

干旱胁迫对旱地冬小麦产量及其抗旱相关基因表达的影响

杨 焯^{1,2,3}, 陈德来¹, 刘自成^{1,2,3}, 李 静⁴, 施万喜^{1,2,3}, 孟建军^{1,2,3}

(1. 陇东学院农业与生物工程学院, 甘肃 庆阳 745000; 2. 陇东旱地作物种质改良及产业化协同创新中心, 甘肃 庆阳 745000; 3. 甘肃省旱地冬小麦种质创新与应用工程研究中心, 甘肃 庆阳 745000; 4. 定西市安定区农业技术推广中心, 甘肃 定西 743000)

摘要:为研究陇东旱地育成冬小麦品系的抗旱性与抗旱功能基因的关系,以6个旱地冬小麦新品系为试验材料,于2021—2022年、2022—2023年2个生长季在陇东学院西峰旱作农业试验站设置雨养无灌溉(CK)、旱棚防雨(干旱胁迫)和调控灌溉3个水分处理,测定各品系冬小麦产量,评价其抗旱性,并分析了抗旱相关功能基因的相对表达量。结果表明,在水分胁迫和供水充足(含水量为70%田间持水量)情况下,6个小麦品系产量差值变化不一致,品系C(‘1576-2-0-2’)和品系D(‘15119-1-0-2’)两年试验结果的差值均最小,其余4个品系差值均超过平均差值。由雨养无灌溉试验结果可知,2022年为大旱年份,品系C、D的产量在6个供试品系中分别位居第1和第3,抗旱系数分别为0.89和1.02;2023年为相对丰水年,品系C、D的抗旱系数分别为0.77和1.12,说明这两个品系对气候异常不敏感,抗旱性良好。通过荧光定量PCR技术分析6个小麦品系在灌浆期干旱胁迫下旗叶中的相对表达量,结果显示TaCRT-D基因在6个品系中的表达水平最高,Wdreb2、XTH-7A、Wlip19、TaCRT-D在品系C、D中的表达量高于其他品系。田间试验结果与PEG-6000高渗溶液模拟发芽期和苗期干旱胁迫的鉴定结果相一致,表明6个品系中‘1576-2-0-2’和‘15119-1-0-2’品系抗旱性强,且干旱胁迫下灌浆期旗叶中抗旱功能基因TaCRT-D的表达量可以作为冬小麦早期世代抗旱选择参考指标。

关键词:旱地冬小麦;早期世代;干旱胁迫;抗旱基因;育种筛选

中图分类号:S512.1⁺1; Q943.2 **文献标志码:**A

Effects of drought stress on yield and expression of drought-resistant genes in dryland winter wheat

YANG Xiao^{1,2,3}, CHEN Delai¹, LIU Zicheng^{1,2,3}, LI Jing⁴, SHI Wanxi^{1,2,3}, MENG Jianjun^{1,2,3}

(1. College of Agriculture and Biological Engineering, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China; 2. Collaborative Innovation Center for Longdong Dryland Crop Germplasm Improvement and Industrialization, Qingyang, Gansu 745000, China; 3. Engineering Research Center for Germplasm Innovation and Application of Dryland Winter Wheat in Gansu Province, Qingyang, Gansu 745000, China; 4. Dingxi Agricultural Technology Extension Center, Dingxi, Gansu 743000, China)

Abstract: To investigate the relationship between the drought resistance of newly developed winter wheat strains in the drylands of eastern Gansu Province and their drought-resistant functional genes, six new dryland winter wheat strains were selected as experimental materials. These were planted at the Xifeng Dry Farming Agricultural Experimental Station of Longdong University during the 2021–2022 and 2022–2023 growing seasons. Three water treatments were set up: rain-fed without irrigation (CK), drought shelter to prevent rain (drought stress) and regulated irrigation. The yield was measured to evaluate their drought resistance, and the relative expression levels of drought-related functional genes were analyzed. The results showed that the yield difference of 6 wheat strains showed inconsistent changes under water stress and 70% of the field capacity. The yield difference between two years of C (‘1576-2-0-2’) and D (‘15119-1-0-2’) was the smallest, and the differences of the other 4 strains

were more than the average difference. In the rain-fed without irrigation experiment, the year 2022 was identified as a severe drought year. The yields of strains C and D ranked first and third among the six tested strains, and the drought resistance coefficients of 0.89 and 1.02, respectively. In 2023, a relatively wet year, the drought resistance coefficients for strains C and D were 0.77 and 1.12, indicating that these two strains were less sensitive to climate anomalies and had good drought resistance. The relative expression levels of six drought-resistant functional genes were analyzed in the flag leaves of six wheat strains during the grain filling stage under drought stress using fluorescence quantitative PCR. The results showed the *TaCRT-D* gene had the highest expression level in these strains. The expression levels of *Wdreb2*, *XTH-7A*, *Wlip19*, and *TaCRT-D* in strains C and D were higher than those in other strains. The field trial results align with the identification outcomes observed at the germination and seedling stages under drought stress simulated by a PEG-6000 hypertonic solution. They indicate that among the six lines, '1576-2-0-2' and '15119-1-0-2' exhibit strong drought resistance. Furthermore, these findings confirm that during drought-resistant breeding of winter wheat, the expression of the drought-resistance functional gene *TaCRT-D* in early flag leaves under drought stress during the grain-filling stage can serve as an effective early-generation selection index for drought resistance.

