

芝麻苗期干旱生理生化指标响应特征及其基因表达分析

刘文萍,刘霞霞,韩俊梅,文飞,吕伟,王若鹏

(山西农业大学经济作物研究所,山西太原030031)

摘要:为建立芝麻抗旱性快速鉴定体系及筛选芝麻抗旱品种,采用盆栽反复干旱法,设置正常水分(CK)和干旱胁迫(DS)两种处理,对31份芝麻材料进行生理生化指标测定和综合评价,同时利用qRT-PCR检测SOD合成相关基因的表达量。结果表明:芝麻苗期 O_2^- 、可溶性糖(SS)、脯氨酸(Pro)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性与CK相比均显著上升,各指标综合抗旱系数和抗旱指数的变异系数最高的分别是SOD(98.64%) and O_2^- (154.01%);抗旱指数与 O_2^- 含量、SOD活性呈极显著正相关关系,这两个指标可作为芝麻苗期抗旱性鉴定的重要指标。聚类分析将31份芝麻材料划分为5类抗旱类型,分别为高抗型、中抗型、低抗型、低感型和高感型。利用综合评价方法,筛选出高抗材料2份('汾芝10号'和'豫-11-1'),中抗旱材料4份,低抗旱材料9份,敏感材料10份,高感材料5份;筛选出 O_2^- 含量和SOD活性可作为芝麻种质资源苗期抗旱特性快速鉴定的指标。

关键词:芝麻;抗旱生理指标;抗旱性评价;SOD合成相关基因表达

中图分类号:S565.3 文献标志码:A

Response characteristics of physiological and biochemical indices and gene expression analysis of sesame during seedling stage under drought

LIU Wenping, LIU Xiaxia, HAN Junmei, WEN Fei, LV Wei, WANG Ruopeng

(Industrial Crop Research Institute, Shanxi Agricultural University, Taiyuan, Shanxi 030031, China)

Abstract: To establish a drought resistance identification system for sesame and screen drought resistant varieties, a pot repeated drought method was used, with normal water content (CK) and drought stress (DS) treatments set up. 31 sesame materials were subjected to super physiological and biochemical indicators determination and comprehensive evaluation, and the expression level of SOD synthesis related genes was detected using qRT-PCR. Results of the analysis showed that O_2^- , SS, Pro contents, SOD, and POD activities under drought stress were obviously increased compared with the control group. The highest coefficient of variation of drought resistance coefficient and drought resistance index were SOD(98.64%) and O_2^- (154.01%). The drought resistance index was significantly positively correlated with O_2^- content and SOD activity, which could be used as important indicators for drought resistance identification of sesame seedlings. 31 sesame materials were divided into 5 categories by clustering analysis: high drought-resistance, medium drought-resistance, low drought-resistance, low drought-sensitive and high drought-sensitive. Using a comprehensive evaluation method, 2 high drought resistance materials ('Fenzhi 10' and 'Yu-11-12'), 4 medium drought-resistance materials, 9 low drought-resistance materials, 10 drought-sensitivity materials, and 5 highly drought-sensitivity materials were selected. The content of O_2^- and the activity of SOD can be used as the indexes for rapid identification of drought resistance of sesame.

Keywords: *Sesamum indicum* L.; physiological indicators of drought resistance; drought resistance identification; SOD synthesis related gene expression

芝麻 (*Sesamum indicum* L.) 是栽培历史悠久、价值较高的优质油料作物之一, 在全球广泛种植, 主要种植地为非洲、美洲和亚洲的热带、亚热带地区^[1]。中国作为芝麻生产和消费大国, 每年消耗量可达 180 万 t, 而每年产量仅 65 万 t, 无法满足需求^[2]。因此, 提高芝麻产量势在必行^[3]。然而, 作为浅根系作物, 芝麻对干旱、渍涝等非生物逆境敏感, 干旱是影响芝麻生产力的主要因素^[4-6]。近年来, 干旱事件频发, 严重影响芝麻生长、开花、蒴果和种子发育, 尤其是苗期干旱会造成缺苗断垄的现象, 从而导致产量严重下降^[7-8]。因此, 建立快速鉴定芝麻苗期抗旱性的方法和筛选抗旱品种对芝麻生产具有重要意义。

