

大麦 SERK 基因鉴定及干旱和盐胁迫下功能探究

张亚琦^{1,2},姚立蓉^{2,3},司二静^{2,3},汪军成^{2,3},马小乐^{2,3},
孟亚雄^{2,3},杨轲^{2,3},王化俊^{2,3},张宏^{2,3},李葆春^{1,2}

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

摘要:体细胞胚胎发生类受体激酶(somatic embryogenesis receptor-like kinases, SERKs)位于细胞膜上,能够感知并传递胞外信号,在植物生长发育和逆境胁迫中发挥重要作用。为了探究大麦*HvSERKs*在干旱、盐胁迫下的表达特性,通过生物信息学方法,以拟南芥 SERKs 序列为参考,对大麦 SERK 家族成员进行全基因组鉴定和分析,并通过 qRT-PCR 技术对其在干旱与盐胁迫下的表达进行分析。结果表明,在大麦基因组共鉴定到 8 个 *HvSERKs* 基因,其中 3 个分布在 7H 染色体上。在 *HvSERKs* 与已发表的拟南芥、小麦、水稻、玉米、油菜和马铃薯中 SERKs 构建的系统进化发育树中,*HvSERK1*、*HvSERK3*、*HvSERK6* 和 *HvSERK8* 单独组成一个分支。经基因结构和保守蛋白基序分析,*HvSERKs* 序列高度相似且具有保守性。蛋白质二级结构组件主要是无规则卷曲,除 *HvSERK7* 定位于叶绿体之外,其余 *HvSERKs* 均定位于细胞质膜。经 qRT-PCR 分析,除 *HvSERK4* 在盐胁迫下叶片中下调表达外,其余 *HvSERKs* 在干旱和盐胁迫下都能被诱导上调表达;8 个 *HvSERKs* 基因在大麦成熟胚中均高表达,在幼胚中的表达量低于成熟胚。这说明大麦 *HvSERKs* 基因能够响应干旱和盐胁迫,可调控胚胎和穗发育。

关键词: 大麦;体细胞胚胎发生类受体激酶;干旱胁迫;盐胁迫;生物信息学分析

中图分类号:S512.1;S330

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2025)10-1306-10

Identification of SERK Genes in Barley and Their Functional Exploration under Drought and Salt Stress

ZHANG Yaqi^{1,2}, YAO Lirong^{2,3}, SI Erjing^{2,3}, WANG Juncheng^{2,3}, MA Xiaole^{2,3},
MENG Yaxiong^{2,3}, YANG Ke^{2,3}, WANG Huajun^{2,3}, ZHANG Hong^{2,3}, LI Baochun^{1,2}

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

Abstract: Somatic embryogenesis receptor-like kinases (SERK) can sense and transmit extracellular signals which located on the cell membrane, play an important role in plant growth, development, and stress response. We identified SERKs in barley in order to explore the expression pattern of *HvSERKs* under drought and salt stress. We used bioinformatics methods to identify and analyze the *HvSERKs* from whole genome of barley with SERKs sequence of *Arabidopsis* as reference sequence, and analyzed their expression under drought and salt stress by qRT-PCR. The results in this article showed that eight *HvSERKs* locate in the barley genome, three of which were on 7H chromosome.

收稿日期:2024-10-31 修回日期:2024-12-07

基金项目: 甘肃农业大学公招博士科研启动项目(GAU-KYQD-2022-10);国家大麦青稞产业技术体系项目(CARS-05-02A-02);国家自然科学基金项目(30771331,2160496);甘肃省青年科技基金计划项目(20JR5RA010);甘肃省教育厅创新基金项目(2021A-055);甘肃省教育厅产业支撑计划项目(2021CYZC-12);甘肃农业大学伏羲青年英才计划项目(Ganfx-03Y06, Ganfx-04Y011);甘肃省科技重大专项(17ZD2NA016)

第一作者 E-mail:3045386960@qq.com(张亚琦)

通讯作者 E-mail:libc@gsau.edu.cn(李葆春);zhanghong@gsau.edu.cn(张宏)

The phylogenetic tree constructed with SERKs in *Arabidopsis*, wheat, rice, maize, rape, potato and barley showed that HvSERK1, HvSERK3, HvSERK6 and HvSERK8 of barley formed a separate branch. Gene structure and conserved protein motif analysis showed that HvSERKs were highly similar and conserved. The HvSERKs were located in the plasma membrane except for HvSERK7 which in the chloroplast, and secondary structures were mainly random coils. Under drought and salt condition, the expression level of *HvSERKs* except for *HvSERK4* which is down-regulated in leaves with salt treatment is up-regulated. Additionally, *HvSERKs* genes are highly expressed in mature embryos compared to immature embryos. This study identified and analyzed the *HvSERKs* gene family in barley, and found that they respond to drought and salt stress, with the development regulation of embryos and spikes.