Keywords: dryland winter wheat; early generations; drought stress; drought resistant genes; variety screening

干旱是影响作物生长的主要非生物胁迫之一,快速准确鉴定小麦品种的抗旱性对抗旱育种以及品种优化布局具有重要意义^[1]。作物抗旱性是一种复杂的适应环境胁迫的生物学过程,是由多基因控制的数量性状^[2]。有关作物抗旱性品种鉴定方法及指标筛选研究,前人进行了大量研究并取得了丰富成果。在小麦萌芽期,干旱胁迫导致种子发芽率显著降低。Wei 等^[3]研究发现,苗期是影响小麦生长发育的重要时期,胚芽鞘的长度与小麦的耐旱性密切相关,胚芽鞘越长,苗期越耐旱,小麦具有较高的产量和抗旱指数^[4],因此胚芽鞘长度可以作为鉴定小麦苗期抗旱性强弱的指标。聚乙二醇(PEG)常被用作小麦苗期干旱模拟渗透剂,胁迫影响小麦胚芽鞘的长度。作物的相关性状与籽粒产量显著相关,通常被认为是抗旱性的评价参数^[5]。产量的抗旱指数可以用来衡量小麦抗旱能力的强弱^[4,6]。李龙等^[7]研究表明,小麦成株单株产量的抗旱系数与综合抗旱性度量值之间具有很好的一致性,利用综合指标可以区分干旱对不同种质材料产量的影响。干旱胁迫下基因表达的变化规律,是研究干旱胁迫分子机理的重要方法^[8]。李素等^[9]利用 PEG 模拟干旱胁迫处理筛选小麦抗旱基因,结果发现 *TaBADHb* 基因与小麦抗旱性密切相关。周琪等^[10]研究表明,干旱处理下小麦抽穗期的根、茎、叶和穗中 *TaXTH-7A* 基因均有表达。方静等^[11]研究发现,干旱处理下抗旱型小麦叶片中 *TaWdreb2*、*TaWlip19* 基因的表达水平显著高于敏感型小麦。小麦 *TaPK7* 基因是 *SnRK2* 信号转导类基因家族成员之一,参与 ABA 信号通路,调控植株的抗旱能

力。张洪映等^[12]初步揭示了 *TaPK7* 基因多态性与抗旱性相关。Wang 等^[13]研究发现,与野生型对照相比,过表达 ORF *TaCRT-D* 基因的转基因拟南芥在种子萌发和幼苗期对于干旱胁迫表现出更强的耐受性。

甘肃省陇东黄土高原属于典型的雨养农业区,冬小麦作为陇东地区主栽的优势粮食作物之一,其生产水平事关国计民生和粮食安全,由于生育期较长,小麦生产受干旱灾害影响较大。陇东旱地小麦育种始于 20 世纪 50 年代,先后育成庆丰、庆选、西峰、庆农、陇育等 5 大系列新品种 80 余个^[14],推动了陇东及周边的宁夏冬麦区冬小麦品种更新换代 6 次。本研究以'西峰 27 号'、'陇育 6 号'等为骨干亲本培育的 6 个 F₇代陇东旱地小麦品系为研究对象,在陇东旱作区庆阳市陇东学院西峰旱作农业试验站设置雨养无灌溉,调控灌溉和旱棚防雨 3 个水分控制处理试验,分析冬小麦各品系的产量及其在 PEG 胁迫下的种子相对发芽率、胚芽鞘长度,并进一步分析了旗叶中抗旱基因 *BADHb*、*Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCRT-D*、*TaPK7* 的表达差异,以期了解陇东旱地品种的抗旱性与其与抗旱相关基因表达的关系,为旱地冬小麦抗旱育种工作提供理论依据和实践基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为 6 个 F₇代旱地小麦新品系,分别来自'西峰 27 号'×'晋麦 102', '陇育 6 号'×'西农 232', '1019-1×京 BH-002', 其系谱如图 1 所示。其中'西峰 27 号'(图 1a)、'陇育 6 号'(图 1b)、'晋麦 102'(图 1c)为育成品种,'西农 232'、'1019-9-1'和