作物的抗旱性是由多种机制共同决定的, 研究不同的抗旱相关性状对有效筛选种质资源具有重要意义。作物抗旱性指标主要包括形态指标^[9]、生长发育指标^[10]、产量指标^[11]、生理生化指标和分子指标^[12]。目前有关芝麻抗旱性机制的研究尚不够充分^[13-14]。高桐梅等^[15]发现芝麻苗期干旱胁迫促进 MDA 积累, Pro 含量减少, 同时会导致保护酶 SOD 和 CAT 活性下降。Fazeli 等^[13]发现抗旱性品种根和叶片的抗氧化酶 (SOD、POD、CAT 和 PPO) 活性较强。孙建等^[16]发现, 干旱胁迫后品种抗旱性与膜脂过氧化伤害物质 (MDA 和 H_2O_2) 含量呈负相关关系, 与部分渗透调节物质、防御系统物质含量和保护酶 (SOD、CAT) 活性呈正相关关系。在分子水平上, 黎冬华^[3]、刘文萍^[17]等分别对芝麻种子、成株期进行分子标记的关联分析; Dossa^[18]通过比较不同抗旱基因型芝麻材料间的差异表达基因, 获得 61 个耐旱候选基因, 并发现 *AP2/ERF* 基因家族对干旱胁迫响应高度活跃。目前多数研究采用多指标综合分析方法鉴定芝麻抗旱性以及筛选抗旱资源, 本研究基于不同芝麻种质资源进行抗旱相关生理生化指标的筛选, 同时测定干旱胁迫下响应 SOD 相关基因 (*LOC105160768*、*LOC105171443*、*LOC105164171*、*LOC105160801*) 的表达量, 并提出通过测定苗期生理指标建立芝麻抗旱种质资源的快速鉴定技术, 为芝麻抗旱性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 31 份芝麻材料由山西农业大学经济作物研究所收集或创制, 材料名称和编号详见表 1。

表 1 供试材料编号、名称及组合来源

Table 1 The number, name and source of tested materials

编号 No.	来源 Source	材料名称 Name
1	河北 Hebei	河北-1-3 Henbei-1-3
2	河北 Hebei	河北-3 Hebei-3
3	山西 Shanxi	汾芝 10 号 Fenzhi10
4	河北 Hebei	河北-9 Hebei-9
5	重庆 Chongqing	Cq013
6	重庆 Chongqing	Cq014
7	重庆 Chongqing	Cq016
8	重庆 Chongqing	Cq017
9	陕西延安 Yan'an, Shaanxi	延-20 Yan-20
10	陕西延安 Yan'an, Shaanxi	延-21 Yan-21
11	陕西 Shaanxi	陕-汉中-8 Shan-Hanzhong-8
12	陕西 Shaanxi	陕-汉中-9 Shan-Hanzhong-9
13	辽宁 Liaoning	豫-04 Yu-04
14	辽宁 Liaoning	豫-10-1 Yu-10-1
15	辽宁 Liaoning	豫-11-1 Yu-11-1
16	吉林 Jilin	豫-23-1 Yu-23-1
17	山西 Shanxi	汾芝 13 号 Feizhi13
18	武汉 Wuhan	武-27 Wu-27
19	武汉 Wuhan	武-38-1-1 Wu-38-1
20	武汉 Wuhan	武-39 Wu-39
21	山西 Shanxi	晋芝 10 号 Jinzhi10
22	江西 Jiangxi	江-5 Jiang-5
23	江西 Jiangxi	江-1 Jiang-1
24	山西 Shanxi	祁县芝麻 Qixian sesame
25	山西 Shanxi	太谷芝麻 Taigu sesame
26	山西 Shanxi	临县芝麻 Linxian sesame
27	山西 Shanxi	文水芝麻 Wenshui sesame
28	陕西 Shaanxi	渭南芝麻 Weinan sesame
29	山西 Shanxi	见喜芝麻 Jianxi sesame
30	山西 Shanxi	三交芝麻 Sanjiao sesame
31	山西 Shanxi	绛县芝麻 Jiangxian sesame

1.2 试验处理

试验采用盆栽法, 在山西农业大学经济作物研究所人工气候室内进行。将健康饱满的芝麻种子播种于塑料盆 (直径 10 cm, 高 10 cm) 内, 每个材料分为干旱组 DS 和对照组 CK, 出苗后间苗, 干旱处理前每盆每次浇水均为 50 mL。对照组在干旱处理期间正常浇水, 每次 50 mL; 芝麻第 2~3 对真叶展开时采用反复干旱法^[17,19]处理干旱组, 在第 3 次干旱处理后复水前, 取干旱组和对照组植株位置相同的功能叶片, 进行生理指标测定和相关基因表达量分析。试验共持续 21 d, 设 3 次重复。

1.3 测定指标与方法

丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法测定; 超氧阴离子 (O_2^-) 含量采用羟胺氧化法测定; 脯氨酸 (Pro) 含量采用磺基水杨酸提取; 可溶性糖 (SS) 含量采用蒽酮比色法测定; 超氧化物歧化酶 (SOD)

活性采用氮蓝四唑法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[20];可溶性蛋白(SP)含量采用 BCA 法测定^[21],所用试剂盒均购自索莱宝生物科技公司。

1.4 RNA 的提取与检测

用 Trizol 法提取芝麻叶片的 RNA,通过琼脂糖凝胶电泳对 RNA 完整性、纯度进行检测。

1.5 qRT-PCR 验证

RNA 的反转录使用 HiScript II One Step RT-PCR Kit 逆转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司)。以抗旱材料、敏感材料干旱处理反转录合成的 cDNA 为模板,使用 ChamQ SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技有限公司),在 QuantStudio™ 3 型荧光定量 PCR 仪器上进行基因表达量分析,设 3 个生物学重复。以芝麻组蛋白基因 *SiH3* (*SIN-1004293*) 作为内参基因^[22],采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 (*LOC105160768*、*LOC105171443*、*LOC105164171*、*LOC105160801*) 的相对表达量(表 2)。