Keywords: *Hordeum vulgare*; Somatic embryo genesis receptor-like kinases; Drought stress; Salt stress; Bioinformatics analysis.

大麦(*Hordeum vulgare* L.)作为全球第四大类谷类作物,其重要性仅次于水稻、小麦和玉米,不仅是重要的饲料来源,也是啤酒酿造的主要原材料^[1-2]。目前,大麦生产面临水资源短缺、土壤盐碱化及优质种质匮乏的困境。干旱和盐胁迫下大麦生物膜会被损伤,导致细胞内水分流失、质膜透性增加及膜脂过氧化,从而引起光合效率下降、花发育异常、小穗不育、减产和品质劣化^[3]。因此,通过遗传学研究,探讨大麦抗旱性和耐盐性机理,挖掘抗逆种质资源,培育高产优质新品种显得尤为重要。

体细胞胚胎发生类受体激酶(somatic embryogenesis receptor-like kinases, SERKs)位于植物细胞膜上,由胞外结构域、跨膜结构域和胞内激酶结构域组成,能够感知并响应细胞周围及环境中的信号分子,通过磷酸化将胞外信号传递到胞内,参与植物生长发育等多种生物学过程^[4]。1997年在胡萝卜体细胞胚胎发生过程中首次鉴定到*DcSERK*,SERK被视作体细胞胚胎发生的标志^[5]。拟南芥中,SERKs在球形期就开始表达,直到鱼雷形期,且子叶中表达量较高^[6-7]。后续研究在水稻^[8-9]、小麦^[10]、玉米^[11]以及甘蓝型油菜^[12]中也鉴定到了SERK基因,说明其在植物中广泛存在。SERKs基因不仅调控体细胞胚胎发生,还广泛参与调节植物的生长发育以及响应生物、非生物胁迫。在拟南芥中,AtSERK3/BAK1能够识别鞭毛蛋白flg22,从而调控天然免疫过程^[13-15]。盐胁迫下,过表达拟南芥的*AtSERK4*能够激活SOS1和AVP1对盐的转运能力,减少Na⁺在植株叶片中的积累,从而应对盐胁迫^[16]。在水稻中,过表达*OsSERK2*可以激活BR信号,导致籽粒变大和抗盐能力的提高^[17]。大麦白粉病侵

染可以诱导*HvSERK2*在叶片的表达,同时瞬时表达*HvSERK2*使白粉病感染指数从58.6%降低到43.2%,表明*HvSERK2*提高了大麦对白粉病的抗性^[18]。

本研究对大麦*HvSERKs*基因家族进行筛选和鉴定,同时从基因结构、染色体定位、理化性质、保守基序、系统进化等方面开展生物信息学分析并检测该家族基因在响应干旱与盐胁迫下的表达情况,以期为大麦抗逆种质资源的挖掘提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大麦材料为河西地区优良抗旱耐盐品种甘啤6号,由甘肃农业大学农学院禾谷类种质资源创新团队提供。

1.2 HvSERKs 家族成员鉴定

在线数据库Tair(<https://www.arabidopsis.org>)下载拟南芥AtSERKs的核苷酸序列。从NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)以及Ensembl Plants数据库(<https://plants.ensembl.org/index.html>)中下载大麦全基因组序列、CDS和gff基因注释文件。通过TB-tools软件进行BLAST对比,进而用隐马尔科夫模型(HMM)分析,设置E值 $<10^{-5}$,最终获取的序列为大麦HvSERKs家族蛋白氨基酸序列。

1.3 HvSERKs 理化性质及染色体定位分析

用ExPasy-Proparam在线网站(<https://web.expasy.org/protparam>)对HvSERKs蛋白的氨基酸数(aa)、等电点(PI)、分子量(MW)、不稳定系数(IF)进行分析。利用TB-tools软件,获取HvSERKs家族成员在染色体上位置信息,并进行可视化分析。

