

不同基因型大麦苗期对干旱胁迫的响应 及 *HvPIP*s 基因表达特征分析

郝晶^{1,2},姚立蓉^{1,2},汪军成^{1,2},司二静^{1,2},杨轲^{1,2},乔岩³,
孟亚雄^{1,2},马小乐^{1,2},李葆春^{1,3},尚勋武²,王化俊^{1,2}

(1.省部共建干旱生境作物学国家重点实验室/甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室,甘肃 兰州 730070;
2.甘肃农业大学农学院,甘肃 兰州 730070;3.甘肃农业大学生命科学技术学院,甘肃 兰州 730070)

摘 要:为研究不同基因型大麦苗期对干旱胁迫的响应,挖掘优质抗旱的大麦种质资源,以 4 份不同基因型大麦(2 个高抗品种 ZDM5430 和 ZDM5458,2 个干旱敏感型品种 7DCADA 和 IL-12)为材料,利用聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱条件,综合分析不同品种大麦的苗期抗旱性差异;并通过对不同品种根系进行 *PIP*s 实时定量分析,研究水通道蛋白 *AQP*s 基因与干旱胁迫之间的应答关系。结果表明,持续干旱胁迫会使大麦生长变缓,各处理苗长、根长、叶含水量和根含水量都呈下降趋势,其中,4 个品种的大麦叶含水量在干旱胁迫 14 d 时下降最为显著,与对照相比,其降幅分别为 29.14%、52.64%、21.67%和 72.15%。干旱胁迫对大麦苗期干物质积累量和根冠比的影响较小,各处理间差异不显著;但持续干旱后,抗旱品种 ZDM5430 的根冠比呈上升趋势,在胁迫 7、14、21 d 时较 CK 分别增加了 4.92%、42.86%和 21.05%。随着胁迫时间的延长,大麦旗叶叶绿素含量和根系活力也呈下降趋势,其中 ZDM5430 和 ZDM5458 较对照组降幅较小,说明抗旱品种的形态指标、叶绿素含量及根系活力受干旱胁迫的影响较小。通过 *PIP*s 相对表达量分析发现,在相同处理条件下,4 个不同品种的大麦根系 *HvPIP*s 的变化趋势基本相似,2 个亚家族的基因在干旱胁迫后大多呈上调趋势,仅 *HvPIP1;1*、*HvPIP1;2*、*HvPIP2;1* 和 *HvPIP2;5* 有下降趋势,其中 ZDM5430 和 ZDM5458 这 2 个品种的表达量显著高于 7DCADA 和 IL-12;表明该基因参与了大麦对干旱胁迫的适应性调控过程,且其在抗旱型品种中的表达量显著高于在干旱敏感型品种中。

关键词:大麦;苗期;干旱胁迫;*HvPIP*s
中图分类号:S512.3;Q945.78 **文献标志码:**A

Response of different genotypes of barley to drought stress at seedling stage and analysis of *HvPIP*s gene expression characteristics

HAO Jing^{1,2}, YAO Lirong^{1,2}, WANG Juncheng^{1,2}, SI Erjing^{1,2}, YANG Ke^{1,2}, QIAO Yan³,
MENG Yaxiong^{1,2}, MA Xiaole^{1,2}, LI Baochun^{1,3}, SHANG Xunwu², WANG Huajun^{1,2}

(1. State key Laboratory of Aridland Crop Science, The State Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Germplasm Innovation of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 3. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: To study the response of different genotypes of barley to drought stress at seedling stage and explore the germplasm resources of high-quality drought-resistant barley, 4 batches of barley with different genotypes of 2 highly resistant varieties ZDM5430 and ZDM5458 and 2 drought-sensitive varieties 7DCADA and IL-12 were used as materials, and polyethylene glycol (PEG-6000) was used to simulate drought conditions. Differences in drought resistance at seedling stage of different varieties of barley were comprehensively analyzed. Through real-time quanti-

tative analysis of *PIPs* in the root systems of different cultivars, the response relationship between aquaporin *AQPs* genes and drought stress was studied. The results showed that barley growth was slowed down by continuous drought stress, and the seedling length, root length, leaf water content and root water content of all treatments had a downward trend. Of which the leaf water content of the four varieties decreased most significantly during drought stress for 14 days, and the decreases were 29.14%, 52.64%, 21.67% and 72.15%, respectively. The effects of drought stress on dry matter accumulation and root-shoot ratio at seedling stage of barley were small, and the differences between treatments were not significant. However, after continuous drought, the root-shoot ratio of ZDM5430 showed an upward trend, which increased by 4.92%, 42.86% and 21.05% compared with CK under stress for 7, 14 and 21 days, respectively. With the extension of stress time, the chlorophyll content and root activity of barley banner also showed a downward trend, and ZDM5430 and ZDM5458 decreased less than those in the control group, indicating that the morphological indexes, chlorophyll content and root vitality of drought-resistant cultivars were less affected by drought stress. Analyzing the relative expression of *PIPs* found that under the same treatment conditions, the change trend of *HvPIPs* in the root system of four different varieties of barley was basically similar. And most of the genes of two subfamilies showed an upward regulation trend after drought stress, and only *HvPIP1;1*, *HvPIP1;2*, *HvPIP2;1* and *HvPIP2;5* had a downward trend. The expression of ZDM5430 and ZDM5458 was significantly higher than that of 7DCADA and IL-12. The results showed that this gene was involved in the adaptive regulation of barley to drought stress, and its expression in drought-tolerant varieties was significantly higher than in drought-sensitive varieties.

Keywords: barley; seedling stage; drought stress; *HvPIPs*

干旱是长期存在的世界性难题,其导致的作物减产超过了其他因素所造成减产的总和^[1]。甘肃省是我国优质啤酒大麦的生产基地及啤酒花第二大产区,啤酒大麦是甘肃最具特色的优势酿造作物,主要分布于陇东至河西西部的广阔地带,尤其是河西走廊地区,种植面积约占我国啤酒大麦种植面积的 30%^[2],该地区属于典型的干旱、半干旱地区,水资源缺乏是制约大麦产业可持续发展的主要因素^[3]。因此,通过解析大麦的抗旱生理机制,为筛选和选育适应当地生产条件的抗旱大麦品种奠定基础迫在眉睫。

干旱胁迫对植物的影响是一个复杂的生理生化过程,植株生长情况和生理状态的变化可直接或间接反映其抗旱能力的强弱。光合能力影响作物产量和品质的提高,不同水分条件下,植株光合特性表现有所不同,而叶片叶绿素含量是直接反映植株光合能力的重要指标^[4-6]。根系是影响作物产量的重要器官^[7],是连接地上部与土壤水分、养分的桥梁,发挥着固持地上组织和汲取地下水分、养分的双重作用^[8]。通过观察植物根部形态,可以了解根系发育状况,尤其是幼苗阶段根系的形态特征可以更直观地反映植株的抗旱能力。国内外学者通过抗旱系数、抗旱指数等直接评价方法,分析了不同作物在苗期对干旱胁迫的响应指标,大致可以归纳为两类:一是根长、叶长、根冠比等形态指标,二

