

4 个小麦抗旱相关转录因子基因的表达及其与抗旱生理生化指标的相关性

刘秉焱, 韩翠英, 刘虎岐

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 筛选转录因子基因作为小麦抗旱性鉴定指标, 丰富和补充小麦抗旱鉴定体系。以 4 个抗旱性不同的小麦品种为材料, 通过实时荧光定量 PCR, 检测 4 个抗旱相关转录因子基因 (*TaERF1*, *TaMYB30*, *TaNAC69*, *Wabi5*) 在不同处理时间的表达, 同时分析干旱胁迫下 4 个抗旱生理生化指标的变化, 探究 4 个转录因子基因的表达与抗旱生理生化指标之间的相关性。结果表明, 基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达都受干旱胁迫的诱导, 且在抗旱性不同的小麦品种中的表达模式存在明显差异; 相关性分析表明, *TaERF1* 在各胁迫持续时间点的表达量都与可溶性蛋白和丙二醛(MDA)呈显著或极显著相关, 在胁迫处理 3 h、24 h 和 48 h 时, *TaERF1* 的表达量与相对含水量(RWC)显著相关, *TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 在一定时段的干旱胁迫后的表达量也分别与可溶性糖、可溶性蛋白、RWC 和 MDA 存在显著相关性。说明转录因子基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达可以作为评估小麦抗旱性的参考指标。

关键词 小麦; 干旱抗性; 转录因子; 抗旱指标

中图分类号 S332.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2016)04-0530-08

干旱是影响农作物产量的主要非生物胁迫因子之一。选育抗旱性较强的作物品种是提高农作物产量的一个重要途径, 快速准确的对作物抗旱性进行鉴定是品种选育的关键。目前对小麦抗旱性的评价多从形态结构和生理生化水平着手, 较少有直接从分子水平对小麦抗旱性评价的研究^[1-2]。植物受到干旱胁迫以后, 通过调节体内多个胁迫应答功能基因的表达来提高自身的耐胁迫能力^[3]。转录因子作为调控因子, 在干旱胁迫下的信号转导及功能基因的表达中起着承上启下的重要作用^[3-4]。

研究表明, 与干旱胁迫应答相关的转录因子多为 AP2/ERF、MYB/MYC、NAC 和 bZIP 类转录因子^[5-6]。AP2/ERF 类转录因子基因 *TaERF1* 的表达在干旱胁迫后上调, 将 *TaERF1* 转入拟南芥、小麦及烟草, *TaERF1* 的超表达使多个胁迫应答相关基因的表达上调, 显著增强转基因植株对渗透胁迫的抗性^[7]。在干旱胁迫下, MYB

类转录因子编码基因 *TaMYB30* 的表达上调, 转入 *TaMYB30* 的拟南芥在发芽和幼苗阶段对干旱的抗性显著增强, 一些与干旱胁迫应答相关基因的表达水平也发生了变化^[8-9]。NAC 类转录因子编码基因 *TaNAC69* 的表达水平也因干旱胁迫而显著上调, 超表达 *TaNAC69* 的小麦植株中一些干旱胁迫诱导基因的表达被上调, 转基因植株的水分利用效率升高, 抗旱性显著增强^[10-12]。*Wabi5* 是小麦中一个 bZIP 类转录因子编码基因, 其表达也因干旱胁迫而上调, 转 *Wabi5* 基因烟草对干旱的耐受性显著增强, *Wabi5* 的表达使烟草中多个胁迫应答相关基因的表达增强, 表明 *Wabi5* 在干旱胁迫应答反应中发挥着重要作用^[13]。

本研究通过测定干旱胁迫下小麦中转录因子基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达及几个常用生理生化指标的变化, 进一步分析这些生理生化指标的变化与基因表达的相关性, 以期从基因的角度着手, 探讨转录因子基

收稿日期: 2015-03-02 **修回日期:** 2015-04-04

基金项目: 西北农林科技大学青年学术骨干研究基金(01140302)。

第一作者: 刘秉焱, 男, 硕士, 从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail: 327883242@qq.com

通信作者: 刘虎岐, 男, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事植物分子遗传学、植物干旱抗性 & 植物发育生物学研究。E-mail: liuhuqi@nwsuaf.edu.cn

因的表达分析作为小麦抗旱性鉴定指标的可行性,丰富和补充小麦抗旱鉴定体系,为小麦抗旱育种研究提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

以 2 个抗旱性较好的小麦品种‘普冰 9946’和‘运旱 805’,2 个干旱敏感性品种‘西农 979’和‘中麦 895’为材料,小麦种子均来自西北农林科技大学农学院。

