

DOI: [10.11913/PSJ.2095-0837.22102](https://doi.org/10.11913/PSJ.2095-0837.22102)

秦娜, 朱灿灿, 宋迎辉, 代书桃, 李君霞, 王春义, 丁宇涛. 一个谷子新耐旱性突变体(*drm*)光合特性与抗旱性能分析[J]. 植物科学学报, 2023, 41(1): 53-62

Qin N, Zhu CC, Song YH, Dai ST, Li JX, Wang CY, Ding YT. Photosynthesis and drought tolerance analysis of a new drought-resistant mutant (*drm*) of *Setaria italica* P. Beauv. [J]. *Plant Science Journal*, 2023, 41(1): 53-62

一个谷子新耐旱性突变体 (*drm*) 光合特性与抗旱性能分析

秦娜, 朱灿灿, 宋迎辉, 代书桃, 李君霞*, 王春义, 丁宇涛

(河南省农业科学院粮食作物研究所, 郑州大学研究生培训基地, 郑州 450002)

摘要: 谷子 (*Setaria italica* P. Beauv.) 作为 C₄ 模式植物, 具有较强的抗旱性, 但干旱仍是制约其生长和产量的重要因素。为探究谷子耐旱性突变体 (Drought-resistant mutant) 的抗旱生理机制, 以野生型 ‘豫谷 28’ 和其耐旱性突变体 (*drm1-1*) 为材料, 采用盆栽法分析了干旱胁迫下野生型与 *drm1-1* 在孕穗期和花后 10 d 的光合特性和抗旱性。结果显示, 在正常条件下, *drm1-1* 诱导了谷子光合作用相关的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因 *pepc*、丙酮酸磷酸双激酶基因 *ppdk* 以及苹果酸酶基因 *nadp-me* 的表达, 显著提高了相应酶的活性, 也使得 *drm1-1* 的光合速率较野生型显著提高。在干旱胁迫条件下, *drm1-1* 的光合速率和叶绿素荧光参数与正常条件相比, 下降幅度显著小于野生型, 具有显著的光合优势, 同时 *drm1-1* 叶片的相对含水量与正常条件相比, 下降的幅度显著小于野生型, 而渗透调节物含量及抗氧化酶活性均较野生型显著增加; 且 *drm1-1* 的持水能力及抗旱性能更强。产量性状分析表明, 干旱胁迫条件下 *drm1-1* 具有突出的产量优势。

关键词: 谷子; 耐旱性突变体 *drm1-1*; 光合作用; 抗旱性

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2023)01-0053-10

Photosynthesis and drought tolerance analysis of a new drought-resistant mutant (*drm*) of *Setaria italica* P. Beauv.

Qin Na, Zhu Can-Can, Song Ying-Hui, Dai Shu-Tao, Li Jun-Xia*, Wang Chun-Yi, Ding Yu-Tao

(Cereal Crops Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Postgraduate T & R Base of Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Although Foxtail millet (*Setaria italica* P. Beauv.) is a relatively drought-tolerant C₄ model plant, drought is still an important factor restricting its growth, physiology, and production. To explore the physiological mechanism of drought-resistant millet mutants, we used wild-type ‘Yugu 28’ and its drought-resistant mutant (*drm1-1*) to explore their photosynthesis and drought tolerance characteristics when potted at the shooting stage and 10 d after flowering under drought-stressed conditions. Results showed that *drm1-1* induced higher expression of photosynthesis-related genes, such as *pepc* (phosphoenolpyruvate carboxykinase), *ppdk* (pyruvate orthophosphate dikinase), and *nadp-me* (nadp-malic enzyme), and higher enzymatic activity of photosynthesis-related enzymes, which promoted greater photosynthesis under non-drought-

收稿日期: 2022-07-02, 修回日期: 2022-09-13。

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-06); 河南省农业良种攻关项目 (2022010401); 河南省中央引导地方科技发展资金项目 (Z20221341070); 河南省农科院科技创新团队项目 (2022TD33); 河南省农科院基础科研项目 (2022JC06)。

This work was supported by grants from the China Agricultural Research System (CARS-06), Funding of Joint Research on Agricultural Variety Improvement of Henan Province (2022010401), Central Funds Guiding the Local Science and Technology Development of Henan Province (Z20221341070), Scientific and Technological Innovation Team of Henan Academy of Agricultural of Science (2022TD33), and Basic Scientific Research Projects of Henan Academy of Agricultural of Science (2022JC06).

作者简介: 秦娜 (1985-), 女, 博士, 研究方向为谷子育种与新种质创制 (E-mail: qinna2004@126.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: lijunxia@126.com)。

stressed condition. Under drought-stress condition, the photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence parameters of *drm1-1* decreased significantly less than the wild-type plants under non-drought-stressed condition, showing a significant photosynthetic advantage. The leaf relative water content of *drm1-1* also showed a significantly lower decrease than the wild-type plants under non-drought-stressed condition, and *drm1-1* showed higher osmoregulation substance content and antioxidant enzyme activity than the wild-type plants, suggesting enhanced water holding capacity and drought resistance. Based on yield trait analysis, *drm1-1* also exhibited outstanding yield advantages under drought stress condition.