是根系活力、叶片相对含水量、叶绿素含量等生理生化性状^[9-10]。近年来,不少学者对大麦的抗旱生理开展了大量研究。汪军成等^[11]、杜欢等^[12]的研究表明,干旱胁迫会导致大麦幼苗生长受阻、植株矮小。徐银萍等^[13]发现,干旱胁迫后大麦叶片叶绿素含量呈明显下降趋势,在复水后存在显著的补偿效应。聂石辉^[14]的研究表明,干旱胁迫条件下大麦叶绿素 a 与叶绿素 b 的比值总体呈下降趋势,并且干旱敏感型品种下降速度高于抗旱型品种。

植物水通道蛋白(Aquaporins, AQP)又称为水孔蛋白,是位于质膜和液泡膜上运输水分及一些小分子物质的主要内在蛋白,运输底物、表达模式、修饰水平的差异以及其他基因调节的原因,使不同水通道蛋白之间产生了差异,其具有丰富性和多样性^[15-16]。目前,水通道蛋白已经在拟南芥^[17]、水稻^[18]等多种植物中被克隆鉴定。*PIPs* (Plasma membrane intrinsic proteins)是 AQP 的一类亚家族,它在植物水分调节方面起着很大作用^[19],主要分为 *PIP1* 和 *PIP2* 两个亚类,植物通过控制 AQP 的活性来抵御各种逆境胁迫,已报道的逆境胁迫因子包括干旱、冷害、高盐和淹水缺氧等非生物因子^[15]。大麦水通道蛋白 *PIPs* 研究最初发现的 10 个大麦 *PIP* 基因中,*PIP1* 和 *PIP2* 亚族各有 5 个基因,冷胁迫下 *PIPs* 基因的响应已有报道^[20],但是关于 *HvPIPs* 对干旱胁迫响应的研究还较少。

本试验通过研究4份不同基因型啤酒大麦在PEG-6000模拟干旱胁迫下形态特征和光合特性的变化,分析抗旱型材料与干旱敏感型材料对干旱胁迫响应的差异;并通过对不同抗性的大麦品种进行 *PIPs* 的实时定量分析,研究水通道蛋白 *AQPs* 基因与干旱胁迫之间的应答关系,以期为大麦苗期的抗旱育种提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

参试种质材料为对63份不同基因型啤酒大麦进行连续3年抗旱性筛选后得到的4个优质高产品种,由甘肃农业大学省部共建干旱生境作物学国家重点实验室提供。供试的63份大麦品种种植在甘肃省敦煌试验站,设干旱胁迫(土壤相对含水量为田间持水量的30%~40%)和正常灌水(土壤相对含水量为田间持水量的70%~80%)2个处理,重复3次。试验材料采用点播,行长1 m,每行30粒,每个品种3行,行距0.2 m,走道宽0.3 m,保护行宽1 m。每个小区土壤肥力中等均匀,地势平坦,灌溉方便。灌溉方式为漫灌,正常灌水试验田与干旱胁迫试验田除灌溉外其他管理措施保持一致。收获后通过对各品种大麦形态指标及籽粒品质性状进行综合分析,筛选出2个高抗品种(ZDM5430和ZDM5458)及2个干旱敏感型品种(7DCADA和IL-12)作为参试品种。

1.2 试验设计

每个品种选取饱满、大小均匀一致的种子150粒,清洗干净置于纸床发芽盒,于25℃、14 h光照/10 h黑暗气候室中培养。7 d后,将幼苗转移至白色水培箱中进行水培,水培选用霍格兰德营养液^[21],并使用氧气泵,置于25℃、14 h光照/10 h黑暗的人工气候室发育。7 d后对水培幼苗进行不同处理,干旱胁迫用PEG-6000浓度为15%的霍格兰德营养液培养,4个品种(ZDM5430、7DCADA、ZDM5458、IL-12)分别表示为T1、T2、T3、T4;对照仅用霍格兰德营养液培养,4个品种分别表示为CK1、CK2、CK3、CK4,共8个处理,各设3个重复。在水培箱中培养21 d,并分别于干旱胁迫7、14 d和21 d后取样测定各项指标。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 苗长测定 各处理选取5株长势均匀一致的大麦植株,用钢卷尺测量(精度0.1 cm)植株地上部分高度,即为苗长。

1.3.2 叶绿素含量测定 分别于干旱处理后7、14、

21 d采样,参照丁富功等^[22]方法各处理称取新鲜收集的小麦旗叶1.0 g,研磨成匀浆状后浸提、过滤、定容至25 mL,采用紫外分光光度计测定其在645 nm和663 nm波长下吸光值。试验设3个重复,每个重复测定3次,使用Amon公式计算叶绿素含量:

$$\text{叶绿素 a 含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (12.71 \times A_{663} - 2.59 \times A_{645}) \times V/W$$

$$\text{叶绿素 b 含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (22.88 \times A_{645} - 4.67 \times A_{663}) \times V/W$$

$$\text{叶绿素总含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (8.04 \times A_{663} + 20.29 \times A_{645}) \times V/W$$

式中, A_{663} 和 A_{645} 分别表示样品在645 nm和663 nm波长下吸光值, V 为提取液体积(ml), W 为叶片鲜质量(g)。

1.3.3 根系形态测定 干旱处理后7、14、21 d,各处理分别选取长势一致的3株幼苗,利用EPSON扫描仪扫描样品根系,而后用WinRHIZO Program根系分析系统进行总根长、根表面积、根体积指标的测定。

1.3.4 根系活力测定 参照朱秀云等^[23]的方法,称取根系样品0.500 g,采用氯化三苯基四氮唑法获得提取液,用分光光度计比色测定485 nm波长下光密度值,计算根系活力,公式如下:

$$C = 9.0427OD - 0.033$$

$$ACT = (C \times m) / (W \times h)$$

式中, C 为四氮唑还原量(μg), OD 为光密度值; ACT 为根系活力($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), W 为根鲜质量(g), h 为反应时间(h), m 为提取液稀释倍数。

1.3.5 相对含水量、干物质积累量和根冠比测定 各处理取3株幼苗,参照冯举伶等^[24]、马富举等^[25]的方法,用分析天平称量植株地上部鲜质量、叶鲜质量和根鲜质量后,放入烘箱中105℃杀青30 min,80℃烘干至恒重,称量其地上部干质量、叶干质量和根干质量,并计算幼苗的各器官(根、叶)相对含水量、干物质积累量和根冠比。

$$\text{相对含水量} = (\text{鲜质量} - \text{干质量}) / (\text{饱和鲜质量} - \text{干质量}) \times 100\%$$

$$\text{干物质积累量} = \text{地上部干质量} + \text{根干质量}$$

$$\text{根冠比} = \text{根干质量} / \text{地上部干质量}$$

1.4 qRT-PCR

参照周练等^[20]的方法,分别收集不同处理大麦根系并立即在液氮中冷冻,采用RNAprep Pure植物总RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)的操作说明提取大麦根总RNA并逆转录得到cDNA。设计定量引物时,参考段瑞君等^[26]的

*HvPIP*s 实时定量分析所使用的基因特异性引物(表 1)。qRT-PCR 中利用大麦 *Actin* 基因在各个 cDNA 样品中的表达量作为内参,样品间同一基因的相对