‘京 BH-002’为高代品系。育成的 6 个 F₇ 代品系 ‘1555-11-0-4’、‘1555-12-0-1’ (图 1d)、‘1576-2-0-2’ (图 1e)、‘15119-1-0-2’、‘15119-1-0-3’、‘15119-4-0-8’ (图 1f) 分别用 A、B、C、D、E、F 表示。

1.2 苗期 PEG 模拟干旱处理

按照 GB/T 21127-2007 小麦抗旱性评价技术规范^[15], 种子萌发期抗旱性等级标准见表 1。胚芽鞘长度参照褚凤潇^[4]的方法, 当小麦幼叶顶破胚芽鞘时, 随机抽取 30 株测定胚芽鞘长度, 均取平均值, 分析干旱胁迫对小麦苗期的影响。

1.3 田间抗旱性评价

试验地位于庆阳市陇东学院西峰旱作农业试验站, 属于陇东黄土高原, 为典型的雨养农业区, 一年一熟, 冬小麦为当地主要粮食作物。土壤为黄绵土覆盖黑垆土层, 肥力中等, 海拔 1 421.9 m, 常年平均降水量 408.9~620.1 mm, 平均气温 8.4~9.7℃, 平均日照时数 2 213.4~2 540.4 h; 小麦全生育期降水量 286.1 mm, 平均气温 8.36℃, 日照时数 1 951.5 h。试验年份播前降水充足, 墒情好, 播种质量好、出苗均匀; 越冬期气温偏低, 降水偏少; 试验点所有参试品种均无倒伏, 条锈病未发生, 白粉病普遍发生^[14]。

试验于 2021—2022 年、2022—2023 连续 2 a 在陇东学院西峰旱作农业试验站进行, 设置雨养无灌

溉(CK)、干旱胁迫(旱棚防雨)和调控灌溉 3 个处理, 重复 3 次, 随机区组排列。供试材料按 375 万株·hm⁻²的播量播种, 行长 1 m, 以千粒重按行分种子, 分行条播, 每个品系 6 行, 行距 0.2 m。雨养无灌溉处理全生育期完全依靠自然降水; 干旱胁迫处理于 3 月份小麦返青后搭建旱棚(钢架结构大棚, 淡蓝色无滴 PO 膜, 棚宽 3 m, 高 2.5 m, 长 30 m, 全封闭, 两头揭膜进出, 棚内外温差平均 6.5℃), 到成熟收获均不灌水; 调控灌溉处理为拔节期、抽穗期及灌浆期各灌水 1 次, 每次灌水为 120 mm, 灌溉后 12 h 测根层土壤含水量为田间持水量的 70%。2021—2022 年, 旱棚较雨养处理提前 10 d 成熟, 较灌溉处理提前 13 d 成熟; 2022—2023 年, 旱棚较雨养处理提前 15 d 成熟, 较灌溉处理提前 19 d 成熟。在收获前 3 d, 每小区 5 点取样, 每点 10 株; 按小区收获, 脱粒、自然晾干后测算产量。产量指标的抗旱系数计算方法为: 抗旱系数=干旱处理测量值/对照测量值。

1.4 小麦抗旱相关功能基因的相对表达量检测

1.4.1 小麦灌浆期旗叶样品采集及总 RNA 提取

在每个小区内选取灌浆期长势相同的冬小麦 10 株, 采集新鲜生长旺盛的旗叶, 用无菌水快速清洗表面的附着物, 用吸水纸吸干叶片表面残留的无菌水, 用无菌剪刀剪成 1 cm 的小段。3 次重复, 等量混合均匀, 置于 3 个 2 mL 无 RNA 酶离心管中, 液氮速冻后放于 -80℃ 超低温冰箱保存备用。利用多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (TSP412) 提取总 RNA, 以逆转录试剂盒 Goldenstar RT6 cDNA Synthesis Mix (擎科) 进行逆转录扩增。

1.4.2 引物的设计与合成 参考 GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 中的小麦 *BADHb*、*Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCRT-D*、*TaPK7*、*Actin* (实时荧光定量内参基因) 基因 cDNA 序列, 利用 Primer 5.0 软件设计引物 (表 2), 用于实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 测定。引物由北京奥维森基因生物科技有限公司合成。

1.4.3 RT-qPCR 逆转录得到的 cDNA 产物 3 倍稀释后作为 qPCR 模板, 以 ArtiCan^{CEO} SYBR qPCR Mix 进行扩增, 扩增体系各组分如下: ArtiCan^{CEO} SYBR qPCR Mix 10 μL, 上、下游引物 (10 μM) 各 1 μL, Template (cDNA) 1 μL, ddH₂O 7 μL。利用 QuantStudioTM 1 Plus 实时荧光定量 PCR 仪 (ABI) 进行 qRT-PCR 扩增, 反应条件: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 15 s; 60℃ 退火 20 s; 72℃ 退火 20 s; 40 个循环。每个样品设置 3 个生物学重复, 3 个技术重复。采用