采用水培法,选取籽粒饱满、大小一致的小麦种子,用自来水清洗 2 次,然后用 $\varphi=10\%$ 的次氯酸钠溶液消毒 15 min,再用蒸馏水清洗干净。在培养皿的底部铺 2 层滤纸,将种子均匀铺于滤纸上,加蒸馏水使滤纸充分吸水浸湿,室温暗室催芽约 24 h。挑出不发芽的种子,将发芽一致的种子均匀摆在培养皿($d=200\text{ mm}$)中,置于 25 ℃(光照 16 h,黑暗 8 h)培养箱中培养。小麦幼苗长至 15 d 时,向培养皿中加入 15 mL $w=20\%$ PEG-6000 溶液模拟干旱胁迫处理,同时设置水处理对照。

1.2 生理生化指标的测定

分别采取对照组和 PEG 处理 48 h 的小麦幼苗整体叶片,测定 4 个耐旱生理生化指标,每组 3 个重复,每次做 3 个平行反应。相对水分含量(RWC)=(鲜质量-干质量)/(饱和质量-干质量) $\times 100\%$ ^[14]。丙二醛(MDA)摩尔质量浓度测定采用硫代巴比妥酸比色法^[15]。可溶性糖质量浓度测定采用蒽酮比色法^[16]。可溶性蛋白质量浓度测定采用考马斯亮蓝 G250 比色法^[17]。

1.3 实时荧光定量 PCR

分别在 PEG 处理 3、6、12、24 和 48 h 时取小麦幼苗叶片并提取 RNA,分析转录因子基因的表达量。采用 Trizol 试剂(TaKaRa 公司)提取小麦幼苗叶片总 RNA,经超微量紫外分光光度计检测和琼脂糖凝胶电泳检测,确定 RNA 的纯度及完整性,用 HiScript™ QRT SuperMix for qPCR(+ gDNA wiper)试剂盒进行反转录,合成 cDNA。

运用软件 Primer premier 5.0,分别设计各基因的特异性引物(表 1),引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

表 1 候选基因及其引物

Table 1 Candidate Genes and primer sequence

基因名称 Gene	GenBank 登记号 Accession number	引物序列(5'→3') Primer sequence
<i>TaERF1</i>	AY271984	Forward: GTGTCCGTGTCTGGCTTGGT Reverse: GCACCTTCACAGCAGTAGCG
<i>TaMYB30</i>	JF951913	Forward: GGAGGATGACGTGCTTCGTG Reverse: CTGCCTGAGACAACCTTTGCTATT
<i>TaNAC69</i>	AY625682	Forward: GCCAAGTCGTGCTCCCTCA Reverse: CGTAGCCGTTGTTGTTATTATAGTGT
<i>Wabi5</i>	AB193553	Forward: GAACCAATGCCGTACTCGTT Reverse: AGCACTGCCGCTTCTTCC
<i>βactin</i>	AB181991	Forward: CTTGTATGCCAGCGGTCAACA Reverse: CTCATAATCAAGGGCCACGTA

实时荧光定量 PCR 扩增用 AceQ™ qPCR SYBR® Green Master Mix 试剂盒,以基因 β actin 为内参,在 CFX96 型实时定量 PCR 仪(Bio-Rad 公司)上进行,每个样品重复 3 次,且每次做 3 个平行反应。实时荧光定量 PCR 反应体系(10 μ L)为 cDNA 模板 1 μ L, AceQ™ qPCR SYBR® Green Master Mix 5 μ L,上下游引物各 0.2 μ L(10 μ mol/L),灭菌超纯水 3.6 μ L。PCR 扩增程序如下:95 ℃ 5 min;95 ℃ 10 s,61 ℃ 30 s,40 个循环;反应结束后 65 ℃ 5 s,并以 0.5 ℃/s 的速度升至 95 ℃进行溶解曲线分析。

1.4 数据统计分析

用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 软件进行生理生化指标数据分析。以对照组各指标的测定值为参照,以 PEG 处理持续 48 h 后的测定值与对照组的比值作为各生理生化指标的相对变化,并用 SPSS 软件分析各指标相对变化之间的相关性。

用 CFX Manager 软件及 Microsoft Excel 2007,按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[18] 计算目标基因的相对表达量。用 SPSS 软件分析不同处理持续时间下各基因的相对表达量与各生理生化指标的相对变化之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同品种小麦抗旱生理生化指标差异分析