1.4 HvSERKs 同源系统进化分析

用 MEGA11 软件对大麦、小麦 (*Triticum aestivum* L.)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa* L.)、玉米 (*Zea mays* L.)、油菜 (*Brassica napus* L.) 和马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) SERKs 氨基酸序列进行同源性比对, 通过 TB-tools 软件进行优化, 采用最大似然法, Bootstrap method 设置为 1 000, 构建系统发育进化树。

1.5 HvSERKs 基因结构、保守基序和 LRR 序列分析

采用 TBtools 软件中的 Gene Structure Shower 模版进行 *HvSERKs* 基因结构可视化分析。利用在线网站 MEME (<https://meme-suite.org/meme>) 分析 *HvSERKs* 家族成员的保守基序, motif 基序数目设置为 10, 其余均为默认参数, 获得保守基序信息, 并采用 TBtools 软件进行可视化分析。利用 LRR search 数据库 (<https://lrrsearch.com>) 对大麦和拟南芥氨基酸序列中 LRR 特殊序列进行分析。

1.6 HvSERKs 蛋白质二级结构及亚细胞定位分析

通过 SOPMA 网站 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 分析 *HvSERKs* 蛋白质的二级结构, 利用 Euk-mPLoc 2.0 网站 (<https://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/euk-multi-2/>) 进一步预测其亚细胞定位。

1.7 干旱与盐胁迫下大麦组织中及正常生长条件下胚、穗中 *HvSERKs* 的表达模式分析

挑选大小均匀、饱满、健康的甘啤 6 号种子, 用 NaClO 溶液消毒 15 min, ddH₂O 冲洗 3 次后置于培养皿萌发。当幼苗生长 10 d 后, 开始进行干旱胁迫和盐胁迫处理。其中, 干旱胁迫处理采

用含有 0%、20% PEG6000 的 Hoagland 营养液分别处理 0、3、7、10、14 和 21 d; 盐胁迫处理采用含 0 mmol · L⁻¹ (CK)、200 mmol · L⁻¹ NaCl 的 Hoagland 营养液分别处理 0、6、12、24 和 48 h。各处理在每个时间点采集幼苗根、茎、叶片以及全株样品, 用于 RNA 提取, 液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存。此外, 为进一步探究 *HvSERKs* 在大麦胚胎发育中的功能, 挑选大小均匀、饱满、健康的甘啤 6 号种子, 采用点播方式种植于甘肃农业大学作物生产实训园。待大麦授粉后分别采集幼胚 (授粉后 3 d)、成熟胚 (授粉后 10 d)、幼穗 (未授粉) 和成熟穗 (抽穗后 15 d) 的组织样本, 液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存。

利用 RNAsimple 总 RNA 提取试剂盒 (天根, DP419) 提取样品 RNA, FastKing 一步法除基因组 cDNA 第一链合成预混试剂 (天根, KR118) 将提取的 RNA 反转录为 cDNA。

使用 NCBI Primer-BLAST 网站和 Primer Premier 5 设计 *HvSERKs* qRT-PCR 引物, *HvActin* 为内参基因 (表 1)。qRT-PCR 总反应体系 20 μL: 2 × SYBR GreenMix 10 μL, 引物各 0.6 μL, cDNA 模版 1 μL, ROX 参比染料 0.4 μL, RNase-Free ddH₂O 7.4 μL。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 10 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火\延伸 32 s, 40 次循环。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

2 结果与分析

2.1 大麦 SERKs 家族成员的鉴定

通过与拟南芥 SERKs 家族成员的 Blast 比对, 去除冗余、残缺序列, 最终鉴定得到 8 个大麦 SERKs 基因, 将其命名为 *HvSERK1*~*HvSERK8*。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of *HvSERKs* used for qRT-PCR