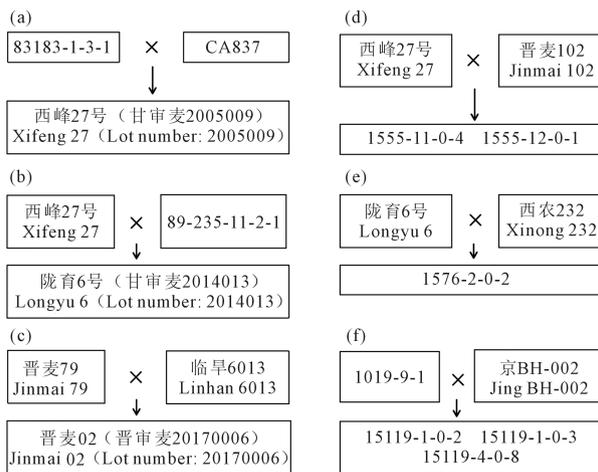


图 1 供试小麦遗传系谱图

Fig.1 Pedigree of the tested wheat lines

表 1 小麦种子萌发期抗旱性等级标准

Table 1 Criterion of drought resistance grade of wheat seeds during germination

相对发芽率/% Relative germination rate	抗旱性等级 Drought resistance grade
≥90.0	极强 Highly resistance (HR)
70.0~89.9	强 Resistance (R)
50.0~69.9	中等 Middle resistance (MR)
30.0~49.9	弱 Short (S)
≤39.9	极弱 Highly short (HS)

2^{- $\Delta\Delta C_t$} 的计算方法^[11], 分析相关基因的相对表达量。

1.5 数据统计分析

采用 SPSS 26 数据处理软件进行数据的统计分析, 统计均值及标准误, 进行单因素方差分析, 采用 Tukey 多重比较分析 ($P < 0.05$), 比较不同处理间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 供试小麦返青~成熟期气象特征

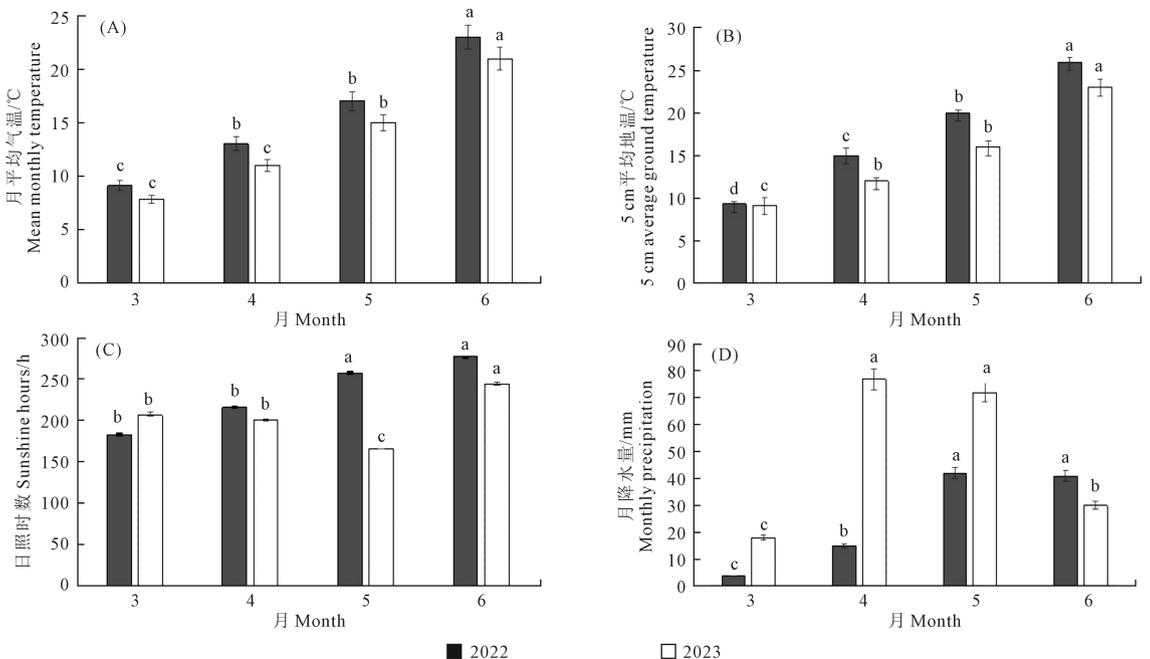
根据庆阳市西峰区气象局数据, 2 个生长季除 3 月的月平均气温基本持平外, 其余月份均为 2022 年