表达量通过以下公式计算: $F = 2^{-\Delta\Delta Ct}$,式中, F 为基因的相对表达量; ΔCt 为目的基因与内参基因达到设定阈值循环数的差值; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{试验组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。

表 1 qRT-PCR 中所用的特异性引物
Table 1 Gene-specific primer pairs used in qRT-PCR analysis

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence	基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence
<i>HvPIP1;1</i>	ATGGGGCAAAGGACAATGAT CATTTTAGGTCTCTGACACAC	<i>HvPIP2;1</i>	GCTAGCTTAGCAATGGCCAAGGAC GTCGGACTGGTGCTTGTACC
<i>HvPIP1;2</i>	CGCGTATTGTTTCATCAACCA GCATTGCTTACGAAAGAGAG	<i>HvPIP2;2</i>	CAGTGTCTGTGCATGCATGT GTTCAATCCAACACCAACAC
<i>HvPIP1;3</i>	TCATCGTCGACCGATCATG CATACATATGCACGCTGGAT	<i>HvPIP2;3</i>	TCCTTCGGTAGGAGCTAGA AGGCATCCAAATTCCTCAAC
<i>HvPIP1;4</i>	TTGAATGCTTTCGGTTCACG CCCACATACACCTTGAAGAT	<i>HvPIP2;4</i>	TTTCTCTACCGATCGAGTGT ATCAGATTTGCTGTGAGGGA
<i>HvPIP1;5</i>	TACCAAAGCCGATCGGAATA TGAATTACACACGAGTCT	<i>HvPIP2;5</i>	TGCAACTTCTCGACAGTTCA AATCTCTTGCTTGGCCGATT
<i>Hv-actin</i>	AAGCAGCCAGAATGTACAGCGAGAAC GGTACAGACCAGCAAAGCCAGAAATG		

1.5 数据处理与统计分析

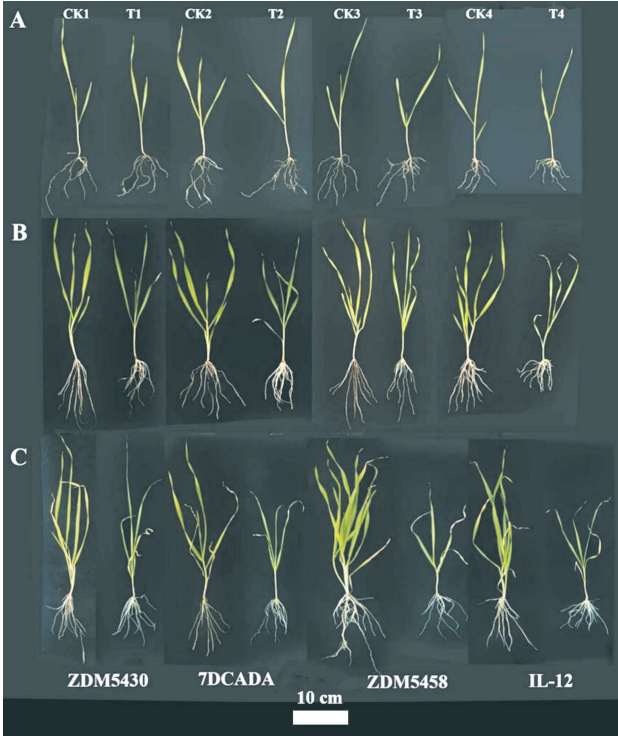
使用 Excel 2010 进行数据处理和作图,采用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗生长指标的差异

图 1 及表 2 为各处理大麦苗期植株形态变化及苗长、叶鲜质量、根鲜质量、根含水量、叶含水量、干物质积累量和根冠比的统计分析。如图 1A 所示,干旱胁迫 7 d 时,与对照相比,4 个品种的大麦生长均受到抑制,对照组与处理组之间地上部的差异比较明显,根系差异较小。由表 2 可知,干旱胁迫 7 d 时,处理组的苗长、叶鲜质量和叶含水量较对照组均有所下降,其中,T4 下降最明显,其苗长与 CK4 相比降低了 25.58%,叶鲜质量和叶含水量分别为 0.46 g 和 0.37 g,均低于其他处理;与对照组相比,处理组的根鲜质量和根含水量也呈下降趋势,且 T1 和 T3 的下降幅度明显小于 T2 和 T4;各品种胁迫处理与相应对照之间干物质积累量差异不大,仅 T2 较对照显著下降 83.3%;各品种间以及对照组与处理组之间的根冠比差异均不明显。

如图 1B 所示,干旱胁迫 14 d 时,处理与对照组之间植株形态差异明显,其中,IL-12 受干旱胁迫的影响最显著,其根长、苗长均有明显下降,其他 3 个品种的生长也受到不同程度的抑制。结合表 2 可知,干旱胁迫 14 d 时,与对照组相比,各处理的苗长均降低,T1 下降幅度最大;叶鲜质量和根鲜质量也呈下降趋势,其中 T4 分别为 0.47 g 和 0.45 g,低于



注:图 A 为干旱胁迫 7 d 的大麦形态,图 B 为干旱胁迫 14 d 的大麦形态,图 C 为干旱胁迫 21 d 的大麦形态。

Note:Figure A shows the morphology of barley under drought stress for 7 d, figure B shows the morphology of barley under drought stress for 14 d, and figure C shows the morphology of barley under drought stress for 21 d.

图 1 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗形态差异

Fig.1 Seedling morphological differences of different barley varieties under drought stress

其他处理;叶含水量和根含水量都显著降低,且品种间差异较大,其中,T3 叶含水量最大,较对照降幅最小,为 23.46%,其次为 T1,降幅为 30.80%;不同品

种间干物质积累量的差异比干旱胁迫 7 d 时更为明显,其中,T2 的干物质积累量最少。随着干旱胁迫时间的延长,各品种的根冠比较本时期的对照组均呈上升趋势,且 T2 和 T4 的增幅大于 T1 和 T3,T4 的根冠比最高,为 0.96。

如图 1C 所示,干旱胁迫 21 d 时,对照与处理组之间植株形态的差异更加显著,随着干旱胁迫时间延长,地上部叶片开始发黄,根系生长受到抑制,根系形态也发生明显变化,其中 ZDM5430 品种处理和对照的差异最小。由表 7 可知,干旱胁迫 21 d 时,除苗长和根冠比外,T1 和 T3 其余性状的表现均优于 T2 和 T4,说明干旱胁迫对大麦苗期的生长总体表现为抑制作用。

2.2 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗根系形态的差异

由表 3 可知,干旱胁迫下不同品种的大麦幼苗根系形态指标之间均有差异,随着干旱胁迫时间的延长,ZDM5430、7DCADA 和 IL-12 的总根长基本呈下降趋势,ZDM5458 的总根长则有所增加,其胁迫 7、14、21 d 的总根长分别为 0.68、0.77 和 0.76。各大麦品种根表面积总体随着干旱胁迫时间的延长呈先上升后下降的趋势,ZDM5458 根表面积增加和下降的幅度均较大,胁迫 14 d 和 7 d 之间、14 d 和 21 d 之间差值分别为 0.22 和 0.16。随干旱胁迫时间延