表 2 基因的引物序列

Table 2 Primers of the genes

基因 Gene	正向引物 Forward primer(5'-3')	反向引物 Reverse primer(5'-3')
<i>SiH3</i>	GTTGGTCTCTTTGAGGAC	CAGCTGGATGTCITTTGG
<i>LOC105160768</i>	AAAGGTCAGTCTACTTGGC	ATTACACCCCTTAACAGCTTTCC
<i>LOC105171443</i>	GAAGGAGATGGTCCACAA	TCTTTGCCAGCAGGATTGAA
<i>LOC105164171</i>	TCGGCAATGGCTCTACGAA	TAACATGACCTCCGCCAATTGA
<i>LOC105160801</i>	CTGGAATATGCTAGTGAAGT	CAGTAAATAGCCCACTATGA

1.6 数据分析

1.6.1 各指标的抗旱系数与抗旱指数分析 以 31 种芝麻的生理生化指标为依据,对各测定值进行平均值差异显著性分析,相关指标计算如下^[17]。

$$DC = \frac{X_i}{CK_i} \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (1)$$

$$DI = \frac{X_i}{\bar{X}} DC \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (2)$$

式中,DC 为测定指标的抗旱系数;DI 为测定指标的抗旱指数; X_i 为干旱胁迫条件下某性状测定值; CK_i 为正常供水条件下某性状测定值; \bar{X} 为干旱胁迫下某性状测定的平均值。

1.6.2 芝麻苗期抗旱性综合能力评价

$$F(X_j) = a_{1j}X_{1j} + a_{2j}X_{2j} + \dots + a_{ij}X_{ij} \quad (i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, n) \quad (3)$$

式中, $F(X_j)$ 第 j 个综合指标值; a_{ij} 表示各单一指标

的特征值所对应的特征向量; X_{ij} 为各单一指标的标准化处理值。

$$W_j = P_j / \sum P_j (j = 1, 2, \dots, n) \quad (4)$$

式中, W_j 表示第 j 个综合指标的权重; P_j 表示各材料第 j 个综合指标的方差贡献率。

$$D = \sum [F(X_j) \times W_j] \quad (j = 1, 2, \dots, n) \quad (5)$$

式中, D 为各芝麻材料抗旱能力的综合评价值。

用 SPSS 20.0 软件对试验数据进行主成分分析与聚类分析,数据采用平均数(\bar{x}) ± 标准差(s) 表示。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下芝麻苗期各指标差异分析

对正常处理组和干旱处理组的不同芝麻材料 7 个生理生化指标进行测定,结果表明,与正常处理组相比,除 MDA、SP 外,其他 5 个指标在干旱胁迫下均显著增加,说明干旱胁迫对 MDA、SP 的影响较小(表 3)。各性状的 DC 与 DI 的平均值相差不大(O_2^- 除外),SOD 活性的 DC 值和 DI 值均最高,SP 含量的 DC 值和 DI 值均最低。各性状 DC 和 DI 的变异系数范围分别为 14.77% ~ 98.64% 和 23.53% ~ 154.01%,其中,SOD 活性的 DC 变异系数最大, O_2^- 和 POD 活性次之; O_2^- 的 DI 变异系数最大,其次是 SOD 活性和 POD 活性;SP 含量的 DC 和 DI 变异系数均最小。由此可见, O_2^- 含量、SOD 和 POD 活性对干旱胁迫较为敏感,其次是 MDA 含量和 Pro 活性,SS 和 SP 含量对干旱胁迫最不敏感。

2.2 干旱胁迫下芝麻苗期各指标与抗旱指数间相关性分析

各指标与抗旱指数间相关性分析结果表明, O_2^- 含量、SOD 活性与综合抗旱指数 DI 间呈极显著正相关关系,相关系数分别为 0.530 和 0.583(表 4),说明在干旱条件下, O_2^- 含量越高,SOD 活性越高,综合抗旱指数越强,即该材料抗旱能力越强。因此,可将 O_2^- 和 SOD 作为芝麻苗期抗旱性鉴定的重要指标。

2.3 干旱胁迫下芝麻苗期各指标主成分分析

为更充分揭示不同芝麻品种各抗旱生理指标之间的关系及其作用机制,对上述抗旱相关的生理指标进行主成分分析。由表 5 可以看出,主成分 1、2、3、4 对抗旱指数的贡献率分别为 25.234%、19.814%、14.564% 和 12.605%,累积贡献率为 72.217%,说明这 4 个主成分覆盖了大部分原始数据的信息。