Key words: *Setaria italica*; Drought-resistant mutant (*drm1-1*); Photosynthesis; Drought tolerance

作物生长期往往遭受着不同的非生物胁迫, 其中干旱作为一种严重的非生物胁迫, 可导致作物减产超过 50%^[1, 2]。干旱和半干旱土地约占全球陆地面积的 30%, 随着全球温室效应的加剧和可利用水资源的逐渐减少, 干旱严重制约了可持续农业的生产和发展^[3-6]。因此, 探究作物抗旱机制和培育作物抗旱新品种, 对应对自然干旱胁迫、节约水资源和保障粮食安全具有重要意义。

谷子 (*Setaria italica* P. Beauv.) 作为二倍体 C₄ 植物, 具有较强的抗旱耐瘠薄特性, 被誉为“五谷之首”, 现广泛种植于温带和亚热带地区, 是我国北方干旱、半干旱地区种植的主要的粮食作物^[7, 8]。谷子作为模式植物, 具有生长周期短、基因组小等特征, 在植物响应逆境胁迫机制研究中具有独特和显著的优势^[9-11]。目前, 在谷子抗旱生理机制及抗旱性种质资源筛选、鉴定方面, 主要开展了干旱胁迫下谷子不同生育期形态特征、生理生化特性及光合效率等方面的研究。如程林梅^[12]等通过对旱地和水地不同谷子品种拔节期和灌浆期进行干旱胁迫处理, 发现干旱胁迫条件下, 旱地品种与水地品种相比, 细胞膜透性增加, 而光合速率下降, 在叶水势、脯氨酸含量以及抗旱系数等方面较水地品种高; 刘佳等^[13]研究发现, 谷子抽穗期较灌浆期抗旱性更强, 其中脯氨酸和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性对提高其抗旱能力起重要作用; 施卫萍^[14]通过研究谷子对干旱胁迫的生理响应, 发现干旱胁迫后 F₁ 代材料的抗氧化酶 (CAT、POD) 活性显著高于两个亲本, 水势下降幅度较低, 光能利用率更高。Tang 等^[15]对谷子耐旱品种‘豫谷 1 号’和干旱敏感品种‘安 04’苗期的抗旱指标进行研究, 发现在干旱胁迫条件下, ‘安 04’长势抑制现象较‘豫谷 1 号’更为严重, 而产量显著高于‘豫谷 1 号’, 且‘安 04’的

内源油菜素内酯 (BR) 显著增加, 表明生长素信号转导因子对增强谷子抗旱能力起主要作用。

谷子基因组测序的完成和生物技术手段的应用, 发掘出了一批抗旱相关基因, 目前已对这些基因的功能进行了验证与分析, 促进了谷子抗旱分子机制的研究。王国英团队早期通过对谷子苗期的渗透胁迫, 构建了差减 cDNA 文库, 获得了 1947 个 uniESTs^[16], 通过基因芯片手段对差异基因的表达模式进行分析, 明确了谷子根系糖酵解代谢激活的胁迫反应。霍冬英等^[17]根据干旱胁迫下谷子转录组分析结果, 从 *F-box* 家族成员中鉴定出 19 个表达量上调的 *F-box* 基因, 其中 *SiF-box18* 基因对干旱胁迫、高盐、ABA 等的响应最为显著, 表明 *SiF-box18* 对生物和非生物胁迫均有响应。李建锐^[18]通过鉴定谷子中的 *ASR* 基因, 共发现 8 个编码 *ASR* 蛋白的基因, 表达模式分析结果显示, 8 个 *ASR* 基因均受干旱、高盐和 ABA 诱导表达, 其中 *SiASR4* 在干旱胁迫下编码赖氨酸含量高达 18.66%, 且受干旱胁迫诱导程度较高。张仁梁等^[19]利用谷子全基因组关联分析和转录组分析, 鉴定出一个受干旱胁迫响应的转录因子, 组织特异性表达结果显示该基因在根中高表达, 且参与了依赖 ABA 的旱胁迫响应网络。许冰霞等^[20]以‘晋谷 45’为材料, 对谷子萌发期响应旱胁迫的基因表达谱进行分析, 结果表明差异表达基因主要与糖、蛋白质、核酸等生物代谢和能量代谢过程相关, 其中 *SnRK2* 和 *PAL* 参与调节干旱胁迫下种子的萌发。

本研究以谷子耐旱性突变体 *drm1-1* 和野生型品种‘豫谷 28’ (WT) 为材料, 研究非干旱和干旱胁迫条件下, 耐旱性突变体 *drm1-1* 光合特性与抗旱性的变化, 并对耐旱性突变体 *drm1-1* 与野生型的产量性状进行分析, 以期揭示谷子耐旱性

突变体干旱胁迫耐受能力增强的生理机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物材料和实验设计

供试材料为河南省农业科学院粮食作物研究所鉴定出的谷子耐旱性突变体 (*drm1-1*)，野生型品种为‘豫谷 28’ (WT)。实验在河南省现代农业研发基地 (河南新乡) 粮食作物研究所防雨干旱棚内进行，分别于 2020 年和 2021 年的 6 月种植。实验设两个处理。非干旱胁迫组，每个材料种植 9 盆，每 3 盆为 1 个重复 (盆钵内径 30 cm，高 40 cm)，每盆留苗 6 株，土壤含水量全生育期控制在 75%~80%；干旱胁迫组材料种植以及拔节期前土壤含水量与非干旱胁迫组相同，拔节期后 (孕穗期前 10 d) 开始降低干旱胁迫组的含水量，7 月 20 日 (孕穗期前 7 d) 含水量降至 30%~35%，并保持该含水量至成熟。土壤相对含水量测定采用土壤水分测定仪进行，于孕穗期和花后 10 d 分别取样，测定相关指标。

1.2 光合特性测定

1.2.1 光合相关基因的 qRT-PCR

提取谷子旗叶总 RNA，并合成 cDNA。利用 Primer 3.0 软件设计引物，*C₄*-型光合酶基因 *pepc*、*ppdk*、*nadp-me* 和内参基因 *Actin* 引物序列见表 1。qRT-PCR 在 BioRad iQ5 RealTime PCR System 上进行。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

| 基因 Gene | 引物序列 Primer sequence |
|----------------|---|
| <i>pepc</i> | F: 5'-CCATTTACTGCTAAGGCGACT-3' R: 5'-GAGGGACCACTTCGACCTGTA-3' |
| <i>ppdk</i> | F: 5'-GTAGATAGACCGAGTCCCATAGG-3' R: 5'-TGAGTCGGACGAGACGATAG-3' |
| <i>nadp-me</i> | F: 5'-TCCGACTGTATGCTGGGAC-3' R: 5'-TACCACTCGCTTAGAACCCCT-3' |
| <i>Actin</i> | F: 5'-CGCACATAGGGAGTATCTAACCTTG-3' R: 5'-CCATTACAACAAGAGTCACCTCCAGG-3' |