长,不同品种根体积变化趋势存在差异,ZDM5430 和 IL-12 的根体积均呈逐渐上升趋势,其中,ZDM5430 上升幅度最大,胁迫 21 d 较胁迫 7 d 上升 0.26;7DCADA 和 ZDM5458 的根体积则表现为先增加后下降。由此可见,随着干旱胁迫时间的延长,各品种的总根长、根表面积和根体积都发生了变化,4 个品种变化情况有所不同,除总根长部分时期略小于 ZDM5458 外,ZDM5430 的各指标值始终最高,说明干旱胁迫对该品种根系形态的影响较小。

2.3 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗叶绿素含量的差异

植物叶片叶绿素含量对光合作用有重要影响。如图 2A 所示,ZDM5458 和 ZDM5430 胁迫处理的叶片叶绿素 a 含量均随干旱胁迫时间的延长而增加,与对照组的差异也较小,7DCADA 和 IL-12 处理的叶绿素 a 含量则随干旱胁迫时间的延长呈先升高后下降的趋势,在干旱胁迫 14 d 时含量达到最大值,与对照组趋势相同,但含量低于对照组。

由图 2B 可知,干旱胁迫处理下不同大麦品种叶片叶绿素 b 含量变化存在显著差异,ZDM5430、7DCADA 和 ZDM5458 叶绿素 b 含量均随着干旱胁迫时间的增加呈现升高趋势,品种 IL-12 则呈逐渐下降趋势。其中,ZDM5430 和 ZDM5458 处理组和对照组之间的叶绿素 b 含量差异较小,而 7DCADA

表 2 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗形态指标的变化

Table 2 Changes of seedling morphological indexes of different barley varieties under drought stress

处理时间 Processing time/d	处理 Treatment	苗长 Seedling length/cm	叶鲜质量 Leaf fresh weight/g	根鲜质量 Root fresh weight/g	根含水量 Root water content/%	叶含水量 Leaf water content/%	干物质积累量 Total dry weight/g	根冠比 Root-shoot ratio
7	CK1	30.00±1.00de	1.05±0.35ab	0.59±0.05a	0.58±0.04a	0.99±0.35ab	0.08±0.01b	0.61±0.21a
	CK2	38.00±3.61b	0.76±0.12bc	0.44±0.01bc	0.41±0.01c	0.68±0.09cd	0.11±0.03a	0.59±0.10a
	CK3	42.67±2.89a	1.25±0.07a	0.57±0.09ab	0.55±0.09ab	1.14±0.06a	0.12±0.01a	0.46±0.05a
	CK4	34.67±3.21bcd	0.80±0.11b	0.46±0.07abc	0.43±0.06bc	0.73±0.09bcd	0.10±0.03ab	0.57±0.05a
	T1	30.67±0.58d	0.77±0.17bc	0.46±0.16abc	0.44±0.16bc	0.69±0.18bcd	0.09±0.02ab	0.64±0.34a
	T2	32.27±0.25cd	0.50±0.05cd	0.24±0.03d	0.22±0.03d	0.45±0.05de	0.06±0.01b	0.49±0.05a
	T3	36.67±1.53bc	0.92±0.06b	0.42±0.02c	0.39±0.02c	0.82±0.06bc	0.12±0.01a	0.46±0.04a
	T4	25.80±4.19e	0.46±0.13d	0.26±0.06d	0.24±0.06d	0.37±0.15e	0.10±0.02ab	0.60±0.24a
14	CK1	38.33±2.31c	1.93±0.07a	0.27±0.02b	0.26±0.02b	1.82±0.06a	0.13±0.01bc	0.14±0.01c
	CK2	48.83±1.89a	1.53±0.18ab	0.46±0.11b	0.44±0.11b	1.46±0.19ab	0.09±0.01cd	0.31±0.11c
	CK3	40.67±1.53c	1.93±0.19a	0.36±0.07b	0.35±0.06b	1.79±0.18a	0.15±0.02b	0.19±0.05c
	CK4	38.33±1.53c	1.87±0.57ab	0.56±0.06a	0.50±0.01a	1.78±0.56a	0.54±0.07a	0.53±0.01a
	T1	31.00±1.00e	1.36±0.23b	0.27±0.02b	0.26±0.01b	1.26±0.21b	0.12±0.02bc	0.20±0.02c
	T2	44.00±1.73b	0.70±0.09c	0.28±0.01b	0.25±0.01b	0.66±0.08c	0.07±0.00d	0.40±0.06c
	T3	38.00±2.65c	1.48±0.37ab	0.40±0.14b	0.37±0.13b	1.37±0.36ab	0.14±0.02b	0.27±0.03c
	T4	34.13±0.81d	0.47±0.07c	0.45±0.09b	0.34±0.08b	0.44±0.06c	0.15±0.01b	0.96±0.06b
21	CK1	40.33±1.53b	3.32±0.72a	1.24±0.13a	1.21±0.13a	3.10±0.66a	0.25±0.07a	0.38±0.09a
	CK2	50.00±5.00a	1.68±0.16c	0.82±0.15bc	0.79±0.14bc	1.54±0.15c	0.17±0.02bcd	0.49±0.05a
	CK3	43.67±3.06b	1.79±0.25c	0.78±0.16c	0.75±0.16c	1.65±0.26c	0.16±0.01cd	0.44±0.08a
	CK4	42.67±2.52b	2.06±0.26bc	1.03±0.10ab	1.00±0.10ab	1.90±0.27bc	0.18±0.02bcd	0.50±0.03a
	T1	39.33±3.06b	2.80±0.85ab	1.20±0.14a	1.16±0.13a	2.61±0.88ab	0.22±0.03abc	0.46±0.16a
	T2	45.00±5.00ab	1.65±0.27c	0.71±0.20c	0.69±0.20c	1.53±0.29c	0.14±0.04d	0.43±0.09a
	T3	43.50±1.32b	2.00±0.17bc	0.75±0.06c	0.72±0.06c	1.80±0.15c	0.23±0.03ab	0.38±0.04a
	T4	39.33±2.08b	1.62±0.22c	0.69±0.05c	0.67±0.04c	1.49±0.21c	0.16±0.01cd	0.43±0.05a