表 3 各指标的抗旱系数和抗旱指数

Table 3 DC and DI of each index

指标 Index		丙二醛含量 MDA content /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	超氧阴离子含量 O_2^- content /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	可溶性糖含量 SS content /($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	脯氨酸含量 Pro content /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	超氧化物歧 化酶活性 SOD activity /($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	过氧化物 酶活性 POD activity /($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	可溶性 蛋白含量 SP content /($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
平均值 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$)	DS	19.69 \pm 5.81a	0.55 \pm 0.49a	23.13 \pm 5.18a	44.17 \pm 16.83a	156.59 \pm 112.86a	581.22 \pm 346.94a	39.77 \pm 4.49a
	CK	19.54 \pm 6.87a	0.23 \pm 0.08b	13.73 \pm 2.29b	29.40 \pm 8.99b	61.64 \pm 40.8b	571.35 \pm 592.32b	39.78 \pm 4.29a
变异系数 CV/%	DS	29.51	89.09	22.40	38.10	72.07	59.69	11.29
	CK	35.16	34.78	16.68	30.58	66.19	103.67	10.78
抗旱系数 DC	平均 Mean	1.15	2.53	1.73	1.63	3.93	1.56	1.01
	变异系数 CV/%	50.45	88.73	28.53	47.97	98.64	86.98	14.77
抗旱指数 DI	平均 Mean	1.25	4.24	1.81	1.85	4.90	1.97	1.02
	变异系数 CV/%	71.20	154.01	50.28	95.68	132.86	129.44	23.53

注:DS;干旱处理;CK;正常水分处理。同列不同小写字母表示不同处理间差异在 $P<0.05$ 水平显著。

Note:DS; drought stress, CK; normal irrigation. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between different treatments at $P<0.05$ level.

表 4 芝麻苗期各指标与抗旱综合指标相关分析

Table 4 Correlation analysis of drought resistance coefficient of each trait in seeding stage

指标 Index	抗旱指数 DI	丙二醛 MDA	超氧阴离子 O_2^-	可溶性糖 SS	脯氨酸 Pro	超氧化物歧 化酶 SOD	过氧化物酶 POD	可溶性蛋白 SP
抗旱指数 DI	1.000							
丙二醛 MDA	0.215	1.000						
超氧阴离子 O_2^-	0.530 **	-0.173	1.000					
可溶性糖 SS	0.063	0.190	-0.103	1.000				
脯氨酸 Pro	0.217	-0.023	-0.108	0.182	1.000			
超氧化物歧化酶 SOD	0.583 **	0.253	-0.026	0.141	-0.035	1.000		
过氧化物酶 POD	0.171	0.139	-0.151	0.172	0.241	0.067	1.000	
可溶性蛋白 SP	-0.043	-0.024	0.001	-0.245	-0.037	-0.172	-0.262	1.000

注: ** 表示在 $P<0.01$ 水平差异显著。

Note: ** indicate significant differences ($P<0.01$).

表 5 芝麻苗期各指标抗旱指数主成分分析

Table 5 Principal component analysis of drought resistance coefficient of each trait in seeding stage

主成分 Principal component	抗旱 指数 DI	丙二醛 MDA	超氧 阴离子 O_2^-	可溶 性糖 SS	脯氨酸 Pro	超氧化物 歧化酶 SOD	过氧化 物酶 POD	可溶性 蛋白 SP	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate/%	累计贡献率 Cumulative contribution rate/%
PC1	0.774	0.461	0.156	0.449	0.320	0.704	0.471	-0.403	2.019	25.234	25.234
PC2	0.559	-0.188	0.796	-0.436	-0.282	0.210	-0.444	0.305	1.585	19.814	45.048
PC3	0.106	-0.613	0.358	0.029	0.599	-0.399	0.308	-0.189	1.165	14.564	59.612
PC4	0.165	0.256	-0.205	-0.169	0.545	-0.047	0.037	0.737	1.008	12.605	72.217

在主成分 1、2、3、4 中综合抗旱指数的特征向量均为正值。除综合抗旱指数外,主成分 1、2、4 中载荷最高的因子分别为 SOD、 O_2^- 和 SP,其特征向量值均为正值(表 5),说明 SOD 活性、 O_2^- 和 SP 含量的增加有利于芝麻抗旱性提高。

2.4 干旱胁迫下芝麻苗期生理指标综合评价 D 值及聚类分析

利用公式计算出抗旱性综合评价值(D 值)并对 31 份材料进行排序,其中 15 号材料 D 值最大,表明该材料为耐旱型;13 号材料 D 值最小,表明该材料为敏感型。如表 6 所示,用 K-平均值聚类法对 D

值进行聚类分析,可将 31 份芝麻材料分为 5 类,其中 I 类为高抗旱材料($D>0.31$),包括 3 号品种(‘汾芝 10 号’)和 15 号品种(‘豫-11-1’),共 2 份,占供试材料 6.45%;II 类为中抗旱材料($0.31 \geq D > 0.26$),包括‘延-21’、‘汾芝 13 号’、‘临县芝麻’和‘渭南芝麻’共 4 份,占供试材料 12.91%;III 类为低抗旱材料($0.26 \geq D > 0.20$),包括‘河北-1-3’、‘延-20’、‘豫-10-1’等共 9 份,占供试材料 29.03%;IV 类为敏感材料($0.20 \geq D > 0.15$),包括‘河北-3’、‘Cq013’、‘Cq016’等共 10 份,占供试材料 32.26%;V 类为高感材料,包括‘Cq014’、‘陕-汉中-9’、‘江