1.2.2 光合酶活性测定

取孕穗期与花后 10 d 旗叶叶片 0.5 g，参照

Ku 等^[21]的方法进行酶液提取，利用 BCA 精确定量试剂盒进行蛋白定量。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (Phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)、丙酮酸磷酸双激酶 (Pyruvate phosphate dikinase, PPDK) 和苹果酸酶 (Malic enzyme, NADP-ME) 活性测定分别参照 Ku 等^[21]、Hatch 等^[22, 23]的方法进行。

1.2.3 光合效率测定

采用 LI-6400 (LI-COR, USA) 便携式光合仪测定谷子孕穗期与花后 10 d 旗叶光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r) 与气孔导度 (G_s)。测定条件为大气 CO_2 浓度 (360 ± 5) $\mu\text{mol/mol}$ ，相对湿度 (70 ± 5)%，温度 32°C ，使用光合仪内部 LED 光源控制光强，光量子通量密度 (PPFD) 为 $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

1.2.4 荧光参数测定

采用英国 Hansatech 公司的 FMS-2 型便携式脉冲调制式荧光仪测定叶绿素荧光参数。首先将旗叶叶片暗适应 30 min，在避光条件下测定初始荧光 (F_0)，然后给予叶片 5000 lux 的强光照，脉冲时间 0.7 s，测得最大荧光 (F_m)。光系统 II 最大光能转换效率 (F_v/F_m) = $(F_m - F_0)/F_m$ ，PS II 的潜在活性 (F_v/F_0) = $(F_m - F_0)/F_0$ 。

1.3 抗旱性相关指标测定

1.3.1 叶片相对含水量测定

孕穗期与花后 10 d 谷子旗叶叶片相对含水量 (Relative water content, RWC) 参照 Barrs 等^[24]的方法进行测定。

1.3.2 渗透调节物含量测定

取孕穗期与花后 10 d 的旗叶叶片 1 g 用于提取可溶性糖、可溶性蛋白与脯氨酸。分别采用蒽酮法^[25]、考马斯亮蓝 G-250 溶液和磺基水杨酸法^[26]进行含量测定。

1.3.3 抗氧化酶活性测定

取谷子孕穗期与花后 10 d 的旗叶叶片 0.5 g 于预冷研钵中进行酶液提取，加入 2 mL 0.05 mol/L 预冷的磷酸缓冲液 (pH 值为 7.8，内含 EDTA 5 mmol/L，抗坏血酸 2 mmol/L，聚乙稀吡咯烷酮 2%)，冰浴研磨成匀浆，转入离心管中， 4°C 、12 000 rpm 离心 20 min，上清液用于超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 酶活性测定。蛋白定量采用 Bradford^[27]的

方法, BSA 用作标准蛋白。

SOD 和 POD 活性分别采用氮蓝四唑光化还原法^[28]、愈创木酚法^[29]进行测定, CAT 活性测定则参照 Jiang 等^[30]的方法进行。

1.4 产量性状测定

成熟期盆栽单株收获后于挂藏室阴干, 从突变体与野生型中各随机选取 15 株, 测定单株生物量、穗粒重、千粒重等农艺性状。采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 光合特性分析

2.1.1 光合相关基因的表达

本研究发现, 非干旱与干旱胁迫下, 孕穗期与花后 10 d 突变体 *drm1-1* 中 *pepc*、*ppdk*、*nadp-me* 的相对表达量分别较野生型有一定提高, 差异分别达到显著和极显著水平。表明突变体 *drm1-1* 诱导了谷子 C₄ 光合酶基因的表达 (图 1)。

