trends in Genetics*, 2018, 34(9): 666-681.
- [17] 杨雪, 谢永丽, 陈兰, 吴晓晖, 王添, 青丽婷, 陈海龙. 青海沙地白刺根际解淀粉芽孢杆菌 DGL1 的牧草促生活性及其基因组分析[J]. *草地学报*, 2021, 29(8): 1637-1648.  
Yang X, Xie YL, Chen L, Wu XH, Wang T, Qing LT, Chen HL. Biological activity of grass growth-promoting and genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* DGL1 isolated from the rhizosphere of *Nitraria tangutorum* of sand soil in Qinghai Province[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(8): 1637-1648 (in Chinese).
- [18] Kulkova I, Dobrzyński J, Kowalczyk P, Bełżecki G, Kramkowski K. Plant growth promotion using *Bacillus cereus*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(11): 9759.
- [19] 张礼宁, 于子雯, 郭金良, 南瑞, 姚雅鑫, 李嵩, 孙凤丽, 张超, 奚亚军. 灌浆期干旱胁迫对小麦西农 106 部分生理指标、产量及品质的影响[J]. *西北农业学报*, 2024, 33(8): 1415-1423.  
Zhang LN, Yu ZW, Guo JL, Nan R, Yao YX, Li S, Sun FL, Zhang C, Xi YJ. Effects of drought stress on some physiological indexes, yield and quality of wheat variety xinong 106 at grain filling stage[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2024, 33(8): 1415-1423 (in Chinese).
- [20] Consortium The Gene Ontology. The gene ontology in 2010: extensions and refinements[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(suppl\_1): D331-D335.
- [21] Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Furumichi M, Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(D1): D109-D114.
- [22] Galperin MY, Kristensen DM, Makarova KS, Wolf YI, Koonin EV. Microbial genome analysis: the COG approach[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2019, 20(4): 1063-1070.
- [23] Nadarajah K, Abdul Rahman NSN. The microbial connection to sustainable agriculture[J]. *Plants*, 2023, 12(12): 2307.
- [24] 邢媛. 解淀粉芽孢杆菌对马铃薯干旱胁迫的缓解效应探究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2023.  
Xing Y. Study on the alleviative effect of *Bacillus amyloliquefaciens* on drought stress in potatoes[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [25] 张顺顺, 穆文强, 尚庆茂. 基质接种贝莱斯芽孢杆菌对番茄穴盘苗耐旱性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2024(4): 100-105.  
Zhang SS, Mu WQ, Shang QM. Effect of *Bacillus velezensis* on drought tolerance of tomato plug seedlings[J]. *China Vegetables*, 2024(4): 100-105 (in Chinese).
- [26] Batool T, Ali S, Seleiman MF, Naveed NH, Ali A, Ahmed K, Abid M, Rizwan M, Shahid MR, Alotaibi M, Al-Ashkar I, Mubushar M. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 16975.
- [27] Nadarajah KK. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(15): 5208.
- [28] 张妙玲. 解淀粉芽孢杆菌对干旱胁迫下紫花苜蓿的促生作用及机理初探[D]. 太谷: 山西农业大学, 2022.  
Zhang ML. Growth promoting effect and mechanism of *Bacillus amyloliqua* on alfalfa under drought stress[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [29] Casanova-Sáez R, Mateo-Bonmatí E, Ljung K. Auxin metabolism in plants[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2021, 13(3): a039867.
- [30] Shankar A, Prasad V. Potential of desiccation-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria in growth augmentation of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1017167.
- [31] Armada E, Probanza A, Roldán A, Azcón R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 192: 1-12.
- [32] Tang JT, Li YK, Zhang LL, Mu JT, Jiang YY, Fu HL, Zhang YF, Cui HF, Yu XP, Ye ZH. Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(8): 2077.
- [33] Patten CL, Blakney AJC, Coulson TJD. Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid

- biosynthetic pathways in bacteria[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2013, 39(4): 395-415.
- [34] Colin R, Ni B, Laganenka L, Sourjik V. Multiple functions of flagellar motility and chemotaxis in bacterial physiology[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2021, 45(6): fuab038.
- [35] Shidore T, Dinse T, Öhrlein J, Becker A, Reinhold-Hurek B. Transcriptomic analysis of responses to exudates reveal genes required for rhizosphere competence of the endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(10): 2775-2787.
- [36] Hobley L, Li B, Wood JL, Kim SH, Naidoo J, Ferreira AS, Khomutov M, Khomutov A, Stanley-Wall NR, Michael AJ. Spermidine promotes *Bacillus subtilis* biofilm formation by activating expression of the matrix regulator *slrR*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(29): 12041-12053.
- [37] 张鹏, 王龙, 谢明杰. PstS 和 PstB 调控无机磷酸盐转运和介导细菌耐药的机制[J]. *微生物学报*, 2019, 59(8): 1429-1436.
- Zhang P, Wang L, Xie MJ. Regulating inorganic phosphate transport and mediating bacterial resistance by PstS and PstB[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(8): 1429-1436 (in Chinese).
- [38] Liang X, Hu X, Wang X, Wang J, Fang Y, Li Y. Characterization of the phosphate-specific transport system in *Cronobacter sakazakii* BAA-894[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 123(3): 710-723.
- [39] 李怡佳, 马俊伟, 李玉倩, 沈心怡, 夏星辉. 土壤微生物群落对全球气候变化响应的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(4): 1700-1719.
- Li YJ, Ma JW, Li YQ, Shen XY, Xia XH. Responses of soil microbial community to global climate change: a review[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(4): 1700-1719 (in Chinese).
- [40] Li LZ, Hu ZR, Tan G, Fan JQ, Chen YQ, Xiao YS, Wu SL, Zhi QQ, Liu TB, Yin HQ, Tang QJ. Enhancing plant growth in biofertilizer-amended soil through nitrogen-transforming microbial communities[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1259853.
- [41] 陈宏艳, 李小二, 李忠光. 糖信号及其在植物响应逆境胁迫中的作用[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(7): 80-89.
- Chen HY, Li XE, Li ZG. Sugar signaling and its role in plant response to environmental stress[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2022, 38(7): 80-89 (in Chinese).