-1' 等共 6 份, 占供试材料 19.35%。

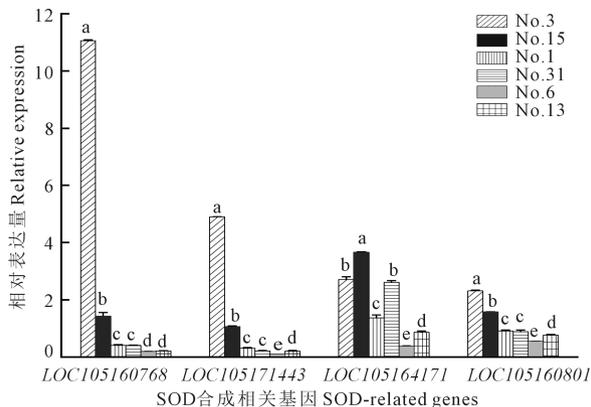
2.5 不同材料 SOD 合成相关基因的表达量分析

为验证 SOD 活性鉴定芝麻幼苗期抗旱性的准确性, 本研究筛选不同抗旱程度的 6 份材料 (3、15 号为高抗材料, 31、1 号为低抗材料, 6、13 号为高感材料), 检测在干旱条件下不同耐旱性材料苗期叶片中 SOD 相关基因的表达量, 对 4 个 SOD 合成相关基因进行 qRT-PCR 分析 (图 1)。结果表明, 与高感材料相比, 高抗和中抗材料中的 SOD 相关基因 *LOC105160768*、*LOC105164171*、*LOC105160801* 的表达量均显著增加, 进一步证实抗氧化酶 SOD 活性可作为芝麻幼苗期抗旱性鉴定的指标。

表 6 31 份芝麻抗旱性等级分布

Table 6 The drought-resistance distribution of 31 sesame varieties

类群 Group	材料标号 ID of variety	<i>D</i> 值 <i>D</i> value		抗旱性 Drought resistance
		变幅 Range	平均 Mean	
第 I 类 Type I	3, 15	$D > 0.31$	0.36	高抗 High resistance
第 II 类 Type II	10, 17, 26, 28	$0.31 \geq D > 0.26$	0.29	中抗 Medium resistance
第 III 类 Type III	1, 9, 14, 20, 22, 23, 24, 29, 31	$0.26 \geq D > 0.20$	0.23	低抗 Low resistance
第 IV 类 Type IV	2, 4, 5, 7, 8, 11, 18, 19, 27, 30	$0.20 \geq D > 0.15$	0.18	敏感 Sensitivity
第 V 类 Type V	6, 12, 13, 16, 21, 25	$D \leq 0.15$	0.14	高感 High sensitivity



注: 不同小写字母表示不同处理间差异在 $P < 0.05$ 水平显著。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at $P < 0.05$ level.

图 1 干旱条件下不同芝麻品种 SOD 合成相关基因的 qRT-PCR 分析

Fig. 1 SOD-related genes analysis of sesame during seedling drought by qRT-PCR

3 讨论

3.1 芝麻苗期生理特性的差异与评价

干旱胁迫下植物体内生理生化代谢会发生改变, 严重时导致植株生长缓慢, 叶片萎蔫发黄, 最终

造成减产^[23]。受到干旱胁迫时, 植株细胞膜脂过氧化形成 MDA, 氧自由基增加, 活性氧累积, 植物通过抗氧化系统 (SOD、POD、CAT 等抗氧化酶) 中和或清除多余的活性氧^[24], 同时通过积累渗透调节物质 (SS、SP、Pro) 调节细胞液浓度, 最终改善细胞水分状况^[25-26]。芝麻^[27-28]、胡麻^[29]、苦荞^[30]、玉米^[31] 等作物在干旱胁迫下, 与对照相比, MDA、Pro 含量以及 SOD、CAT 活性均有明显升高。本研究测定了不同抗旱芝麻资源苗期干旱胁迫下生理生化指标变化, 结果表明, 抗旱程度越强, MDA、Pro、SP、SS 和 O_2^- 的含量以及 POD、SOD、CAT 活性含量越高。这与前人的研究结果基本一致。