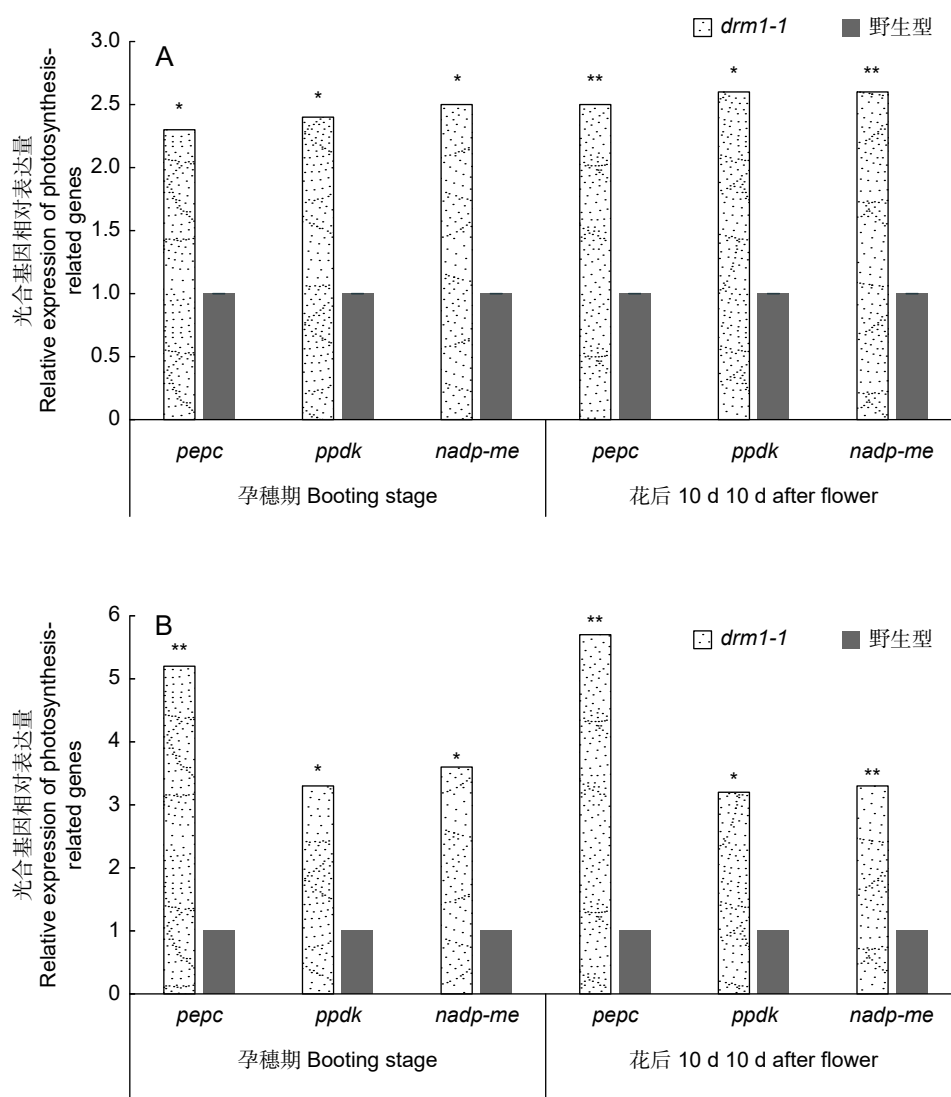


图 1 非干旱 (A) 和干旱胁迫下 (B) 孕穗期和花后 10 d 野生型和突变体光合基因的相对表达量

Fig. 1 Relative expression of photosynthesis-related genes in wild-type and *drm1-1* mutant plants grown under non-drought-stressed (A) and drought-stressed conditions (B) at booting stage and 10 d after flowering

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. Same below.

2.1.2 光合酶活性

非干旱与干旱胁迫下, 孕穗期与花后 10 d 突

变体 *drm1-1* 的 PEPCase、PPDK 与 NADP-ME 活性分别较野生型提高, 且差异显著 (图 2)。说明

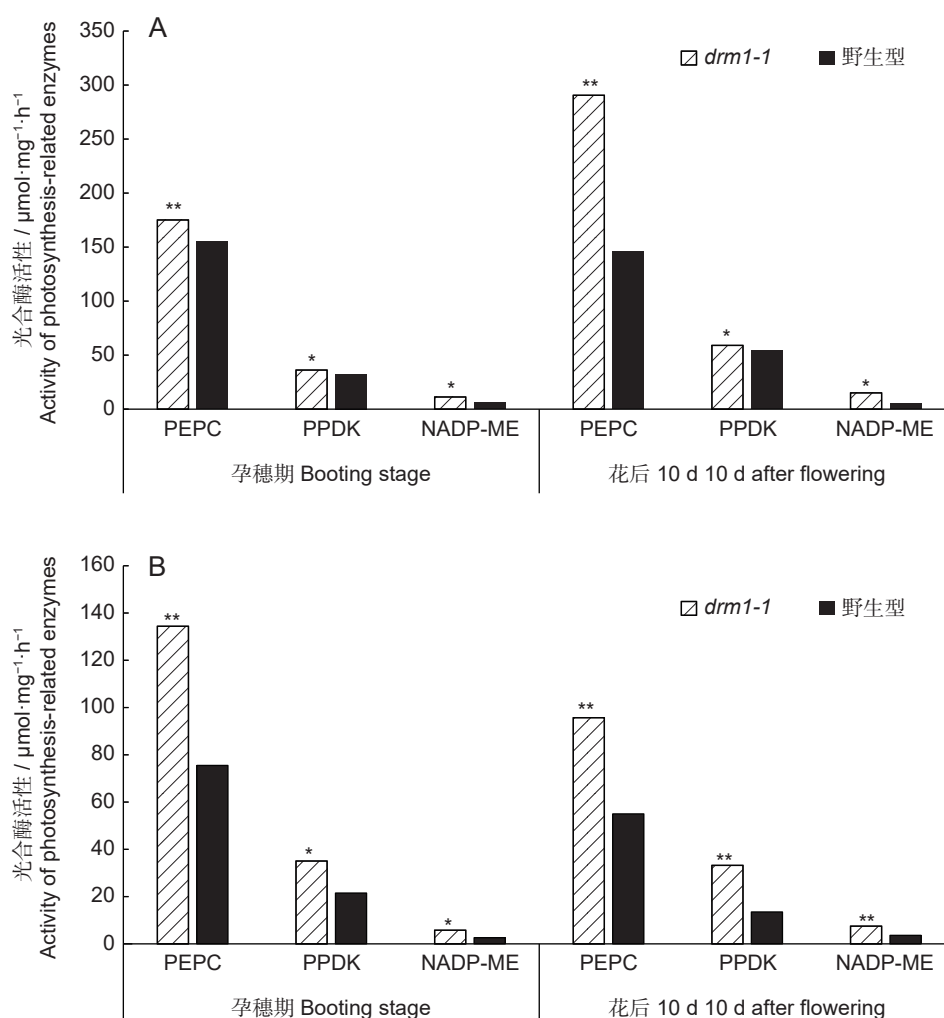


图 2 非干旱胁迫 (A) 和干旱胁迫条件下 (B) 孕穗期和花后 10 d 野生型和突变体的光合酶活性
Fig. 2 Activity of photosynthesis-related enzymes in wild-type and *drm1-1* mutant plants grown under non-drought-stressed (A) and drought-stressed (B) conditions at booting stage and 10 d after flowering