基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer(5'→3')	反向引物 Reverse primer(5'→3')
<i>HvSERK1</i>	TGGCAGTGCATAGGAACCTG	CAAGCAGCATGACATCGTCG
<i>HvSERK2</i>	AGGACTTCGAGGCAGTTGTG	GCGCGGAGGTTATATGTGGA
<i>HvSERK3</i>	GATGGTCTCGCGGAGAGATG	CTCAACTGCGTGGAGGCTAT
<i>HvSERK4</i>	GGAGTTTGGAAAGGCATCAAATC	CCCTTGTCACCAGCATATCA
<i>HvSERK5</i>	GGACCGCAACCTGAACAA	CCGCTCGTAATCCTCCCT
<i>HvSERK6</i>	GCACTTGTGGACCTTTTCG	GGCTTGTGTGGCTGAAT
<i>HvSERK7</i>	CAGGTGAATCATCGGAGAAGAC	CTCCTCGTTCTCAAACATCATC
<i>HvSERK8</i>	AGGATGTCAGAGGTGGTTTCG	GGTCAGGTCGGAGTAGCAG
<i>HvActin1</i>	TCGAGCACGGTATCGTAAGC	CTCAGTGAGCAACACAGGGT
<i>HvActin2</i>	GGTCCATCCTAGCCTCACTC	GATAACAGCAGTGGAGCGCT

2.2 HvSERKs 基因染色体定位和理化性质

利用 TB-tools 软件分析 *HvSERKs* 基因, 结果(图 1)表明, *HvSERK6*、*HvSERK7* 和 *HvSERK8* 分布在 7H 染色体上, *HvSERK3* 和 *HvSERK4* 分布在 3H 染色体上, *HvSERK1*、*HvSERK2* 和 *HvSERK5* 分别分布在 1H、2H 和 6H 染色体上。

理化性质分析, *HvSERKs* 氨基酸数量为 605~644, 相对分子量为 66.92~69.33 kDa; 平均等电点为 6.04, *HvSERKs* 为碱性蛋白; 不稳定系数在 28.35~40.39 之间, 其中 *HvSERK5* 和 *HvSERK7* 不稳定系数大于 40, 为不稳定蛋白; 脂肪系数 93.59~99.32, 表明 *HvSERKs* 具有亲水性(表 2)。

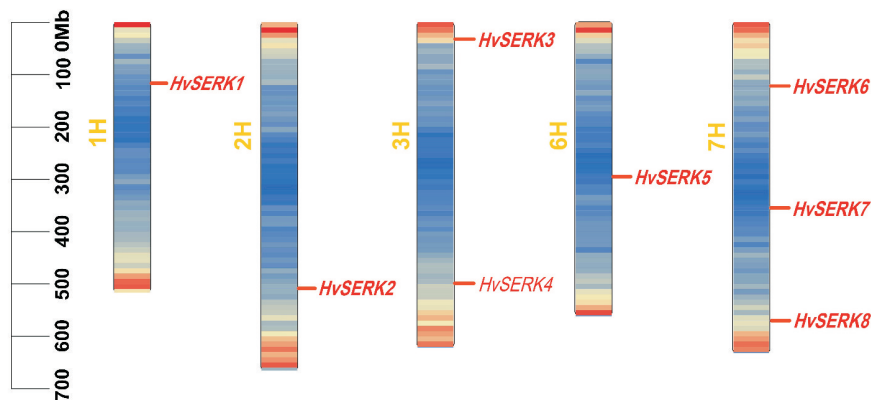


图 1 大麦 *HvSERKs* 染色体定位

Fig. 1 Chromosome localization of *HvSERKs* in barley

表 2 大麦 *HvSERKs* 家族成员理化性质

Table 2 Physicochemical properties of *HvSERKs* in barley

蛋白 Protein	基因 ID 号 Gene locus ID	氨基酸数 Amino acids	分子量 Molecular weight/Da	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index
HvSERK1	HORVU. MOREX. r3. 1HG0026870	622	67 958.87	6.19	39.97	99.26
HvSERK2	HORVU. MOREX. r3. 2HG0172990	627	69 076.99	5.70	39.77	95.17
HvSERK3	HORVU. MOREX. r3. 3HG0233610	632	69 331.53	5.95	34.25	99.32
HvSERK4	HORVU. MOREX. r3. 3HG0291050	605	66 928.20	5.31	28.35	96.81
HvSERK5	HORVU. MOREX. r3. 6HG0587440	622	68 483.06	5.64	40.12	93.59
HvSERK6	HORVU. MOREX. r3. 7HG0671520	625	68 502.72	7.21	38.86	94.40
HvSERK7	HORVU. MOREX. r3. 7HG0697320	622	68 582.20	5.72	40.39	93.59
HvSERK8	HORVU. MOREX. r3. 7HG0728290	644	69 139.89	6.60	39.03	94.67