3.2 芝麻苗期抗旱性鉴定方法

干旱是制约农作物生长的主要因素之一, 选育抗旱品种成为提高作物产量、促进旱地区农业生产发展的重要途径。作物抗旱性的鉴定不仅与鉴定指标关系密切, 选择合适的鉴定方法也是保证结果准确性的重要方面。目前普遍认为多指标多方法相结合的抗旱性综合评价比较可靠, 黎冬华等^[3] 利用主成分分析、隶属函数等综合评价方法对 10 份芝麻材料芽期的抗旱性进行评价, 筛选出 4 份耐抗性材料; 刘文萍等^[17] 利用隶属函数等方法对 100 份成株期的芝麻种质资源进行综合评价, 筛选出 12 份高抗旱种质; 左凯峰等^[32] 对 120 份西北地区甘蓝型油菜种质 8 个生理指标的抗旱系数和抗旱指数进行鉴定及评价, 筛选出 6 份适宜在干旱地区种植的种质资源; 徐银萍等^[33] 对 30 份大麦种质资源的抗旱性进行评价, 筛选出 5 份抗旱性强的材料。因此, 抗旱性综合评价值 *D* 为作物抗旱性的优良评价指标, 可客观正确地反映供试品种的抗旱能力。本研究对 31 份芝麻种质资源的抗旱性进行鉴定和分析, 根据 *D* 值将其划分为 5 类, 其中, ‘汾芝 10 号’、‘豫-11-1’ 的 *D* 值最高, 抗旱性最强, 适宜在西北、东北、华北、黄淮区春播和复播种植, 可以作为芝麻抗旱育种资源。

3.3 芝麻幼苗期抗旱性生理生化指标的验证

对植物进行抗旱鉴定时往往采用多个指标综合评价^[34-37], 但在实际应用中存在操作复杂、工作量大、难以批量鉴定等不足^[38]。本文通过对 31 份芝麻材料的 7 个抗旱相关指标进行筛选, 结果表明 SOD 活性和 O_2^- 含量的抗旱指数变异系数最高, 与 SOD 和 O_2^- 极显著正相关; 主成分分析表明, SOD 和 O_2^- 是除抗旱指标外载荷因子最高的指标。在正常生长条件下, 植物体内的活性氧处于动态平衡, 而在干旱等非生物胁迫下, 活性氧会大量产生, O_2^- 是

活性氧的形态之一,因此干旱胁迫下其含量随胁迫程度的加剧而不断增加。大量研究表明,为了抵御胁迫伤害,植物自身具有抗氧化系统,SOD 作为抗氧化酶可催化 O_2^- 发生歧化反应形成 O_2 和 H_2O_2 ,而对细胞仍然具有毒害作用的 H_2O_2 被 POD 和 CAT 清除;干旱胁迫下,抗氧化酶活性会上升,且与抗旱能力呈正相关关系^[39-40]。这与本文结论一致。但也有研究显示,随着干旱胁迫程度的不断增加,抗氧化酶活性呈先升高后下降的趋势^[41],这可能与作物的种类、胁迫处理的时间以及方法有关。

本研究对 SOD 合成相关基因进行表达量验证,结果表明抗旱性越强的芝麻材料其相对表达量越高。因此,在实际操作中可将 SOD 和 O_2^- 作为主要指标进行初步筛选,辅以其他指标进行验证,以提高筛选的效率和减少工作量。

4 结 论

通过对 31 份芝麻种质资源的抗旱性进行鉴定和分析,利用抗旱系数进行综合评价,筛选出‘汾芝 10 号’和‘豫-11-1’为高抗旱芝麻材料,可用于抗旱育种。利用主成分分析法筛选出 SOD 和 O_2^- 可作为鉴定芝麻苗期抗旱性的生理指标,通过对 4 个 SOD 结合相关基因进行 qRT-PCR 分析,进一步证实抗氧化酶 SOD 活性可作为芝麻苗期抗旱性鉴定指标。

参 考 文 献:

- [1] ESKANDARI H, ZEHTAB-SALMASI S, GHASSEMI-GOLEZANI K, et al. Effects of water limitation on grain and oil yields of sesame cultivars [J]. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2009, 7(2): 339-342.
- [2] 秦灵灵, 苗红梅, 张战有, 等. 世界芝麻生产现状与发展趋势分析 [J/OL]. *中国油脂*; 1-9. (2023-01-30) [2023-06-06]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.220820>. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.220820.
- [3] QIN L L, MIAO H M, ZHANG ZY, et al. Development status and tendency analysis of the world sesame production [J/OL]. *China Oils and Fats*; 1-9. (2023-01-30) [2023-06-06]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.220820>. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.220820.
- [3] 黎冬华, 刘文萍, 张艳欣, 等. 芝麻耐旱性的鉴定方法及关联分析 [J]. *作物学报*, 2013, 39(8): 1425-1433.
- [4] LI D H, LIU W P, ZHANG Y X, et al. Identification method of drought tolerance and association mapping for sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(8): 1425-1433.
- [4] CHASTAIN D R, SNIDER J L, CHOINSKI J S, et al. Leaf ontogeny strongly influences photosynthetic tolerance to drought and high temperature in *Gossypium hirsutum* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 199: 18-28.
- [5] DOSSA K, WEI X, LI D H, et al. Insight into the AP2/ERF transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 171.
- [6] WANG L H, LI D H, ZHANG Y X, et al. Tolerant and susceptible sesame genotypes reveal waterlogging stress response patterns [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0149912.
- [7] 孙建, 饶月亮, 乐美旺, 等. 干旱胁迫对芝麻生长与产量性状的影响及其抗旱性综合评价 [J]. *中国油料作物学报*, 2010, 32(4): 525-533.
- [7] SUN J, RAO Y L, LE M W, et al. Effects of drought stress on sesame growth and yield characteristics and comprehensive evaluation of drought tolerance [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2010, 32(4): 525-533.
- [8] POOR-ESMAEIL H A, FANAELI H R, SABERI M H. Evaluation of drought tolerant cultivars and lines of sesame using stress tolerance indices [J]. *Scientific Journal of Crop Science*, 2014, 3(6): 66-70.
- [9] CHU G, CHEN T T, WANG Z Q, et al. Morphological and physiological traits of roots and their relationships with water productivity in water-saving and drought-resistant rice [J]. *Field Crops Research*, 2014, 162: 108-119.
- [10] WIJEWARDANA C, HENRY W B, GAO W, et al. Interactive effects on CO_2 , drought, and ultraviolet-B radiation on maize growth and development [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2016, 160: 198-209.
- [11] LIU C Y, YANG Z Y, HU Y G. Drought resistance of wheat alien chromosome addition lines evaluated by membership function value based on multiple traits and drought resistance index of grain yield [J]. *Field Crops Research*, 2015, 179: 103-112.
- [12] JANECZKO A, GRUSZKA D, POCIECHA E, et al. Physiological and biochemical characterisation of watered and drought-stressed barley mutants in the *HvDWARF* gene encoding C6-oxidase involved in brassinosteroid biosynthesis [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 99: 126-141.
- [13] FAZELI F, GHORBANLI M, NIKNAM V. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars [J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51(1): 98-103.
- [14] BOR M, SECKIN B, OZGUR R, et al. Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, 31(3): 655-659.
- [15] 高桐梅, 吴寅, 李丰, 等. 苗期水分胁迫对芝麻生长和生理特性的影响 [J]. *核农学报*, 2017, 31(11): 2229-2235.
- [15] GAO T M, WU Y, LI F, et al. Effects of water stress on physiological characteristics and growth under water stress in seedling of sesame [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(11): 2229-2235.
- [16] 孙建, 颜小文, 乐美旺, 等. 芝麻不同抗旱基因型对花期干旱胁迫的生理响应机理 [J]. *中国农业科学*, 2019, 52(7): 1215-1226.
- [16] SUN J, YAN X W, YUE M W, et al. Physiological response mechanism of drought stress in different drought-tolerance genotypes of sesame during flowering period [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(7): 1215-1226.
- [17] 刘文萍, 吕伟, 黎冬华, 等. 芝麻种质资源成株期抗旱性关联分析 [J]. *中国农业科学*, 2017, 50(4): 625-639.
- [17] LIU W P, LV W, LI D H, et al. Drought resistance of sesame germplasm resources and association analysis at adult stage [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(4): 625-639.
- [18] DOSSA K. 芝麻耐旱资源鉴定及分子解析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [18] DOSSA K. Germplasm characterization and molecular dissection of drought tolerance in sesame (*Sesamum indicum* L.) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.