显著高于 2023 年 ($P < 0.05$), 5 cm 平均地温的变化趋势与月平均气温基本一致 (图 2A、2B)。2 个生长季 3—6 月的 5 cm 平均地温均略高于平均气温。2022 年 3 月的日照时数低于 2023 年, 其余月份均高于 2023 年, 4 月和 6 月差异显著 ($P < 0.05$), 5 月差异极显著 ($P < 0.01$, 图 2C)。2022 年除 6 月的月降水量显著高于 2023 年 ($P < 0.05$), 3—5 月的月降水量均极显著低于 2023 年 ($P < 0.01$, 图 2D)。2023 年 4 月下旬和 5 月连续阴雨天较多, 所以在年内和年际都表现为日照时数较低而月降水量较高。

表 2 目的基因及引物序列

Table 2 Target genes and primer sequences

目的基因 Target gene	Gene Bank 登录号 Gene Bank entry number	引物序列 (5' to 3') Primer sequence (5' to 3')	产物大小/bp Product size
<i>Actin</i>	AK458303.1	CTCCCTCACAACAACCGC	227
	AK458303.1	ACCAGGAACCTCCATACCAAC	
<i>BADHb</i>	AY050316.1	GTGACTCTATTTGGGTGCTTTTGG	231
	AY050316.1	GCACCTTCACTTTAGCATTCGCTAC	
<i>Wdreb2</i>	AB193608.1	AGATGTTGCTTCTTCCTTGCC	162
	AB193608.1	GATGTGCTCCTTGAAATGCTTG	
<i>XTH-7A</i>	MK395550	ATCCCACCAACGACTTCCAC	131
	MK395550	CTGGTTCTTGGGAATGCCA	
<i>Wlip19</i>	AB193552.1	CAGCCTCGTTTCTTCCACTTT	100
	AB193552.1	GACATGTCGGTTCGGGTTC	
<i>TaCRT-D</i>	EF452301.1	AGAAACTGGGATTTGACACGGA	140
	EF452301.1	GGAATTGCCTGTCTGCTGT	
<i>TaPK7</i>	AF255613.1	GGCTGATGCGCAACAAGGAG	177
	AF255613.1	CCATCACAATCGCCAGTGC	



注: 图上不同小写字母表示同一年份不同月份间差异显著 ($P < 0.05$)。图中数值为平均值 \pm 标准误差 ($n = 3$)。

Note: Different lowercase letters in the figure indicate significant differences between different months in the same year ($P < 0.05$). Values in the figure are average \pm standard error ($n = 3$).

图 2 小麦返青~成熟期气象要素变化

Fig.2 Changes of meteorological elements during the period from greening to maturity in wheat

2.2 小麦萌发期对干旱胁迫的响应

2.2.1 干旱胁迫对小麦发芽率的影响 如表 3 所示, PEG-6000 模拟干旱胁迫处理下供试小麦的相对发芽率变幅为 69.70%~96.94%。依据小麦种子萌发期抗旱性判定标准(表 1)可知, 品系 C、D 的抗旱性极强, A、E、F 的抗旱性强, B 的抗旱性中等。比较模拟干旱胁迫培养的发芽率和相对发芽率, 抗旱性极强的 C、D 间差异不显著, 与抗旱性强的 A、E、F 差异显著($P<0.05$), 与抗旱性中等的 B 差异极显著($P<0.01$)。

2.2.2 干旱胁迫对小麦胚芽鞘长度的影响 如表 4 所示, 不同浓度 PEG-6000 胁迫处理下各小麦品系胚芽鞘长度均有不同程度缩短, 且随着 PEG-6000 浓度增大, 胚芽鞘长度显著缩短($P<0.05$)。在 10% PEG-6000 胁迫下, 除品系 B 的胚芽鞘长度较 CK 增加 3.8%外, 其他品系胚芽鞘长度均呈缩短趋势, 平均胚芽鞘长度为 4.31 mm, 较 CK 下降 3.15%($P<0.05$); 品系 D 的胚芽鞘长度与 CK 差异不显著, 品

系 A、C、E、F 与对照差异显著($P<0.05$)。在 15%、20%、25% PEG-6000 胁迫下, 平均胚芽鞘长度分别为 3.62、3.31、3.04 mm, 缩短比率平均值分别为 18.65%($P<0.05$)、25.62%($P<0.01$)、31.69%($P<0.01$); 其中品系 B 的胚芽鞘长度缩短程度最大, 分别较 CK 显著降低 31.6%、39.2%和 49.4%; 品系 C、D、F 的胚芽鞘长度超过平均值, 缩短幅度较小。在 4 种不同浓度 PEG-6000 胁迫下品系 B 的胚芽鞘长度减少幅度最大, 苗期抗旱性最弱; 品系 A、E 次之, 抗旱性较弱; 品系 C、D、F 苗期抗旱性强, 而 C、D 较 F 抗旱性更强。

2.3 干旱胁迫对小麦产量的影响

干旱胁迫对小麦产量的影响结果见表 5, 主要考虑与抗旱关系密切的水分因子增加或者减少对小麦品系产量的影响。由表 5 可知, 在水分受限和最大满足(70%田间持水量)情况下, 6 个小麦品系产量差值变化情况不一致, 品系 C 和品系 D 在两年试验结果的差值均最小, 其余 4 个品系差值均超过