测定对照组及 PEG 处理持续 48 h 的各品种小麦的 4 种生理生化指标(表 2),PEG 处理后的小麦中 4 种生理生化指标与对照组都具有显著差异。计算胁迫 48 h 后各指标的相对变化(表 3),结果发现 4 个生理生化指标的相对变化在抗旱性不同的小麦品种间都存在显著差异。2 个抗旱性

品种叶片中可溶性糖和可溶性蛋白的相对变化均大于 2 个干旱敏感性品种,可溶性糖在‘普冰 9946’中的相对变化最大,为 1.96,是最小的‘西农 979’的 1.4 倍。可溶性蛋白相对变化最大的品种‘运早 805’是相对变化最小的品种‘中麦 895’的 1.5 倍。MDA 在 2 个干旱敏感性的品种中的相对变化均大于 2 个抗旱性品种。RWC 在 2 个干旱敏感性品种中的变化也较大。

表 2 4 种材料对照组和干旱胁迫 48 h 后的生理指标($\bar{x} \pm s_x$)

Table 2 Physiological indicators in control group and drought of four materials after 48 h

品种 Cultivar	可溶性糖质量浓度/(mg/L) Soluble sugar mass concentration		可溶性蛋白质量浓度/(mg/L) Soluble protein mass concentration		丙二醛质量摩尔浓度/ ($\mu\text{mol/g}$) Molality of MDA		相对含水量/% RWC	
	0 h	48 h	0 h	48 h	0 h	48 h	0 h	48 h
普冰 9946 Pubing 9946	37.75 $\pm$ 0.48	73.87 $\pm$ 0.48	52.03 $\pm$ 0.58	86.43 $\pm$ 0.95	6.14 $\pm$ 0.11	10.50 $\pm$ 0.25	93.66 $\pm$ 1.72	71.71 $\pm$ 1.76
运早 805 Yunhan 805	47.96 $\pm$ 0.47	84.17 $\pm$ 0.37	46.68 $\pm$ 0.84	82.79 $\pm$ 1.04	7.44 $\pm$ 0.53	12.37 $\pm$ 0.78	92.95 $\pm$ 1.23	70.84 $\pm$ 1.40
西农 979 Xinong 979	36.79 $\pm$ 0.20	51.46 $\pm$ 2.92	63.01 $\pm$ 0.76	77.86 $\pm$ 1.14	7.33 $\pm$ 0.11	13.69 $\pm$ 0.37	93.67 $\pm$ 1.86	64.47 $\pm$ 1.56
中麦 895 Zhongmai 895	43.15 $\pm$ 0.34	68.62 $\pm$ 0.23	68.28 $\pm$ 0.73	80.99 $\pm$ 0.73	7.77 $\pm$ 0.13	15.08 $\pm$ 0.36	95.64 $\pm$ 2.12	63.30 $\pm$ 2.44

表 3 干旱胁迫 48 h 后各个抗旱生理生化指标的相对变化($\bar{x} \pm s_x$)

Table 3 Relative change of physiological and biochemical indexes of drought after 48 h

品种 Cultivar	可溶性糖相对变化 Relative change of soluble sugar	可溶性蛋白相对变化 Relative change of soluble protein	丙二醛相对变化 Relative change of MDA	相对含水量相对变化 Relative change of RWC
普冰 9946 Pubing 9946	1.96 $\pm$ 0.01	1.66 $\pm$ 0.04	1.71 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.02
运早 805 Yunhan 805	1.75 $\pm$ 0.02	1.77 $\pm$ 0.01	1.66 $\pm$ 0.03	0.76 $\pm$ 0.01
西农 979 Xinong 979	1.40 $\pm$ 0.09	1.24 $\pm$ 0.01	1.87 $\pm$ 0.03	0.69 $\pm$ 0.01
中麦 895 Zhongmai 895	1.59 $\pm$ 0.02	1.19 $\pm$ 0.01	1.94 $\pm$ 0.03	0.66 $\pm$ 0.04
<i>LSD</i> _{0.05}	0.087	0.036	0.050	0.041

相关性分析(表 4)表明,PEG 处理以后,可溶性蛋白的相对变化与 MDA 的相对变化呈负相关($r = -0.986, P < 0.05$),与相对含水量的相对变化呈正相关($r = 0.974, P < 0.05$)。MDA 的相对变化与相对含水量的相对变化呈负相关($r = -0.985, P < 0.05$)。而可溶性糖与可溶性蛋白,MDA 和 RWC 间的相关性不显著。