突变体 *drm1-1* 增加了谷子 C_4 光合酶的活力, 对光合效率的提高发挥重要作用。

2.1.3 光合效率

非干旱胁迫下, 孕穗期与花后 10 d *drm1-1* 的光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r) 与气孔导度 (G_s) 分别较野生型显著性提高 (表 2)。干旱胁迫条件下, 突变体与野生型光合效率均较非干旱胁迫条件下显著降低, 而突变体的降低幅度显著低于野生型。可见在干旱胁迫下, 突变体 *drm1-1* 保持了较高的光合速率、蒸腾速率和气孔导度, 从而表现出较强的耐旱能力。

2.1.4 荧光参数

非干旱胁迫下, 孕穗期与花后 10 d 突变体 *drm1-1* 的 PS II 最大光化学量子产量 (F_v / F_m) 分

别较野生型提高了 3.5% 和 2.5%, 但无显著差异, PS II 潜在活性 (F_v / F_0) 分别较野生型提高了 29.3% 和 24.3%, 差异显著 (表 2)。干旱胁迫条件下, 两个时期突变体 *drm1-1* 与野生型的 F_v / F_m 和 F_v / F_0 分别较非干旱胁迫条件下显著降低, 而 *drm1-1* 降低幅度显著低于野生型。以上结果表明干旱胁迫下耐旱性谷子突变体 *drm1-1* 维持了较高的 PS II 光能转换效率和潜在活性, 光合作用受到的抑制减弱。

2.2 抗旱性分析

2.2.1 叶片相对含水量

非干旱胁迫下, 两个时期突变体 *drm1-1* 叶片的相对含水量分别较野生型提高 4.3% 和 2.6%, 差异不显著 (表 3)。干旱胁迫下, 两个时期突变

表 2 非干旱和干旱胁迫条件下孕穗期和花后 10 d 突变体和野生型的光合性状
Table 2 Photosynthetic characteristics of *drm1-1* and wild-type plants grown under non-drought-stressed and drought-stressed conditions at booting stage and 10 d after flowering

| 指标 Indices | 非干旱胁迫 Non-drought-stressed | | 干旱胁迫 Drought-stressed | |
|--|-------------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type |
| 孕穗期 | | | | |
| 光合速率 / $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | 25.5 ± 1.8* | 23.1 ± 1.4 | 7.5 ± 0.3* | 6.0 ± 0.1 |
| 蒸腾速率 / $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ | 4.7 ± 0.1* | 4.2 ± 0.3 | 3.7 ± 0.1** | 2.8 ± 0.1 |
| 气孔导度 / $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | 273 ± 12* | 234 ± 8 | 95 ± 2* | 70 ± 1 |
| PS II 最大光化学量子产量 (F_v/F_m) | 0.89 ± 0.03 | 0.86 ± 0.02 | 0.79 ± 0.01* | 0.7 ± 0.03 |
| PS II 潜在活性 (F_v/F_0) | 5.3 ± 0.7* | 4.1 ± 0.5 | 4.0 ± 0.3** | 2.6 ± 0.1 |
| 花后 10 d | | | | |
| 光合速率 / $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | 22.7 ± 2.0* | 20.2 ± 1.7 | 3.5 ± 0.2* | 2.8 ± 0.1 |
| 蒸腾速率 / $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ | 8.7 ± 0.9* | 8.3 ± 0.7 | 3.1 ± 0.1** | 2.2 ± 0.1 |
| 气孔导度 / $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | 297 ± 18* | 274 ± 22 | 51 ± 6** | 40 ± 1 |
| PS II 最大光化学量子产量 (F_v/F_m) | 0.83 ± 0.02 | 0.81 ± 0.01 | 0.76 ± 0.03* | 0.71 ± 0.04 |
| PS II 潜在活性 (F_v/F_0) | 4.6 ± 0.6* | 3.7 ± 0.4 | 3.5 ± 0.5** | 2.1 ± 0.2 |

注：以上数据为 3 次重复的平均值 ± SD。*， $P < 0.05$ ；**， $P < 0.01$ 。下同。
Note: Data represent averages ± SD of three repeats. Same below.

表 3 非干旱胁迫和干旱胁迫条件下孕穗期和花后 10 d 突变体和野生型的抗旱性指标
Table 3 Drought tolerance characteristics of *drm1-1* and wild-type plants grown under non-drought-stressed and drought-stressed conditions at booting stage and 10 d after flowering