表 3 PEG-6000 胁迫下的小麦种子发芽率

Table 3 Seed germination rate of wheat under PEG-6000 stress

品系 Strain	胁迫培养发芽率/% Germination rate of stress culture	对照培养发芽率/% Germination rate of control culture	相对发芽率/% Relative germination rate	抗旱性等级 Drought resistance grade
A	75.26±0.37c	91.06±0.95d	82.42±0.57c	强 Resistance
B	69.06±0.88d	99.13±0.53a	69.70±1.04d	中等 Middle resistance
C	93.30±1.01a	97.01±0.21c	95.88±0.38a	极强 Highly resistance
D	95.41±0.24a	98.17±0.50b	96.94±0.26a	极强 Highly resistance
E	85.30±0.63b	98.29±0.37b	86.99±0.19b	强 Resistance
F	86.27±0.54b	98.12±0.62b	87.76±0.25b	强 Resistance

注: 同列不同小写字母表示不同小麦品系间差异显著($P<0.05$), 下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$) between different wheat strains, the same as below.

表 4 不同 PEG-6000 浓度下小麦胚芽鞘长度变化/mm

Table 4 Changes in wheat coleoptile under different PEG-6000 concentrations

品系 Strain	PEG-6000 处理浓度 PEG-6000 treatment concentration/%				
	0 (CK)	10	15	20	25
A	4.10±0.26d	3.81±0.34e	3.13±0.61d	2.74±0.88d	2.32±0.25d
B	3.95±0.22e	4.13±0.27c	2.71±0.35e	2.42±0.24d	2.03±0.93e
C	4.72±0.37b	4.54±0.18b	4.14±1.02ab	3.91±0.37b	3.74±0.82b
D	4.97±0.21a	4.91±0.49a	4.52±0.95a	4.14±0.41a	3.91±0.37a
E	4.34±0.92c	4.03±0.34d	3.51±0.13c	3.23±0.56c	2.83±1.01c
F	4.60±0.27b	4.52±0.51b	3.93±0.61bc	3.52±0.29bc	3.22±0.36b
平均值 Mean value	4.45±0.81	4.31±0.99	3.62±0.29	3.31±0.34	3.04±0.52
胚芽鞘缩短比率 平均值/% Mean coleoptile shortening ratio	0	3.15	18.65	25.62	31.69

表 5 不同年份各水分处理下小麦产量/(kg·hm⁻²)

Table 5 Wheat yield under different water treatments in different years

品系 Strain	2022				2023			
	雨养 Rain treatment	旱棚 Dry shed treatment	灌溉 Irrigation treatment	抗旱系数 Drought resistance factor	雨养 Rain treatment	旱棚 Dry shed treatment	灌溉 Irrigation treatment	抗旱系数 Drought resistance factor
A	2005.68cd	2825.14a	7468.46b	1.41a	6881.09c	4095.37c	7607.63b	0.60c
B	1825.09d	1000.05d	6385.40c	0.55c	7939.81ab	5514.61a	8044.40b	0.69bc
C	2855.73a	2550.13b	4873.99e	0.89b	4195.21de	3227.33e	4787.74d	0.77b
D	2477.87bc	2527.88b	5330.85d	1.02b	4092.20e	4596.15bc	5419.85c	1.12a
E	1689.00c	2305.62c	7231.53b	1.37ab	9704.74a	4891.66b	8820.52a	0.50d
F	2519.54b	2397.29c	8218.99a	0.95b	8646.02ab	3747.85d	9027.87a	0.43e

平均差值。由雨养无灌溉试验结果看 2021—2022 年生育期降水量仅 101.10 mm,为大旱之年,平均产量 2 228.86 kg·hm⁻²,2022—2023 年生育期降水量 197.30 mm,为相对丰水年,平均产量 6 905.85 kg·hm⁻²,两年度间年均产量差异极显著($P<0.01$)。不同小麦品系产量对水分处理的敏感程度有差异,能够在一定程度上反映小麦品系的抗旱性。2022 年为干旱年份,雨养条件下品系 C、D 的产量在 6 个供试品系中分别位居第 1 和第 3,抗旱系数分别为 0.89 和 1.02;2023 年为相对丰水年,品系 C、D 的抗旱系数分别为 0.77 和 1.12,说明这 2 个品系对气候异常不敏感,抗旱性良好,与萌发期的结果一致。6 个供试小麦品系两年的灌溉处理与旱棚处理的产量差值均为正值,且 2022 年平均值大于 2023 年,说明降水量稀少的年份调节灌溉对小麦的产量影响更大。雨养处理与旱棚处理的产量差值在 2022 年品系 B、C、F 为正值,A、D、E 为负值,2023 年除品系 D 为负值外,其余品系均为正值,且产量均大于 2022 年,进一步说明 C、D 品系对水分敏感度弱抗旱性强。