2.2 各转录因子基因在不同品种小麦中的表达模式分析

4 个转录因子基因在不同品种的小麦中的表达模式如图 1 所示。PEG 处理下, *TaERF1* 在 4 个品种的小麦中具有相似的表达模式,都表现出上升一下降一再上升一再下降的模式。第 1 个表达峰值都位于 3 h 时,之后逐渐降低,12 h 时为最低。24 h 时,基因 *TaERF1* 的相对表达量再次升高,达到第 2 个表达峰值。2 个抗旱性品种小麦

中基因 *TaERF1* 的表达水平明显高于 2 个干旱敏感性品种,3 h 和 24 h 时,基因 *TaERF1* 在‘普冰 9946’中的相对表达量分别为 3.39 和 3.67,在‘运早 805’中分别为 3.53 和 3.92,而在‘西农 979’中为 2.04 和 1.73,‘中麦 895’中为 1.87 和 1.52。

PEG 处理下,各品种的小麦幼苗中 *TaMYB30* 的表达水平都上调了,且在各品种中随胁迫处理时间都呈现出上升一下降一上升的表达模式。但在 2 个抗旱性品种中 *TaMYB30* 表达的诱导明显比 2 个干旱敏感性品种快而强,3 h 时 2 个抗旱性品种中的相对表达量即达到最大,‘普冰 9946’中为 4.75,‘运早 805’中为 3.71,而 2 个干旱敏感性品种中,6 h 时才达到最大相对表达量,‘西农 979’中为 3.00,‘中麦 895’中为 2.21。

表 4 各个抗旱生理生化指标相对变化之间的相关性

Table 4 Correlation among relative change of physiological and biochemical indexes

项 目 Item	可溶性糖相对变化 Relative change of soluble sugar	可溶性蛋白相对变化 Relative change of soluble protein	丙二醛相对变化 Relative change of MDA	相对含水量相对变化 Relative change of RWC
可溶性糖相对变化 Relative change of soluble sugar	1	0.790	−0.720	0.800
可溶性蛋白相对变化 Relative change of soluble protein	0.790	1	−0.986 *	0.974 *
丙二醛相对变化 Relative change of MDA	−0.720	−0.986 *	1	−0.985 *
相对含水量相对变化 Relative change of RWC	0.800	0.974 *	−0.985 *	1

注：* 和 * * 分别表示相关性达显著 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$) 水平。表 5 同。

Note: * and * * indicate significant correlation ($P<0.05$) and very significant ($P<0.01$) respectively. The same as in table 5.