| 指标 Indices | 非干旱胁迫 Non-drought-stressed | | 干旱胁迫 Drought-stressed | |
|------------------|-------------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type |
| 孕穗期 | | | | |
| 相对含水量 / % | 96.5 ± 5.1 | 92.5 ± 3.2 | 83.7 ± 3.6* | 75.2 ± 4.2 |
| 可溶性糖含量 / mg/g | 16.9 ± 0.9* | 15.6 ± 2.3 | 28.3 ± 2.9* | 26.0 ± 2.2 |
| 可溶性蛋白含量 / mg/g | 35.9 ± 3.1* | 32.6 ± 3.3 | 49.4 ± 3.9* | 44.3 ± 2.7 |
| 脯氨酸含量 / mg/g | 0.085 ± 0 | 0.084 ± 0 | 0.840 ± 0.02* | 0.750 ± 0.02 |
| 超氧化物歧化酶活性 / U/mg | 0.32 ± 0.02* | 0.30 ± 0.03 | 0.60 ± 0.02* | 0.47 ± 0.01 |
| 过氧化物酶活性 / U/mg | 6.85 ± 0.3** | 3.61 ± 0.4 | 16.30 ± 1.2* | 12.30 ± 1.1 |
| 过氧化氢酶活性 / U/mg | 2.40 ± 0.02* | 2.16 ± 0.03 | 5.19 ± 0.3* | 3.86 ± 0.2 |
| 花后 10 d | | | | |
| 相对含水量 / % | 90.0 ± 3.8 | 87.7 ± 3.6 | 64.6 ± 4.2* | 51.0 ± 2.8 |
| 可溶性糖含量 / mg/g | 20.4 ± 1.3* | 19.0 ± 0.9 | 31.7 ± 2.1* | 28.7 ± 2.3 |
| 可溶性蛋白含量 / mg/g | 15.9 ± 1.1* | 12.4 ± 1.4 | 23.3 ± 1.6* | 20.5 ± 0.8 |
| 脯氨酸含量 / mg/g | 0.65 ± 0.02* | 0.56 ± 0.02 | 2.67 ± 0.2** | 2.15 ± 0.5 |
| 超氧化物歧化酶活性 / U/mg | 0.29 ± 0.01* | 0.26 ± 0.01 | 0.48 ± 0.03* | 0.44 ± 0.02 |
| 过氧化物酶活性 / U/mg | 8.52 ± 0.3** | 5.91 ± 0.1 | 13.80 ± 0.7* | 12.30 ± 0.8 |
| 过氧化氢酶活性 / U/mg | 3.98 ± 0.3* | 3.65 ± 0.6 | 10.10 ± 0.8* | 8.01 ± 0.6 |

体和野生型叶片相对含水量分别较非干旱胁迫下显著下降，而突变体下降幅度小于野生型。表明干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 叶片保水能力提高，其耐旱性显著增强。

2.2.2 渗透调节物含量

非干旱与干旱胁迫下，两个时期突变体 *drm1-1* 的可溶性糖、可溶性蛋白及脯氨酸含量分别较野生型有一定提高，差异显著（表 3）。表明干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 促进了渗透调节物的快速合成与积累，提高了其耐旱胁迫能力。

2.2.3 抗氧化酶活性

非干旱与干旱胁迫下，两个时期突变体 *drm1-1* 的 SOD、POD 和 CAT 活性分别较野生型有一定提高，差异达到显著或极显著水平（表 3）。说明干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 促进了体内抗氧化酶的合成与积累，增强了其活性氧与过氧化物的清除能力，减轻了干旱胁迫对细胞的氧化伤害。

2.3 产量性状分析

非干旱胁迫下，突变体 *drm1-1* 单株生物量、穗粒重和千粒重分别较野生型提高 12.7%、12.0% 和 3.7%，其中千粒重二者无显著差异（表 4）。干旱胁迫下，突变体 3 个产量性状值分别较野生型增加 14.7%、20.6% 和 9.1%，差异显著（表 4）。表明突变体 *drm1-1* 在干旱胁迫下具有较高的产量，主要表现为上述 3 个产量性状值的增加。

表 4 非干旱胁迫和干旱胁迫条件下突变体 *drm1-1* 和野生型产量性状值

Table 4 Yield characteristics of mutant *drm1-1* and wild-type plants grown under non-drought-stressed and drought-stressed conditions

| 指标 Indices | 非干旱胁迫 Non-drought-stressed | | 干旱胁迫 Drought-stressed | |
|---------------|-------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type | <i>drm1-1</i> | 野生型 Wild-type |
| 生物量 / g | 44.8 ± 1.5* | 39.1 ± 1.2 | 27.3 ± 0.9* | 23.3 ± 0.4 |
| 穗粒重 / g | 12.5 ± 0.2* | 11.0 ± 0.4 | 6.8 ± 0.3* | 5.4 ± 0.2 |
| 千粒重 / g | 2.7 ± 1.7 | 2.6 ± 0.9 | 2.2 ± 1.7* | 2.0 ± 1.8 |

3 讨论

3.1 干旱胁迫下耐旱性谷子突变体 *drm1-1* 的光合效能

光合作用是作物生长发育重要的代谢基础，

与产量的形成密切相关，光合速率的维持是干旱胁迫下鉴定作物耐旱性的重要依据^[31-33]。本研究结果显示，干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 和野生型‘豫谷 28’的光合速率较非干旱胁迫均有所下降，但突变体 *drm1-1* 的光合速率下降幅度较小，具有明显的光合优势。此外，C₄ 型谷子光合作用链前端的 *pepc* 基因在突变体中表达量较高，可显著促进谷子 C₄ 循环过程。由于光合酶关键基因 *pepc* 的高表达及 PEPCase 活性的增加，使得谷子光合过程中捕获更高浓度的 CO₂ 及光合酶类对应底物增加，同时也促进了光合过程中 *ppdk* 和 *nadp-me* 的转录与表达，催化了光合作用关键酶 1,5- 二磷酸核酮糖羧化酶（Rubisco）的活性及其碳水化合物形成和运转。本研究中，突变体 *drm1-1* C₄ 光合循环关键酶 PEPC、PPDK、NADP-ME 表达和转录水平分析结果与以上解释相吻合。

光抑制在植物光合作用中普遍存在^[34]。当强光伴随低温、高温和干旱等存在时，光抑制加剧，植物叶绿素降解加速，光合结构遭到破坏^[35]。而植物遭受环境胁迫时光抑制作用的重要指标为叶绿素荧光参数。本研究发现，干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 和野生型‘豫谷 28’的 PS II 最大光化学效率 (F_v / F_m) 和 PS II 潜在活性 (F_v / F_0) 均较非干旱胁迫下降，而突变体下降较少。表明干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 具有较高的 PS II 潜在活性和最大光化学效率，可以吸收较多的光能进行转化以保持高效的光合性能，而且具有较强的热耗散能力，保护光合器官免遭高温损害，进而提高其耐旱能力。