2.4 干旱胁迫对抗旱功能基因表达的影响

为进一步探讨各品系的抗旱性,选定 6 个公认的抗旱功能基因,并利用荧光定量 PCR 技术,分析了 2023 年 6 个小麦品系灌浆期旗叶中上述基因对于干旱胁迫的响应模式。由图 3 可知,*TaCART-D* 的表达水平最高,其次是 *TaBADHb*,*XTH-7A* 的表达水平最低。A 品系的 *TaBADHb*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCART-D* 和 *TaPK7* 基因的相对表达量均高于平均水平;C 和 D 品系的 *Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCART-D* 基因相对表达量均高于其他品系,且二者之间的表达量差异不显著。这表明小麦的抗旱性是由多个基因共同决定的,且这 3 种基因在提升二者的抗旱性方面有一定作用。A 和 B 是‘西峰 27 号’与‘晋麦 102’杂交产生的姊妹系,其在 *Wdreb2* 和 *XTH-7A* 的相对表达量上无显著差异($P>0.05$);D、E 和 F 是由‘1019-9-1’与‘京 BH-002’杂交产生的姊妹系,E

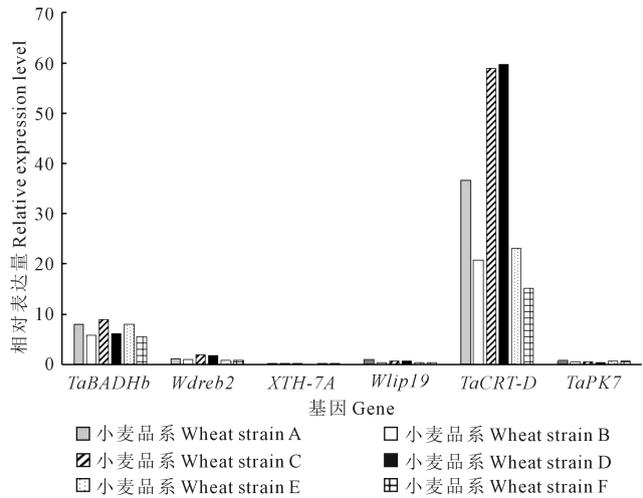


图 3 抗旱基因在供试小麦品系中的相对表达量

Fig.3 Relative expression level of drought-resistant genes in the tested wheat strains

和 F 在 *Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaPK7* 的相对表达量上没有显著差异($P>0.05$),但两品系与 D 相比则差异显著($P<0.05$)。以上结果说明,在抗旱育种中,所选的 6 个功能基因值得特别关注。*TaCART-D* 在所有 6 个品系中的相对表达量均较高,尤其是在 C 和 D 品系中,其表达量远超其他品系。这与抗旱试验的结果一致,进一步证实了 C 和 D 品系的优良抗旱性是由其自身基因控制的。同时,研究发现陇东旱地育成材料的主要抗旱基因为 *TaCART-D*。

3 讨论与结论

本文利用小麦不同生育时期抗旱性鉴定评价技术体系对陇东旱地育成的 6 个冬小麦高代品系进行抗旱性评价,并检测了供试材料中 6 个抗旱功能基因的相对表达量,初步筛选出 2 个抗旱性较强的品系和 4 个表达量较高的基因。主要结论如下:

(1)在模拟干旱条件下,小麦种子发芽率和胚芽鞘长度均有明显下降,品系间差异显著,这 2 个指标能够用于冬小麦抗旱育种评价。供试的小麦品

系‘1576-2-0-2’、‘15119-1-0-2’在种子发芽率和胚芽鞘长度指标方面均表现出强抗旱性。

(2)不同小麦品系的产量对水分处理的敏感程度有差异,能够在一定程度上反映小麦品系的抗旱性。在自然降水差异较大的2个试验年份,小麦品系‘1576-2-0-2’、‘15119-1-0-2’的产量和抗旱系数在6个供试品系中位居前列,说明这2个品系对水分异常不敏感,抗旱性良好,与萌发期的结果一致。

(3)荧光定量PCR分析检测6个供试小麦品系灌浆期旗叶中6个抗旱功能基因的干旱胁迫表达响应,所有目的基因在受到干旱胁迫后被诱导,且*TaCRT-D*的表达水平最高,‘1576-2-0-2’、‘15119-1-0-2’两个品系的*Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCRT-D*相地表达量均高于其他品系。