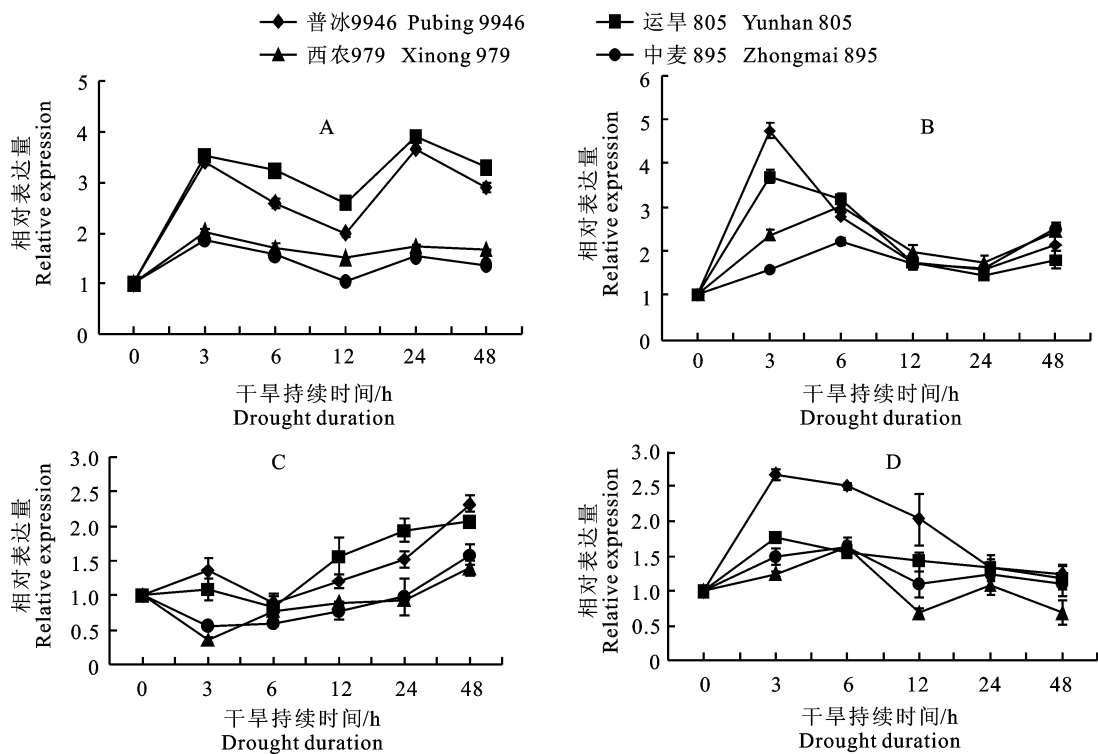


图 1 转录因子基因 *TaERF1* (A)、*TaMYB30* (B)、*TaNAC69* (C) 和 *Wabi5* (D) 在 4 个品种小麦中的表达模式

Fig. 1 Expression profiles of transcription factor genes *TaERF1* (A), *TaMYB30* (B), *TaNAC69* (C) and *Wabi5* (D) in four varieties of wheat

PEG 处理下, *TaNAC69* 在抗旱性品种和干旱敏感性品种中的表达模式有所不同。在 2 个抗旱性品种中, 3 h 时 *TaNAC69* 的表达量与对照组相比基本相等, 6 h 时其表达量有所下降, 6 h 以后, 其表达量逐渐上升, 48 h 时都达到对照组的 2 倍以上; 而在 2 个干旱敏感性品种中, 3 h 时 *TaNAC69* 的表达量都显著低于对照组, 3 h 以后表达量逐渐持续上升, 48 h 时其表达量显著高于对照组, ‘西农 979’ 中相对表达量为 1.39, ‘中麦 895’ 中的相对表达量达到了 1.58。

PEG 处理下, *Wabi5* 在不同品种小麦中的表达模式也不同。在 2 个抗旱性品种中, *Wabi5* 都被快速诱导表达, 3 h 时表达水平即达到最高, 之后逐渐下降并最终达到与对照组基本相同的水平。而在 2 个干旱敏感性品种中, *Wabi5* 表达的诱导较慢, 6 h 时表达量达到最高值, 之后逐渐下降, ‘中麦 895’ 最终基本恢复到对照的水平, 而 ‘西农 979’ 中的表达量下降较快, 12 h 时显著低于对照组, 24 h 时有所回升, 48 h 再次下降, 最终低于对照。PEG 处理诱导后, 抗旱品种 ‘普冰

9946’中 *Wabi5* 的表达量显著高于其他品种。

2.3 各转录因子基因的相对表达量与生理生化指标相对变化的相关性分析

将 4 个转录因子基因的相对表达量与所测 4 个生理生化指标的相对变化进行相关性分析(表 5)。*TaERF1* 在 PEG 处理 3 h、24 h 和 48 h 时的相对表达量与可溶性蛋白的相对变化呈极显著相关,6 h 呈显著相关;在胁迫 3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h 时的相对表达量与 MDA 的相对变化呈显著相关,说明 *TaERF1* 的表达与可溶性蛋白和 MDA 具有非常密切的关系。*TaERF1* 在胁迫 3 h、24 h 和 48 h 时的相对表达量与 RWC 显著相关,而其在各个胁迫时间点的相对表达量与可溶性糖相对变化的相关性都不显著,说明转录因子

TaERF1 可能没有参与有关糖代谢的调控。*TaMYB30* 在 PEG 处理 3 h 时的相对表达量与 RWC 的相对变化显著相关,48 h 与可溶性蛋白的相对变化显著相关。*TaNAC69* 在 PEG 处理后 3 h 的相对表达量与可溶性糖的相对变化显著相关,12 h 的相对表达量与可溶性蛋白和 MDA 的相对变化显著相关,24 h 的相对表达量与可溶性蛋白的相对变化显著相关,48 h 的相对表达量与可溶性糖的相对变化显著相关。*Wabi5* 在 PEG 处理 3 h 的相对表达量与可溶性糖的相对变化显著相关,12 h 的相对表达量与可溶性糖的相对变化极显著相关,说明转录因子 *Wabi5* 可能参与有关糖代谢的调控。

表 5 转录因子基因相对表达量与生理生化指标相对变化的相关性
Table 5 Correlation between relative expression of transcription factor genes and relative change of physiological and biochemical indexes