由于耐旱性突变体 *drm1-1* 较野生型具有更强的光合性能，因此本研究中谷子耐旱性突变体 *drm1-1* 在干旱胁迫条件下具有较高的同化物转运能力，减轻了谷子遭受干旱胁迫时对农艺性状产生的不利影响。

3.2 谷子耐旱性突变体 *drm1-1* 对抗旱性的调节作用

植物叶片的相对含水量可表征植物在干旱胁迫环境下对水分的利用状况，反映了植物细胞中的水分状态^[36]。干旱胁迫同时影响着植物体内水分“量和质”的变化。前人的研究显示，干旱胁迫下，植物叶片中的水分主要以蒸腾作用散失，少部分

水分以自由水的形式释放出来以适应高强度干旱胁迫^[37]。本研究发现,非干旱胁迫条件下,突变体 *drm1-1* 叶片相对含水量与野生型无显著差异,而干旱胁迫下 *drm1-1* 叶片相对含水量较非干旱胁迫的下降幅度小于野生型,说明遭受干旱胁迫后突变体 *drm1-1* 叶片仍具有较强的蒸腾作用和水分代谢,其体内细胞和原生质失水程度较轻,为其在干旱逆境条件下维持稳定的光合性能提供了水分基础。

当植物遭受外界干旱或高温等非生物胁迫时,为维持细胞内渗透势和保护细胞结构免受环境胁迫伤害,植物体内会积累更多脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质^[38-40],其主要功能一方面参与细胞渗透调节,促进细胞吸收更多水分,另一方面则是降低细胞渗透势并恢复调节细胞内干旱、高盐环境造成的代谢障碍^[41]。本研究中,干旱胁迫下突变体 *drm1-1* 叶片相对含水量较野生型显著提高,部分原因是其体内脯氨酸、可溶性糖及可溶性蛋白等渗透调节物浓度升高的结果,且上述研究中干旱胁迫下突变体谷子光合酶活性显著增加也与此结果一致。

植物体内的 SOD、POD、CAT 作为抗氧化保护酶系统中的关键酶,具有清除逆境环境下积累的自由基和活性氧的功能,保护植物细胞,降低其遭受逆境胁迫时的氧化性破坏^[42]。本研究结果显示,干旱胁迫下,孕穗期和花后 10 d 突变体 *drm1-1* 的 3 种酶活性显著高于野生型,即耐旱性突变体 *drm1-1* 诱导了谷子逆境胁迫响应蛋白的表达,显著增加了其体内抗氧化酶的活性,使其清除和降解干旱胁迫环境下产生的氧化物和活性氧等自由基的能力显著增强。

4 结论

干旱胁迫下,耐旱性突变体谷子 *drm1-1* 的光合基因 *pepc*、*ppdk*、*nadp-me* 表达量显著提高,相关光合酶活力显著增加,光合效率显著高于野生型,且体内渗透调节物浓度的升高使其叶片保持了较稳定的相对含水量。细胞内抗氧化酶活性的增加,致使其降解氧化物和清除活性氧等自由基的能力显著增强,从而表现出了显著的耐旱能力和突出的产量优势。

参考文献:

- [1] Venuprasad R, Lafitte HR, Atlin GN. Response to direct selection for grain yield under drought stress in rice[J]. *Crop Sci*, 2007, 47 (1): 285-293.
- [2] Caser M, D' Angiolillo F, Chitarra W, Lovisolo C, Ruffoni B, et al. Ecophysiological and phytochemical responses of *Salvia sinaloensis* Fern. to drought stress[J]. *Plant Growth Regul*, 2018, 84 (2): 383-394.
- [3] Hussain M, Mumtaz S. Climate change and managing water crisis: Pakistan's perspective[J]. *Rev Environ Health*, 2014, 29 (1-2): 71-77.
- [4] Trenberth KE, Dai AG, van der Schrier G, Jones PD, Barichivich J, et al. Global warming and changes in drought[J]. *Nat Clim Change*, 2014, 4 (1): 17-22.
- [5] Woodward A, Smith KR, Campbell-Lendrum D, Chadee DD, Honda Y, et al. Climate change and health: on the latest IPCC report[J]. *Lancet*, 2014, 383 (9924): 1185-1189.
- [6] Fang YJ, Xiong LZ. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72 (4): 673-689.
- [7] Lu HY, Zhang JP, Liu KB, Wu NQ, Li YM, et al. Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10, 000 years ago[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (18): 7367-7372.
- [8] Li Y, Wu SZ. Traditional maintenance and multiplication of foxtail millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) landraces in China[J]. *Euphytica*, 1996, 87 (1): 33-38.
- [9] Diao XM, Schnable J, Bennetzen JL, Li JY. Initiation of *Setaria* as a model plant[J]. *Front Agr Sci Eng*, 2014, 1 (1): 16-20.
- [10] Tsai KJ, Lu MYJ, Yang KJ, Li MY, Teng YC, et al. Assembling the *Setaria italica* L. Beauv. genome into nine chromosomes and insights into regions affecting growth and drought tolerance[J]. *Sci Rep*, 2016, 6 (1): 35076.
- [11] Doust AN, Devos KM, Gadberry MD, Gale MD, Kellogg EA. The genetic basis for inflorescence variation between foxtail and green millet (Poaceae)[J]. *Genetics*, 2005, 169 (3): 1659-1672.
- [12] 程林梅, 阎继耀, 张原根, 张和. 水分胁迫条件下谷子抗旱生理特性的研究[J]. 植物学通报, 1996, 13(3): 56-58.
Cheng LM, Yan JY, Zhang YG, Zhang H. Study on drought resistant physiological characteristics of foxtail millet under moisture stress condition[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1996, 13 (3): 56-58.
- [13] 刘佳, 仪慧兰, 郭二虎, 张艾英. 不同时期谷子对干旱胁迫