在小麦抗旱育种过程中,如何快速鉴定育成材料的抗旱性对育种者来说至关重要,本研究针对萌发期、苗期和成熟期采用不同方法进行综合鉴定,并对鉴定结果进行抗旱基因检测验证,结果显示抗旱鉴定方法可靠。但田间鉴定历时较长,费工费时,较大育种群体实现较为困难。利用PEG-6000等高渗溶液模拟干旱胁迫试验结果和灌浆期旗叶中*Wdreb2*、*XTH-7A*、*Wlip19*、*TaCRT-D*等4个表达量较高的基因(尤其是*TaCRT-D*)进行抗旱基因检测,是对早期世代抗旱选择较为便捷的方法之一。本研究在前期小麦抗旱性状筛选的基础上查阅文献选择上调表达抗旱基因,实时荧光PCR检测基因相对表达量,未来需进一步聚合更多的抗旱基因进行分析,从而提高抗旱育种效率。

参考文献:

- [1] 孟雨,田文仲,温鹏飞,等.基于不同发育阶段协同的小麦品种抗旱性综合评判[J].作物学报,2023,49(2):570-582.
MENG Y, TIAN W Z, WEN P F, et al. Comprehensive evaluation of drought resistance of wheat varieties based on synergy of different developmental stages [J]. Acta Agronomica Sinica, 2023, 49(2): 570-582.
- [2] 李瑞雪,孙任洁,汪秦初,等.植物抗旱性鉴定评价方法及抗旱机制研究进展[J].生物技术通报,2017,33(7):40-48.
LI R X, SUN R J, WANG T C, et al. Research progress on identification and evaluation methods, and mechanism of drought resistance in plants[J]. Biotechnology bulletin, 2017, 33(7): 40-48.
- [3] WEI N C, ZHANG S Q, LIU Y, et al. Genome-wide association study of coleoptile length with Shanxi wheat[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1016551.
- [4] 褚风潇. TaPAY1-RNAi 转基因小麦抗旱性评估[D].泰安:山东农业大学,2023.

- CHU F X. Assessment of drought resistance in TaPAY1-RNAi transgenic wheat plants[D]. Tai'an: Shan Dong Agricultural University, 2023.
- [5] SALEHNI N, SALEHNI N, SARADARI TORSHIZI A, et al. Rain-fed wheat (*Triticum aestivum* L.) yield prediction using economical, meteorological, and drought indicators through pooled panel data and statistical downscaling[J]. Ecological Indicators, 2020, 111: 105991.
- [6] NIE J W, ZHOU J, ZHAO J, et al. Soybean crops penalize subsequent wheat yield during drought in the North China Plain[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 947132.
- [7] 李龙,毛新国,王景一,等.小麦种质资源抗旱性鉴定评价[J].作物学报,2018,44(7):988-999.
LI L, MAO X G, WANG J Y, et al. Drought tolerance evaluation of wheat germplasm resources [J]. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(7): 988-999.
- [8] ZHU J K. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 941-948.
- [9] 李素,姜鸿明,宫德衬,等.48份冬小麦主要田间农艺性状的主成分分析及抗旱性综合评价[J].山东农业科学,2014,46(7):25-30.
LI S, JIANG H M, GONG D C, et al. Principal component analysis of primary agronomic characters and comprehensive evaluation on drought resistance of 48 winter wheat cultivars[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2014, 46(7): 25-30.
- [10] 周琪,冯燕茹,李嵩,等.小麦*TaXTH-7A*基因的克隆及抗旱性鉴定[J].农业生物技术学报,2019,27(9):1521-1532.
ZHOU Q, FENG Y R, LI S, et al. Cloning and drought resistance identification of TaXTH-7A gene in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Journal of agricultural biotechnology, 2019, 27(9): 1521-1532.
- [11] 方静,史功斌,魏淑丽,等.干旱胁迫对春小麦旗叶生理特征及其根系抗旱基因表达特征的影响[J].干旱地区农业研究,2022,40(3):46-55.
FANG J, SHI G F, WEI S L, et al. Effects of drought stress on physiological characteristics of flag leaves and expression characteristics of drought-resistant genes in roots of spring wheat[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2022, 40(3): 46-55.
- [12] 张洪映,毛新国,景蕊莲,等.小麦*TaPK7*基因单核苷酸多态性与抗旱性的关系[J].作物学报,2008,34(9):1537-1543.
ZHANG H Y, MAO X G, JING R L, et al. Relationship between single nucleotide polymorphism of TaPK7 gene and drought tolerance in wheat[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(9): 1537-1543.
- [13] WANG J P, LI R Z, MAO X G, et al. Functional analysis and marker development of *TaCRT-D* gene in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1557.
- [14] 刘自成.庆农号冬小麦品种选育特点与创新途径研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2005.
LIU Z C. Study on characteristic and innovated approaches of varieties breeding in winter wheat named Qingnong [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2005.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.小麦抗旱性鉴定评价技术规范:GB/T 21127-2007[S].北京:中国标准出版社,2007.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, China National Standardization Administration. Technical specification of identification and evaluation for drought resistance in wheat [S]. Beijing: Standards Press of China, 2007.