基因 Gene	干旱持续时间 Drought duration	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	丙二醛 MDA	相对含水量 RWC
<i>TaERF1</i>	3 h	0.825	0.996**	-0.985*	0.988*
	6 h	0.693	0.983*	-0.966*	0.923
	12 h	0.554	0.948	-0.969*	0.913
	24 h	0.824	0.997**	-0.984*	0.984*
	48 h	0.751	0.998**	-0.994*	0.975*
<i>TaMYB30</i>	3 h	0.841	0.881	-0.901	0.961*
	6 h	0.079	0.625	-0.734	0.662
	12 h	-0.766	-0.490	0.341	-0.371
	24 h	-0.667	-0.738	0.625	-0.578
	48 h	-0.642	-0.965*	0.947	-0.891
<i>TaNAC69</i>	3 h	0.978*	0.896	-0.847	0.905
	6 h	0.614	0.822	-0.893	0.924
	12 h	0.600	0.961*	-0.961*	0.903
	24 h	0.707	0.973*	-0.941	0.896
	48 h	0.982*	0.887	-0.838	0.899
<i>Wabi5</i>	3 h	0.951*	0.671	-0.633	0.750
	6 h	0.734	0.348	-0.348	0.502
	12 h	0.995**	0.749	-0.685	0.779
	24 h	0.913	0.768	-0.655	0.684
	48 h	0.901	0.677	-0.552	0.593

3 讨论

3.1 各转录因子基因的表达受干旱胁迫诱导

转录因子在干旱胁迫信号的转导和功能基因的表达中具有极其重要的调控作用。一个转录因

子可能调控多个功能基因的表达^[19-20],说明转录因子往往作用于干旱胁迫信号转导和调控网络的关键节点。本研究中各基因的表达出现上下波动的模式,特别是 *TaERF1* 和 *Wabi5* 的表达量表现为上升一下降一再上升一再下降的模式。有报道

表明一般 mRNA 的表达都为脉冲型^[21],因此,上下波动表达也应该为一种正确的基因表达类型。通过比较 4 个转录因子基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 在 4 个不同品种的小麦幼苗叶片中相对表达量变化发现,在 PEG 处理处理下,各个基因的表达水平都不同程度被上调,这与前人的研究结果一致^[7-13],也说明这 4 个转录因子在小麦对干旱胁迫的应答中发挥重要作用;同时,据此推测转录因子 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 在小麦干旱胁迫应答中起正调控的作用。

3.2 4 个转录因子基因在不同小麦中的表达模式存在差异

根据信号传递过程是否需要脱落酸(ABA)的参与,植物的干旱胁迫信号转导途径分为 ABA 依赖性途径和非 ABA 依赖性途径两类^[22]。不同的信号转导途径在发挥的作用和响应的时间上都不同^[23]。转录因子 *TaERF1*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 为 ABA 依赖性信号转导途径中的调节因子^[7,10,13],而 *TaMYB30* 为非 ABA 依赖性信号转导途径中的调节因子^[8-9]。本试验结果中,各个基因在不同品种的小麦中的表达水平和诱导模式都存在差异,其原因可能是每个基因所参与的信号转导通路不同,并且不同品种的小麦应答干旱胁迫的机制存在差异。与干旱敏感性小麦相比,2 个抗旱性品种小麦的幼苗叶片中基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达受干旱胁迫的诱导更为明显。进一步表明这些转录因子可能参与小麦干旱胁迫应答反应。

3.3 各转录因子基因的表达与生理生化指标的相关性

植物受到干旱胁迫以后,体内产生的活性氧会将细胞膜过氧化而产生 MDA,所以 MDA 指标直接反映细胞膜的损伤程度;植物体内一些清除活性氧的酶含量的增加,能够减轻活性氧对细胞膜的伤害;干旱胁迫下,植物体内可溶性蛋白、可溶性糖等高亲水性分子的积累可以防止细胞水分流失^[24]。同时,LEA 蛋白等可溶性蛋白具有稳定细胞膜结构,作为分子伴侣结合离子和防止氧化等作用^[25]。本研究中,可溶性蛋白的相对变化与 MDA 的相对变化显著负相关,与 RWC 的相对变化显著相关,与上述理论一致。*TaERF1* 的相对表达量与可溶性蛋白相对变化的相关性除了在 12 h 不显著外,其余各个胁迫持续时段都呈显