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

表 3 干旱胁迫下不同大麦品种根系形态的变化

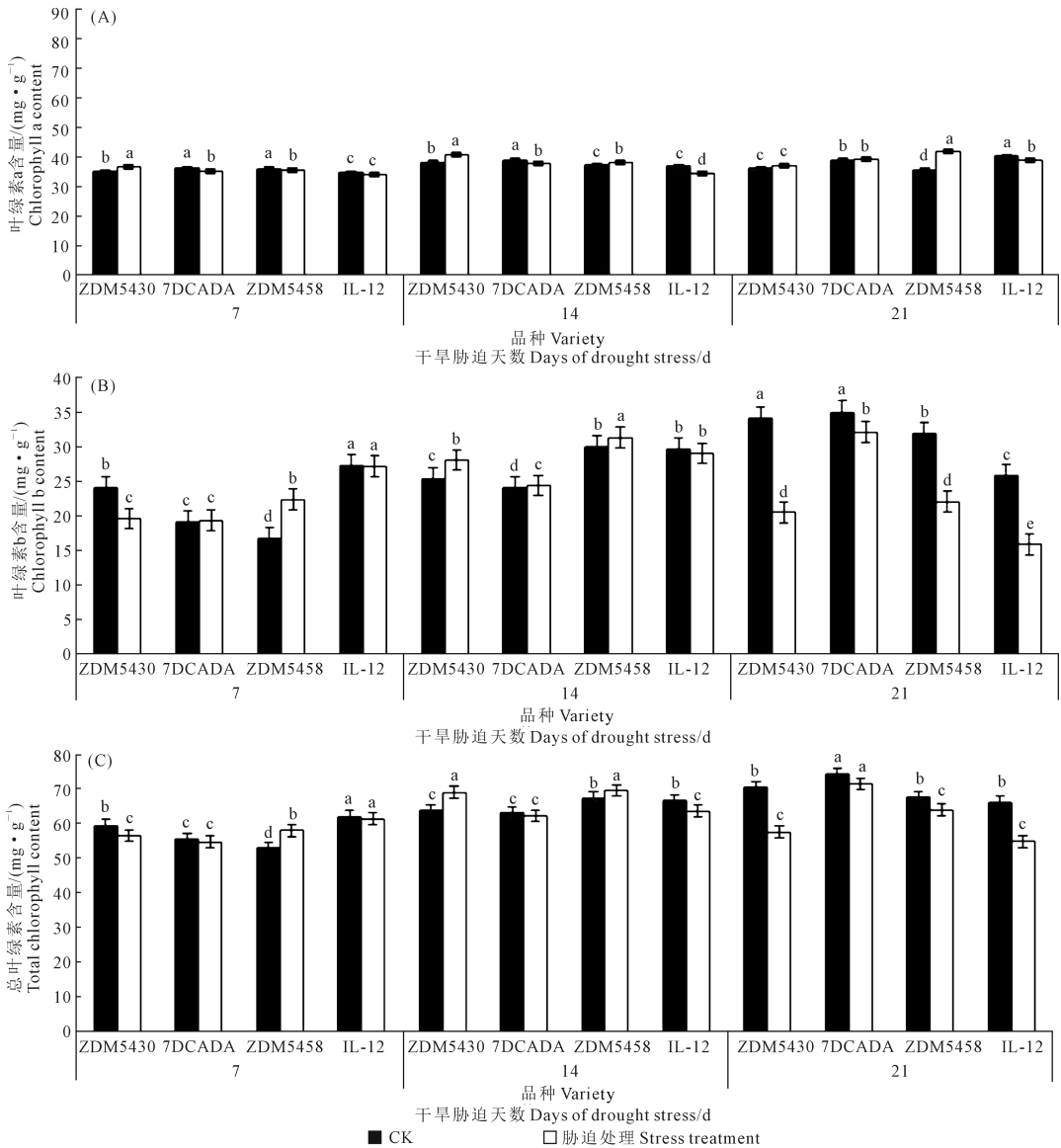
Table 3 Changes of root morphological parameters of different barley varieties under drought stress

处理时间 Processing time/d	品种 Variety	总根长 Total root length	根表面积 Root surface area	根体积 Root volume
7	ZDM5430	0.92±0.35a	0.92±0.18a	0.95±0.07a
	7DCADA	0.54±0.16c	0.58±0.05c	0.65±0.18bc
	ZDM5458	0.68±0.12b	0.73±0.12b	0.78±0.12b
	IL-12	0.66±0.16b	0.65±0.20bc	0.51±0.19c
14	ZDM5430	0.73±0.35a	0.99±0.18a	1.17±0.07a
	7DCADA	0.56±0.19c	0.73±0.41b	0.77±0.56b
	ZDM5458	0.77±0.12a	0.95±0.12a	1.06±0.12a
	IL-12	0.65±0.16b	0.75±0.20b	0.73±0.19b
21	ZDM5430	0.68±0.06ab	0.90±0.09a	1.21±0.29a
	7DCADA	0.34±0.31c	0.46±0.41b	0.64±0.46b
	ZDM5458	0.76±0.25a	0.79±0.20ab	0.81±0.17ab
	IL-12	0.56±0.26b	0.65±0.30ab	0.77±0.36b

注:同列不同小写字母表示品种间差异达显著水平($P<0.05$)。
Note:Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among varieties ($P<0.05$).

和 IL-12 在干旱胁迫 21 d 时叶绿素 b 含量分别为 $24\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $15\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,均显著低于对照组。

如图 2C 所示,干旱胁迫处理下不同大麦品种叶片总叶绿素含量变化情况有所不同,ZDM5430 和 ZDM5458 随胁迫时间增加而升高,7DCADA 和 IL-12 则表现为先升高后降低;干旱胁迫处理 7 d 时,抗旱品种对照组与处理组间叶片总叶绿素含量差异显著,干旱敏感型品种处理间差异不显著;处理 14 d 和 21 d 时,除 7DCADA 外,其余品种处理和对照间差异均达显著水平。与对照组相比,各品种处理总叶绿素含量下降幅度表现为:7DCADA>IL-12>ZDM5430>ZDM5458,说明随着干旱胁迫程度的加剧,叶绿素合成受阻,分解速率增大,导致叶片叶绿素含量下降,但大麦品种 ZDM5430 和 ZDM5458 的



注:不同小写字母表示相同胁迫天数下处理间差异达显著水平($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments in the same drought stress day ($P<0.05$).

图 2 干旱胁迫下不同大麦品种叶绿素含量的变化

Fig.2 Changes of chlorophyll content in different barley varieties under drought stress

叶绿素含量受干旱胁迫的影响较小,有较强的的抗逆能力。

2.4 干旱胁迫下不同品种大麦幼苗根系活力的差异

由图 3 可知,4 个不同基因型的大麦在干旱处理后,根系活力均低于相应对照,说明大麦苗期根系对水分较为敏感,干旱胁迫会降低其活力。不同处理时间下,各品种干旱胁迫初期根系活力受到的影响较小,处理 14 d 仍高于处理 7 d 的根系活力,处理 21 d 时各品种的根系活力均有下降趋势,其中 ZDM5430 的下降幅度最小;随着干旱胁迫时间的增加,处理组与对照组之间根系活力的差异也越来越大,差异最显著的是 IL-12 和 7DCADA。对于不同大麦品种,干旱胁迫 7 d 时,7DCADA 的根系活力明显高于其他品种;干旱胁迫处理 14 d 时,根系活力的大小为:ZDM5458>ZDM5430>IL-12>7DCADA,7DCADA 根系受到干旱胁迫的抑制最为明显;处理 21 d 时,4 个品种根系活力均有所下降,但 ZDM5430 和 ZDM5458 的根系活力明显更具优势。