- 的响应[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2015, 38(1): 160-164.
- Liu J, Yi HL, Guo EH, Zhang AY. Responses to drought stress in foxtail millet (*Setaria italica*) at differential stages[J]. *Journal of Shanxi University* (Natural Science Edition), 2015, 38(1): 160-164.
- [14] 施卫萍. 谷子对干旱胁迫的生理响应及转录组分析[D]. 晋中: 山西农业大学, 2018: 28-30.
- [15] Tang S, Li L, Wang YQ, Chen QN, Zhang WY, et al. Genotype-specific physiological and transcriptomic responses to drought stress in *Setaria italica* (an emerging model for Panicoideae grasses)[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10009.
- [16] Zhang JP, Liu TS, Fu JJ, Zhu Y, Jia JP, et al. Construction and application of EST library from *Setaria italica* in response to dehydration stress[J]. *Genomics*, 2007, 90(1): 121-131.
- [17] 霍冬英, 郑炜君, 李盼松, 徐兆师, 周永斌, 等. 谷子F-box家族基因的鉴定、分类及干旱响应[J]. *作物学报*, 2014, 40(9): 1585-1594.
- Huo DY, Zheng WJ, Li PS, Xu ZS, Zhou YB, et al. Identification, classification, and drought response of F-box gene family in foxtail millet[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 40(9): 1585-1594.
- [18] 李建锐. 谷子*SiASR4*基因参与植物响应干旱和盐胁迫的功能研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018: 55-57.
- [19] 张仁梁, 智慧, 汤沙, 刁现民, 贾冠清. 谷子抗旱候选基因*SiDDR1*的克隆和功能分析[C]//2018全国植物生物学大会论文集. 泰安: 中国作物学会, 2018: 179.
- [20] 许冰霞, 尹美强, 温银元, 裴帅帅, 柯贞进, 等. 谷子萌发期响应干旱胁迫的基因表达谱分析[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(8): 1431-1447.
- Xu BX, Yin MQ, Wen YY, Pei SS, Ke ZJ, et al. Gene expression profiling of foxtail millet (*Setaria italica* L.) under drought stress during germination[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(8): 1431-1447.
- [21] Ku MSB, Agarie S, Nomura M, Fukayama H, Tsuchida H, et al. High-level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants[J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(1): 76-80.
- [22] Hatch MD, Slack CR. A new enzyme for the interconversion of pyruvate and phosphopyruvate and its role in the C₄ dicarboxylic acid pathway of photosynthesis[J]. *Biochem J*, 1968, 106(1): 141-146.
- [23] Hatch MD, Slack CR. NADP-specific malate dehydrogenase and glycerate kinase in leaves and evidence for their location in chloroplasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1969, 34(5): 589-593.
- [24] Barrs HD, Weatherley PE. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves[J]. *Aust J Biol Sci*, 1962, 15(3): 413-428.
- [25] DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Anal Chem*, 1956, 28(3): 350-356.
- [26] Troll W, Lindsley J. A photometric method for the determination of proline[J]. *J Biol Chem*, 1955, 215(2): 655-660.
- [27] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [28] Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. *J Exp Bot*, 1981, 32(1): 93-101.
- [29] Gao S, Ouyang C, Tang L, Zhu JQ, Xu Y, et al. Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity[J]. *J Hazard Mater*, 2010, 182(1-3): 591-597.
- [30] Jiang MY, Zhang JH. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings[J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(11): 1265-1273.
- [31] Galmés J, Medrano H, Flexas J. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms[J]. *New Phytol*, 2007, 175(1): 81-93.
- [32] Gaion LA, Monteiro CC, Cruz FJR, Rossatto DR, López-Díaz I, et al. Constitutive gibberellin response in grafted tomato modulates root-to-shoot signaling under drought stress[J]. *J Plant Physiol*, 2018, 221: 11-21.
- [33] Xiao XW, Yang F, Zhang S, Korpelainen H, Li CY. Physiological and proteomic responses of two contrasting *Populus cathayana* populations to drought stress[J]. *Physiol Plant*, 2009, 136(2): 150-168.
- [34] She YK. Some factors limiting photosynthesis in nature [M]// Baltscheffsky M, ed. Current Research in Photosynthesis. Dordrecht: Springer, 1990: 3637-3644.
- [35] Exposito-Rodriguez M, Laissue PP, Yvon-Durocher G, Smirnoff N, Mullineaux PM. Photosynthesis-dependent H₂O₂ transfer from chloroplasts to nuclei provides a high-light signalling mechanism[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):

- 49.
- [36] 韩建秋, 王秀峰, 张志国. 表土干旱对白三叶根系分布和根活力的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(3): 458–461.
Han JQ, Wang XF, Zhang ZG. Effects of surface soil drought on root spatial distribution and activity of white clovers[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(3): 458–461.
- [37] Vysotskaya LB, Arkhipova TN, Timergalina LN, Dedov AV, Veselov SY, Kudoyarova GR. Effect of partial root excision on transpiration, root hydraulic conductance and leaf growth in wheat seedlings[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2004, 42(3): 251–255.
- [38] Xiong LM, Schumaker KS, Zhu JK. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(S1): S165–S183.
- [39] Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. Plant drought stress: effects, mechanisms and management [M] // Lichtfouse E, Navarrete M, Debaeke P, Véronique S, Alberola C, eds. Sustainable Agriculture. Dordrecht; Springer, 2009: 153–188.
- [40] Boyer JS. Plant productivity and environment[J]. *Science*, 1982, 218(4571): 443–448.
- [41] Chaves MM, Oliveira MM. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture[J]. *J Exp Bot*, 2004, 55(407): 2365–2384.
- [42] Singh RN, Jwa NS. Understanding the responses of rice to environmental stress using proteomics[J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(11): 4652–4669.

(责任编辑: 周媛)