- [19] 魏其超, 张海洋, 刘文萍, 等. 干旱胁迫下芝麻籽粒品质及抗氧化能力变化分析[J]. 河南农业科学, 2019, 48(9): 30-39.
WEI Q C, ZHANG H Y, LIU W P, et al. Variation analysis of seed quality and antioxidant capacity in sesame under drought stress [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2019, 48(9): 30-39.
- [20] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 167-263.
LI H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 167-263.
- [21] 李海玲, 彭书明, 李凇, 等. 4种常用蛋白浓度测定方法的比较[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(4): 277-278, 282.
LI H L, PENG S M, LI L, et al. Studies on four conventional methods for protein determination[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2008, 29(4): 277-278, 282.
- [22] YOU J, WANG Y Y, ZHANG Y J, et al. Genome-wide identification and expression analyses of genes involved in raffinose accumulation in sesame[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 4331.
- [23] 张美俊, 乔治军, 杨武德, 等. 不同糜子品种对低氮胁迫的生物学响应[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(3): 661-669.
ZHANG M J, QIAO Z J, YANG W D, et al. Biological response of different cultivars of millet to low nitrogen stress[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2014, 20(3): 661-669.
- [24] 黄婵. 植物抗旱生理基础研究进展[J]. 农村实用技术, 2019, (6): 62-64.
HUANG C. Progress on physiological basis of drought resistance in plants[J]. Applicable Technologies for Rural Areas, 2019, (6): 62-64.
- [25] 张正斌, 山仑. 作物生理抗逆性的若干共同机理研究进展[J]. 作物杂志, 1997, (4): 10-12.
ZHANG Z B, SHAN L. Research progress on some common mechanisms of physiological stress resistance in crops[J]. Crops, 1997, (4): 10-12.
- [26] 韩翠英. 干旱胁迫下四个功能基因的表达模式与不同品种小麦的抗旱相关性分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
HAN C Y. Expression of the function genes and physiological indicators analysis induced by drought stress in various wheat (*Triticum aestivum* L.) [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2015.
- [27] 严寒, 许本波, 赵福永, 等. 脱落酸和水杨酸对干旱胁迫下芝麻幼苗生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(6): 163-166, 172.
YAN H, XU B B, ZHAO F Y, et al. Effects of abscisic acid and salicylic acid on physiological characteristics of sesame seedlings under drought stress[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2008, 26(6): 163-166, 172.
- [28] 王晓玲. 水分胁迫对芝麻花期脯氨酸含量的影响[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(20): 66-67.
WANG X L. Effect of water stress on proline content of sesame at flowering stage [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2007, 13(20): 66-67.
- [29] 王利琴, 杨建春, 张永福, 等. 干旱胁迫对不同品种胡麻生理特性和种子萌发的影响[J]. 种子, 2021, 40(6): 107-111, 115.
WANG L Q, YANG J C, ZHANG Y F, et al. Effects of drought stress on physiological characteristics and seed germination of different varieties of *Linum usitatissimum* [J]. Seed, 2021, 40(6): 107-111, 115.
- [30] 路之娟, 张永清, 张楚, 等. 不同基因型苦荞苗期抗旱性综合评价及指标筛选[J]. 中国农业科学, 2017, 50(17): 3311-3322.
LU Z J, ZHANG Y Q, ZHANG C, et al. Comprehensive evaluation and indicators of the drought resistance of different genotypes of fagopyrum tataricum at seedling stage [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(17): 3311-3322.
- [31] 郭金生, 鲁晓民, 曹丽茹, 等. 不同生育时期干旱胁迫下玉米自交系生理指标与产量的关系及抗旱性评价[J]. 河南农业科学, 2018, 47(11): 18-24.
GUO J S, LU X M, CAO L R, et al. Relationship between physiological indexes and yield of maize inbred lines under drought stress at different growth stages and evaluation of drought resistance [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(11): 18-24.
- [32] 左凯峰, 郭娜, 张冰冰, 等. 甘蓝型油菜苗期抗旱性鉴定及抗旱生理指标的评价[J]. 干旱地区农业研究, 2020, 38(1): 295-300.
ZUO K F, GUO N, ZHANG B B, et al. Identification of drought resistance and physiological evaluation of drought resistance of *Brassica napus* L. at seedling stage [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2020, 38(1): 295-300.
- [33] 徐银萍, 潘永东, 刘强德, 等. 大麦种质资源成株期抗旱性鉴定及抗旱指标筛选[J]. 作物学报, 2020, 46(3): 448-461.
XU Y P, PAN Y D, LIU Q D, et al. Drought resistance identification and drought resistance indexes screening of barley resources at mature period [J]. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(3): 448-461.
- [34] CARROW R N. Drought resistance aspects of turfgrasses in the south-east: evapotranspiration and crop coefficients [J]. Crop Science, 1995, 35(6): 1685-1690.
- [35] HU L X, WANG Z L, HUANG B R. Diffusion limitations and metabolic factors associated with inhibition and recovery of photosynthesis from drought stress in a C_3 perennial grass species [J]. Physiologia Plantarum, 2010, 139(1): 93-106.
- [36] LU S Y, PENG X X, GUO Z F, et al. *In vitro* selection of salinity tolerant variants from triploid bermudagrass (*Cynodon transvaalensis* × *C. dactylon*) and their physiological responses to salt and drought stress [J]. Plant Cell Reports, 2007, 26(8): 1413-1420.
- [37] LU S Y, CHEN C H, WANG Z C, et al. Physiological responses of somaclonal variants of triploid bermudagrass (*Cynodon transvaalensis* × *Cynodon dactylon*) to drought stress [J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(3): 517-526.
- [38] 李震, 吴北京, 陆光远, 等. 不同基因型油菜对苗期水分胁迫的生理响应[J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(1): 33-39.
LI Z, WU B J, LU G Y, et al. Differences in physiological responses of *Brassica napus* genotypes under water stress during seedling stage [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2012, 34(1): 33-39.
- [39] 曲涛, 南志标. 作物和牧草对干旱胁迫的响应及机理研究进展[J]. 草业学报, 2008, 17(2): 126-135.
QU T, NAN Z B. Research progress on responses and mechanisms of crop and grass under drought stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2008, 17(2): 126-135.
- [40] 吴金山, 张景欢, 李瑞杰, 等. 植物对干旱胁迫的生理机制及适应性研究进展[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2017, 37(6): 452-456.
WU J S, ZHANG J H, LI R J, et al. The plant's physiological mechanism and adaptability to drought stress [J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2017, 37(6): 452-456.
- [41] 张翠梅, 师尚礼, 吴芳. 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种根系生长及生理特性影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(5): 868-882.
ZHANG C M, SHI S L, WU F. Effects of drought stress on root and physiological responses of different drought-tolerant alfalfa varieties [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(5): 868-882.