2.5 干旱胁迫下大麦根系水通道蛋白 *PIP*s 基因的变化

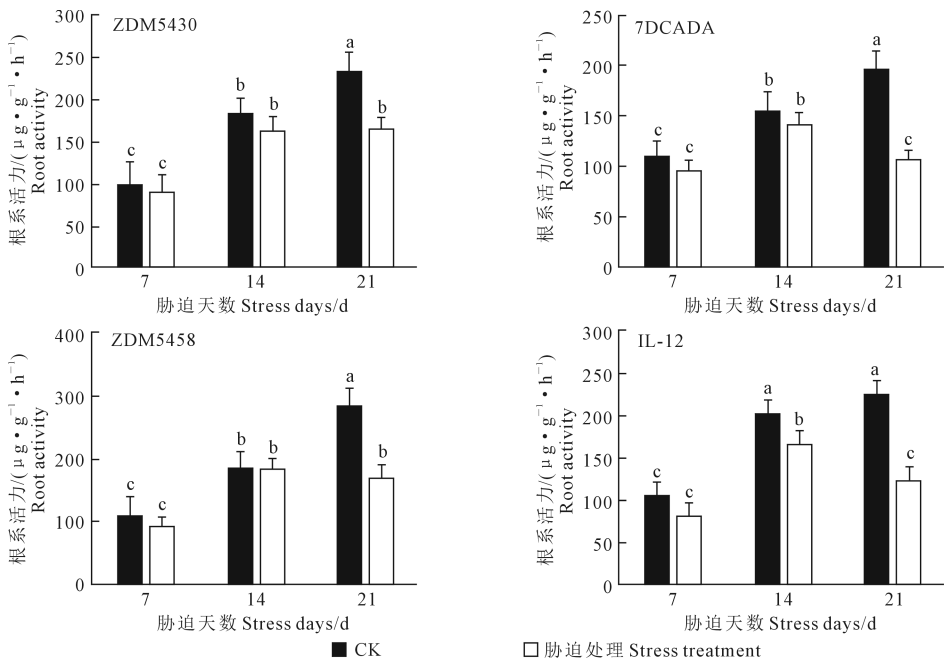
如图 4 所示,各大麦品种在持续干旱胁迫 21 d 后,根中相对表达量最高的水通道蛋白是 *HvPIP1;4* 和 *HvPIP1;5*,最低的是 *HvPIP2;4*。随干旱胁迫时间的延长,各品种根系中 *HvPIP1;1*、*HvPIP1;2*、*HvPIP2;*

1 和 *HvPIP2;5* 的相对表达量呈逐渐下降趋势,干旱 21 d 时,7DCADA 和 IL-12 这 2 个品种的 *HvPIP2;1* 相对表达量显著小于其他 2 个品种;*HvPIP1;4*、*HvPIP1;5* 和 *HvPIP2;2* 在干旱胁迫后相对表达量呈上升趋势,其中,ZDM5430 在各阶段 *HvPIP1;4* 和 *HvPIP1;5* 的相对表达量均显著高于其他 3 个品种;对于 *HvPIP1;3* 和 *HvPIP2;4*,其相对表达量随干旱胁迫时间增加呈先增加后降低的趋势。综上可知,ZDM5430 和 ZDM5458 这 2 个品种在相同处理条件下的 *HvPIP*s 表达量均明显高于 7DCADA 和 IL-12。

3 讨 论

3.1 干旱胁迫对不同大麦品种幼苗生长特性的影响

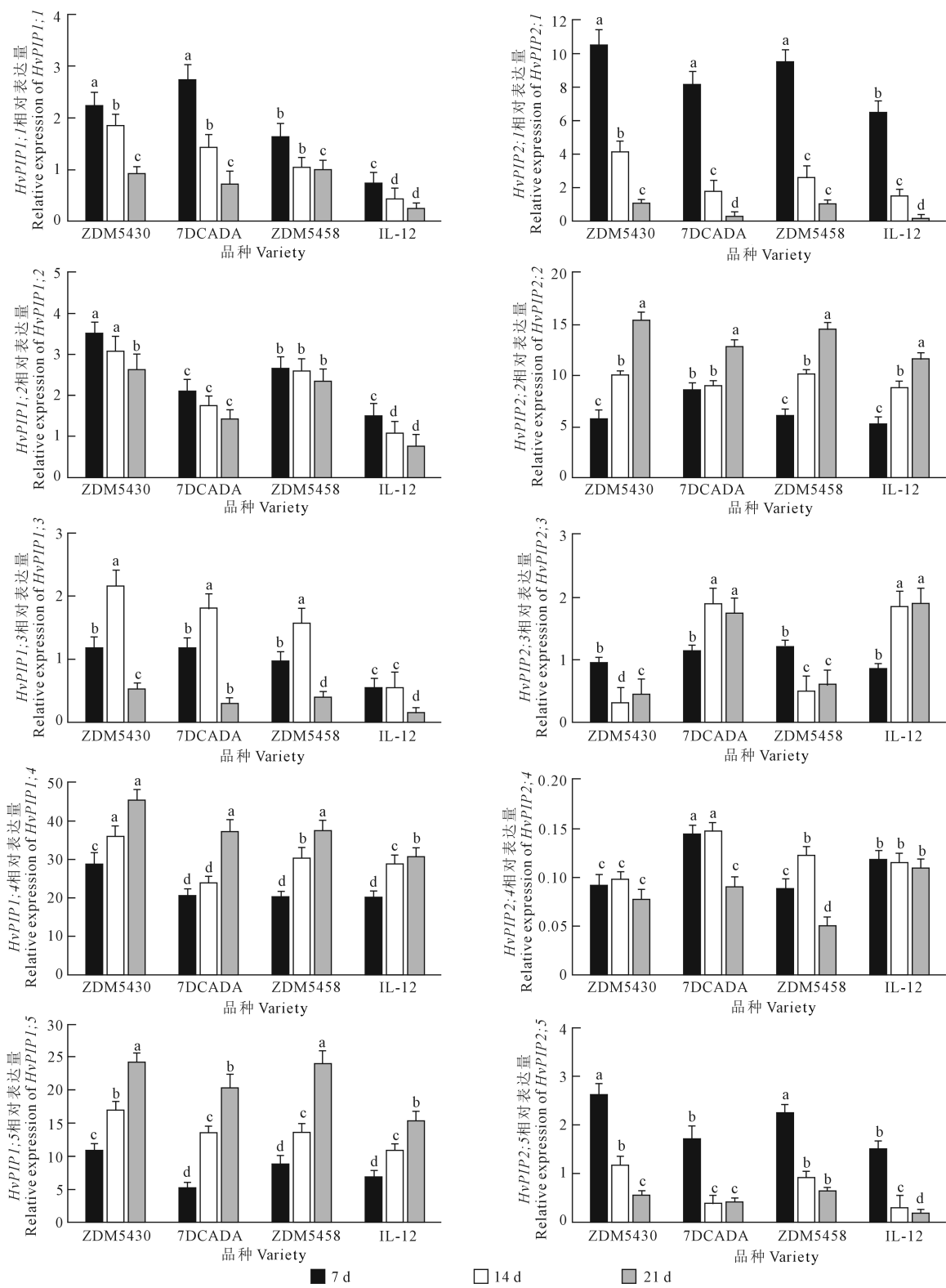
作物的生长发育既受遗传因素的影响,又受外界环境的影响。当生存条件发生显著变化时,大麦会通过调节相应的功能和结构做出响应,因此其幼苗的生长动态可视为经过体内许多变化及自适应后最终表现出的综合效应。本研究中,干旱胁迫对大麦苗期的农艺性状各指标总体上表现出抑制作用,其中变化最为显著的是苗长和根冠比;随着干旱胁迫时间的延长,大麦幼苗生长受到的影响越来越明显。这与陈雪^[27]、徐银萍等^[28]的研究结果一致。干旱胁迫后,所有参试品种的叶片含水量都呈



注:不同小写字母表示不同胁迫时间差异达显著水平 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences among stress times ($P<0.05$).