著或极显著,*TaERF1* 在各个胁迫持续时段的相对表达量与 MDA 的相对变化都呈显著负相关,同时,3、24 和 48 h 的相对表达量与 RWC 的相对变化显著相关,表明转录因子 *TaERF1* 可能参与调控可溶性蛋白及活性氧清除相关的酶表达量对于干旱胁迫的植物进行保护,提高植物的抗旱能力。*TaMYB30* 的相对表达量和 RWC 的相对变化显著相关,与可溶性蛋白相对变化显著负相关,说明转录因子 *TaMYB30* 可能参与调控可溶性蛋白的积累而提高小麦的保水能力。*TaNAC69* 的相对表达与可溶性糖和可溶性蛋白的相对变化显著相关,与 MDA 的相对变化显著负相关,表明干旱胁迫下,*TaNAC69* 可调控可溶性糖和可溶性蛋白等溶质的积累,对细胞膜产生保护作用。*Wabi5* 的相对表达与可溶性糖的相对变化显著或极显著相关,反映 *Wabi5* 可能参与调节可溶性糖的积累,提高小麦耐旱性。

总之,转录因子基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达与小麦干旱胁迫应答反应具有密切的关系,在小麦幼苗叶片中的表达均有上调,且在抗旱性品种‘普冰 9946’和‘运旱 805’中的表达量比干旱敏感性品种‘西农 979’和‘中麦 895’中高。可溶性蛋白、可溶性糖、RWC 和 MDA 是评价植物抗旱性的常用指标^[13],而在本研究中,*TaERF1* 在各个时段的表达与可溶性蛋白和 RWC 有显著或极显著相关性,与 MDA 显著负相关;*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 在一定时间的干旱胁迫下的表达量也分别与可溶性蛋白、可溶性糖、RWC 和 MDA 存在显著相关性,因此,在评估小麦的抗旱性时,可以将基因 *TaERF1*、*TaMYB30*、*TaNAC69* 和 *Wabi5* 的表达情况作为参考指标。

参考文献 Reference:

- [1] 杨子光,张灿军,冀天会,等. 小麦抗旱性鉴定方法及评价指标研究. V 苗期抗旱指标的比较研究[J]. 中国农学通报, 2008,24(1):156-159.
YANG Z G,ZHANG C J,JI T H,*et al.* Comparative study on morphological indexes of drought resistance of wheat varieties[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(1):156-159(in Chinese with English abstract).
- [2] 肖佳雷,尹 静,孙连发,等. 不同类型春小麦抗旱生理指标耐旱指数的主成分分析[J]. 东北农业大学学报, 2007, 38(4):478-482.
XIAO J L,YIN J,SUN L F,*et al.* Main element analysis on drought tolerance exponential of drought-resistance physio-