图 3 干旱胁迫下不同大麦品种根系活力的变化

Fig.3 Changes of root system activity of different barley varieties under drought stress



注:不同小写字母表示品种间差异达显著水平($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences in expression levels among varieties ($P<0.05$).

图 4 干旱胁迫下不同大麦品种根系水通道蛋白 PIPs 基因的变化

Fig.4 Changes of aquaporin PIPs genes in different barley root systems under drought stress

下降趋势,其中抗旱品种 ZDM5430 和 ZDM5458 降低幅度较小,干旱胁迫后叶片仍能保持较高含水量。再生斌等^[29]通过研究干旱对不同基因型啤酒大麦生长发育的影响,也得出了相关的结论;说明

大麦的抗旱能力越强,在逆境下越能保持较好的生长状态,可有效抵御干旱胁迫对其产生的影响。根系是植物直接吸收和利用土壤中水分与养分的器官,地下根系的生长状况很大程度上决定了地上部植株的生长。根系发达的植株能更好地吸收环境中的水分和养分^[30]。本研究中,干旱胁迫处理后,抗旱型品种(ZDM5430和ZDM5458)的根长均较相应对照有所增加,干旱敏感型品种(7DCADA和IL-12)根长则较相应对照显著降低,说明根系生长情况可以表征植株的抗旱能力。根冠比为作物的抗旱性指标之一,本研究中随着干旱胁迫时间的延长,各参试品种的根冠比都出现较为显著的变化,抗旱能力强的品种在受到水分胁迫时能保持较大的根冠比,这与代小冬^[31]的研究结果一致。

叶片是植物进行光合作用的主要器官,叶绿素是光合作用的主要色素,叶绿素含量一定程度上可以衡量植物抗逆性强弱。有研究表明,干旱胁迫会使叶绿素分解,导致叶绿素含量降低^[20]。本试验参试的4个大麦品种在干旱胁迫后总叶绿素含量较对照组均呈下降趋势,这与刘义国等^[6]、汪军成等^[11]在大麦上的研究结果一致。植物叶片中叶绿素a含量较高,有利于植株在胁迫下保持较高的光合强度;叶绿素b含量较高,表明其在胁迫下降解速度缓慢^[32-33]。本研究中,在干旱胁迫下,ZDM5430和ZDM5458叶绿素a含量和叶绿素b含量与对照组差异较小,而7DCADA和IL-12则显著低于相应对照。降幅不同反映了品种抗旱性的差异,抗旱性强的品种可在干旱胁迫条件下保持较高的功能叶叶绿素含量。

3.2 干旱胁迫下不同大麦品种苗期根系水通道蛋白 *PIP*s 基因的变化

根系是植物的主要水通道,缺水条件下水通道蛋白的功能和调控研究一直备受关注。长期接触缺水土壤的植株根系中水通道蛋白的活性会受到抑制,以阻止水分从根细胞向干燥土壤反向运输^[34]。相反,早期干旱条件可诱导水通道蛋白的表达和活性的提升,促进植物吸收土壤中的水分^[35]。对拟南芥中35个水通道蛋白基因表达的分析表明,干旱条件下大多数 *PIPs* 和 *TIPs* (Tonoplast intrinsic proteins) 基因表达水平较高,而 *NIP* (Nodulin 26-like intrinsic proteins) 表达水平较低^[18]。另外,一些水通道蛋白基因 (*AtPIP2;6*、*AtSIP1;1* 等) 在缺水条件下表现为组成型表达或不敏感。不同植物的比较转录组研究表明,干旱处理主要诱导水通道蛋白 *PIPs* 和 *TIPs* 亚类上调表达^[36]。以上结果与本研究

结果相似。干旱胁迫下大麦水通道蛋白 *PIPs* 基因受到的影响较为明显,2个亚家族的基因大多上调,只有 *HvPIP1;1*、*HvPIP1;2*、*HvPIP2;1* 和 *HvPIP2;5* 有下降趋势。部分基因在干旱胁迫初期出现上调,但是胁迫时间延长至21 d时出现下降趋势,可能是干旱胁迫时间过长影响了大麦根系的活力。在相同处理条件下,4个不同品种的大麦 *HvPIPs* 的变化趋势基本相似,但是ZDM5430和ZDM5458的转录表达量明显高于其他2个品种,说明这2个品种的抗旱性更好。

4 结 论

1) 苗期干旱对不同基因型大麦植株根鲜质量和根冠比的影响最大;叶绿素和根系活力也随着干旱胁迫时间的延长而显著下降。抗旱型品种(ZDM5430和ZDM5458)在干旱胁迫下可以通过根系形态的变化,减小水分亏缺对植株产生的影响,并保持相对较高的叶绿素含量和根系活力。

2) *HvPIPs* 基因参与了大麦抗旱的调控机制,其中, *HvPIP1;3*、*HvPIP1;4*、*HvPIP1;5* 和 *HvPIP2;2*、*HvPIP2;3* 和 *HvPIP2;4* 的表达量在干旱胁迫后呈显著上调趋势,并且在抗旱型品种中的表达量显著高于干旱敏感型品种(7DCADA和IL-12)。

参 考 文 献:

- [1] 聂志刚,任新庄,李广,等. 基于APSIM的甘肃春小麦干旱致灾风险评价[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(6): 194-200.
NIE Z G, REN X Z, LI G, et al. Assessment of drought risk on spring wheat in Gansu using APSIM[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2018, 36(6): 194-200.
- [2] 赵锋,潘永东,包奇军,等. 甘肃省大麦产业发展现状及发展对策[J]. 甘肃农业科技, 2020, (11): 78-84.
ZHAO F, PAN Y D, BAO Q J, et al. Development situation and countermeasures of barely industry in Gansu[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2020, (11): 78-84.
- [3] 郭小芹,李广,罗永忠. 甘肃省季节性干旱综合指数的特征[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(4): 282-288.
GUO X Q, LI G, LUO Y Z. The characteristics of seasonal drought's comprehensive index in Gansu Province[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2018, 36(4): 282-288.
- [4] DOUNAVI A, NETZER F, CELEPIROVIC N, et al. Genetic and physiological differences of European beech provenances (*F. sylvatica* L.) exposed to drought stress[J]. Forest Ecology and Management, 2016, 361: 226-236.
- [5] 裴志超,周继华,徐向东,等. 干旱处理对不同玉米品种叶片光合速率和抗氧化特性及产量的影响[J]. 作物杂志, 2021, (5): 95-100.
PEI Z C, ZHOU J H, XU X D, et al. Effects of drought treatment on photosynthesis rate, antioxidant properties of leaves and yield of different maize varieties[J]. Crops, 2021, (5): 95-100.
- [6] 刘义国,万雪洁,张艳,等. 干旱锻炼对小麦幼苗期形态指标的影响