- logical index of different spring wheat [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2007, 38(4): 478-482 (in Chinese with English abstract).
- [3] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(2): 221-227.
- [4] 李书粉, 孙富丛, 肖理慧, 等. 植物对非生物胁迫应答的转录因子及调控机制 [J]. *西北植物学报*, 2006, 26(6): 1295-1300.
- LI SH F, SUN F C, XIAO L H, *et al.* Transcriptional factors and their regulation mechanisms in plant responses to abiotic stresses [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2006, 26(6): 1295-1300 (in Chinese with English abstract).
- [5] SINGH K B, FOLEY R C, ONATE-SANCHEZ L. Transcription factors in plant defense and stress responses [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5(5): 430-436.
- [6] CHEN L M, LI W B, ZHOU X A. Regulatory network of transcription factors in response to drought in *Arabidopsis* and crops [J]. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 2012(3): 1-13.
- [7] XU Z S, XIA L Q, CHEN M, *et al.* Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 65(6): 719-732.
- [8] ZHANG L C, ZHAO G Y, JIA J Z, *et al.* Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(1): 203-214.
- [9] ZHANG L C, ZHAO G Y, XIA C, *et al.* A wheat R2R3-MYB gene, TaMYB30-B, improves drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(16): 5873-5885.
- [10] XUE G P, BOWER N I, MCINTYRE C L, *et al.* TaNAC69 from the NAC superfamily of transcription factors is up-regulated by abiotic stresses in wheat and recognises two consensus DNA-binding sequences [J]. *Functional Plant Biology*, 2006, 33(1): 43-57.
- [11] XUE G P, WAY H M, RICHARDSON T, *et al.* Overexpression of TaNAC69 leads to enhanced transcript levels of stress up-regulated genes and dehydration tolerance in bread wheat [J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(4): 697-712.
- [12] BALOGLU M C, OZ M T, OKTEM H A, *et al.* Expression analysis of TaNAC69-1 and TtNAMB-2, wheat NAC family transcription factor genes under abiotic stress conditions in durum wheat (*Triticum turgidum*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2012, 30(5): 1246-1252.
- [13] KOBAYASHI F, MAETA E, TERASHIMA A, *et al.* Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings [J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 134(1): 74-86.
- [14] BAYOUMI T Y, EID M H, METWALI E M. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2008, 7(14): 2341-2352.
- [15] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. *植物生理学通讯*, 1994(3): 207-210.
- ZHAO SH J, XU CH CH, ZOU Q, *et al.* Improvement of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues [J]. *Plant Physiology Communications*, 1994(3): 207-210 (in Chinese).
- [16] 刘海英, 王华华, 崔长海, 等. 可溶性糖含量测定(蒽酮法)实验的改进 [J]. *实验室科学*, 2013, 16(2): 19-20.
- LIU H Y, WANG H H, CUI CH H, *et al.* Experiment improvement of the soluble sugar content determination by anthrone colorimetric method [J]. *Laboratory Science*, 2013, 16(2): 19-20 (in Chinese with English abstract).
- [17] 赵英永, 戴云, 崔秀明, 等. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定草乌中可溶性蛋白质含量 [J]. *云南民族大学学报(自然科学版)*, 2006(3): 235-237.
- ZHAO Y Y, DAI Y, CUI X M, *et al.* Determination of protein contents of radix aconiti kusnezoffii using coomassie brilliant blue G-250 dye binding [J]. *Journal of Yunnan University of Nationalities (Natural Sciences Edition)*, 2006(3): 235-237 (in Chinese with English abstract).
- [18] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta C_t}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [19] MAO X G, ZHANG H Y, QIAN X Y, *et al.* TaNAC2, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(8): 2933-2946.
- [20] ZHANG G Y, CHEN M, LI L C, *et al.* Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(13): 3781-3796.
- [21] YU J, XIAO J, REN X J, *et al.* Probing gene expression in live cells, one protein molecule at a time [J]. *Science*, 2006, 311(5767): 1600-1603.
- [22] HUANG G T, MA S L, BAI L P, *et al.* Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants [J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(2): 969-987.
- [23] 唐益苗, 赵昌平, 高世庆, 等. 植物抗旱相关基因研究进展 [J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(1): 166-173.
- TANG Y M, ZHAO CH P, GAO SH Q, *et al.* Advances in genes related to plant drought tolerance [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2009, 29(1): 166-173 (in Chinese with English abstract).
- [24] FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, *et al.* Plant drought stress: effects, mechanisms and management [J].

Agronomy for Sustainable Development, 2009, 29 (1): 185-212.

[25] 白永琴,杨青川. LEA 蛋白研究进展[J]. 生物技术通报, 2009(9):1-7.

BAI Y Q, YANG Q CH. Study of late embryogenesis abundant protein[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2009(9): 1-7 (in Chinese).

Correlation between Expression of Drought-related Transcription Factor Genes and Physiological, Biochemical Indexes in Wheat

LIU Bingyan, HAN Cuiying and LIU Huqi

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract This paper aims at screening transcription factor genes as indexes of identification of wheat drought resistance, enriching and complementing the identification system of current wheat drought resistance. Correlation between expression of transcription factor genes and four physiological and biochemical indexes was investigated under drought stress using four varieties of wheat. The genes include four drought-related transcription factor genes (*TaERF1*, *TaMYB30*, *TaNAC69*, *Wabi5*). The results showed that the expression of *TaERF1*, *TaMYB30*, *TaNAC69*, *Wabi5* were induced by drought stress, and the expression profiles were different among the genes between drought tolerant wheat and drought sensitive wheat. Correlation analysis showed that the expression of *TaERF1* was significantly correlated to soluble protein and malonaldehyde (MDA) during drought stress, it also correlated to relative water content (RWC) after 3 h, 24 h and 48 h of drought. The expression of *TaMYB30*, *TaNAC69*, *Wabi5* after some certain time also had significant correlation with soluble protein, soluble sugar, RWC and MDA. The results indicated that the expression of *TaERF1*, *TaMYB30*, *TaNAC69* and *Wabi5* could be appraisal indexes of drought-tolerance of wheat.

Key words Wheat; Drought-resistance; Transcription factor; Drought-resistance index

Received 2015-03-02

Returned 2015-04-04

Foundation item Youth Academic Backbone Research Foundation of Northwest A&F University (No. 01140302).

First author LIU Bingyan, male, master. Research area: molecular biology of plant stress resistance. E-mail: 327883242@qq.com

Corresponding author LIU Huqi, male, associate professor, Ph. D, master instructor. Research area: plant molecular genetics, plant drought resistance and plant developmental biology. E-mail: liuhuqi@nwsuaf.edu.cn

(责任编辑: 成 敏 **Responsible editor: CHENG Min**)