- 响[J]. 西北农业学报, 2022, 31(2): 157-163.
- LIU Y G, WAN X J, ZHANG Y, et al. Effect of drought priming on morphological indices of wheat seedlings [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2022, 31(2): 157-163.
- [7] 薛新伟, 杨恒山, 张瑞富. 不同灌溉模式对西辽河平原玉米根系形态特征和生理生化特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(2): 111-118.
- XUE X W, YANG H S, ZHANG R F. Effects of different irrigation methods on root morphological and physiological biochemical characteristics of maize in the West Liaohe Plain[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2022, 40(2): 111-118.
- [8] 林芙蓉, 顾大彤, 黄玉清, 等. 植物根系水力再分配的研究进展[J]. 生态学杂志, 2021, 40(9): 2978-2986.
- LIN F R, GU D X, HUANG Y Q, et al. Research advances in hydraulic redistribution of plant roots[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(9): 2978-2986.
- [9] 李春花, 加央多拉, 陈葵坤, 等. 苦荞种质资源性状评价及优异资源筛选[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(6): 19-27.
- LI C H, JIA Y D L, CHEN R K, et al. Evaluation and selection of Tartary buckwheat germplasm resources based on agronomic traits[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2021, 39(6): 19-27.
- [10] 魏良迪, 李宁, 杨进文, 等. 山西省主推小麦品种芽期及苗期的抗旱性评价[J]. 生态学杂志, 2022, 41(5): 873-879.
- WEI L D, LI N, YANG J W, et al. Drought resistance of major wheat varieties in Shanxi Province at germination and seedling stages[J]. Chinese Journal of Ecology, 2022, 41(5): 873-879.
- [11] 汪军成, 孟亚雄, 徐先良, 等. 大麦苗期抗旱性鉴定及评价[J]. 干旱地区农业研究, 2013, 31(4): 135-143.
- WANG J C, MENG Y X, XU X L, et al. Identification and assessment on drought-resistance of *Hordeum vulgare* L. at seedling stage [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2013, 31(4): 135-143.
- [12] 杜欢, 马彤彤, 郭帅, 等. 大麦近等基因系苗期根系形态及叶片渗透调节物质对 PEG 胁迫的响应[J]. 中国农业科学, 2017, 50(13): 2423-2432.
- DU H, MA T T, GUO S, et al. Response of root morphology and leaf osmoregulation substances of seedling in barley genotypes with different heights to PEG stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(13): 2423-2432.
- [13] 徐银萍, 潘永东, 任诚, 等. 干旱胁迫和复水对啤酒大麦产量品质及叶绿素含量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2019, (6): 19-24.
- XU Y P, PAN Y D, REN C, et al. Effects of drought stress and re-watering on yield and quality and chlorophyll content of barley[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2019, (6): 19-24.
- [14] 聂石辉. 大麦抗旱的生理生化机理研究及种质资源抗旱性评价[D]. 石河子: 石河子大学, 2011.
- NIE S H. Physiological and biochemical mechanism of drought stress and germplasm evaluation of drought resistance of barley[D]. Shihezi: Shihezi University, 2011.
- [15] KAPILAN R, VAZIRI M, ZWIAZEK J J. Regulation of aquaporins in plants under stress[J]. Biological Research, 2018, 51(1): 4.
- [16] AFZAL Z, HOWTON T C, SUN Y L, et al. The roles of aquaporins in plant stress responses[J]. Journal of Developmental Biology, 2016, 4(1): 9.
- [17] JOHANSON U, KARLSSON M, JOHANSSON I, et al. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants[J]. Plant Physiology, 2001, 126(4): 1358-1369.
- [18] SAKURAI J, ISHIKAWA F, YAMAGUCHI T, et al. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function [J]. Plant and Cell Physiology, 2005, 46(9): 1568-1577.
- [19] 鲁雨晴, 崔亚宁, 张原, 等. 植物水通道蛋白 PIPs 亚细胞定位转运的研究进展[J]. 电子显微学报, 2020, 39(6): 779-786.
- LU Y Q, CUI Y N, ZHANG Y, et al. Advances in research on sub-cellular redistribution of plant plasma membrane aquaporin [J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2020, 39(6): 779-786.
- [20] 周练, 刘朝显, 熊雨涵, 等. 质膜内在蛋白 ZmPIP1;1 参与玉米耐旱性和光合作用的功能分析[J]. 作物学报, 2021, 47(3): 472-480.
- ZHOU L, LIU C X, XIONG Y H, et al. Functional analysis of plasma membrane intrinsic protein ZmPIP1;1 involved in drought tolerance and photosynthesis in maize [J]. Acta Agronomica Sinica, 2021, 47(3): 472-480.
- [21] 王华圣, 杨海燕, 吴文龙, 等. 营养液浓度对盆栽蓝莓生长结果及果实品质的影响[J]. 中国南方果树, 2022, 51(6): 188-192.
- WANG H S, YANG H Y, WU W L, et al. Effect of concentration of nutrient solution on growth and fruit quality of potted blueberry [J]. South China Fruits, 2022, 51(6): 188-192.
- [22] 丁富功, 侯泽豪, 卢奕霏, 等. 小麦不同组织器官叶绿素测定方法的比较研究[J]. 东北农业科学, 2022, 47(5): 111-115.
- DING F G, HOU Z H, LU Y F, et al. Comparative study on determination of chlorophyll in different tissues and organs of wheat [J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2022, 47(5): 111-115.
- [23] 朱秀云, 梁梦, 马玉. 根系活力的测定(TTC 法)实验综述报告[J]. 广东化工, 2020, 47(6): 211-212.
- ZHU X Y, LIANG M, MA Y. A review report on the experiments for the determination of root activity by TTC method [J]. Guangdong Chemical Industry, 2020, 47(6): 211-212.
- [24] 冯举伶, 姚立蓉, 汪军成, 等. 119 份春小麦种质萌发期抗旱性鉴定及抗旱相关基因表达特性分析[J]. 麦类作物学报, 2022, 42(3): 253-263.
- FENG J L, YAO L R, WANG J C, et al. Drought resistance identification and drought-resistance related gene expression analysis of 119 spring wheat germplasms at germination stage[J]. Journal of Triticeae Crops, 2022, 42(3): 253-263.
- [25] 马富举, 李丹丹, 蔡剑, 等. 干旱胁迫对小麦幼苗根系生长和叶片光合作用的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(3): 724-730.
- MA F J, LI D D, CAI J, et al. Responses of wheat seedlings root growth and leaf photosynthesis to drought stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(3): 724-730.
- [26] 段瑞君, 熊辉岩, 且原真木. 冷胁迫下大麦幼苗根质膜水通道蛋白基因的表达[J]. 植物生理学报, 2014, 50(8): 1203-1208.
- DUAN R J, XIONG H Y, KATSUHARA M. Expression of root *HvPIPs* of barley seedling under chilling stress[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(8): 1203-1208.