2.3 7 个物种间 SERKs 家族成员系统进化分析

利用大麦 *HvSERKs* 和其他 6 种植物 *SERKs* 氨基酸序列, 采用最大似然法构建系统发育树。在系统进化树中, 可以将 7 种植物的 *SERKs* 分为 I、II、III 和 IV 4 个分支, 其中分支 IV 的 *SERKs* 基因最多, 分支 II 最少(图 2)。分支 I 由大麦 *HvSERK1*、*HvSERK3*、*HvSERK6* 和 *HvSERK8* 独立构成, 其中 *HvSERK6* 和 *HvSERK8* 亲缘关系近。大麦的 *HvSERK2* 与 *TaSERK2* 及 *HvSERK5* 与 *TaSERK1* 亲缘关系最近, 其次是 *HvSERK7* 与 *OsSERK1*。这表明不同植物的 *SERKs* 基因在

进化过程中保留了相似的序列, 推测其在功能上具有保守性。

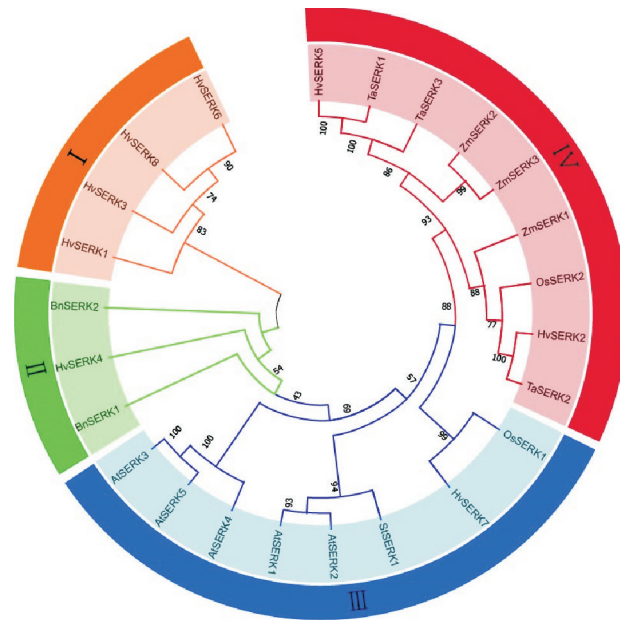
2.4 HvSERKs 基因结构、保守基序和 LRR 序列分析

基因结构分析表明, *HvSERKs* 均由多个外显子和内含子组成, 除 *HvSERK1* 和 *HvSERK6* 有 10 个外显子外, 其余 *HvSERKs* 均含有 11 个外显子(图 3)。 *HvSERKs* 包含 10 个保守基序, 分别命名为 motif 1~motif 10, *HvSERK2*、*HvSERK5* 和 *HvSERK7* 都含所有基序, 且 motif 1~motif 6 和 motif 9 在 *HvSERKs* 中均出现, 表明 *HvSERKs*

氨基酸序列高度保守(图 4)。经过 LRR search 数据库分析, HvSERKs 和 AtSERKs 氨基酸序列胞外区都具有 4 个 LRR 结构域, 其中 AtSERK1~AtSERK5 和 HvSERK2、HvSERK5、HvSERK7 具有 4 个完整的 LRR 特殊共识序列(LXXLX-LXXNXL); HvSERK1、HvSERK3、HvSERK4、HvSERK6、HvSERK8 存在 1~2 个不完整共识序列, 但都具有很高的相似性(图 5)。

2.5 HvSERKs 蛋白质二级结构及亚细胞定位分析

用 SOPMA 对 HvSERKs 的蛋白质二级结构进行分析, 结果显示, 无规则卷曲(52.23%~57.14%) > α-螺旋(33.44%~37.02%) > 延伸链(9.47%~12.10%)。利用 Euk-mPLoc 2.0 预测 HvSERKs 亚细胞定位, 发现只有 HvSERK7 定位于叶绿体, 其他都定位于细胞质膜, 推测其在接收胞外信号中发挥重要作用(表 3)。



I、II、III 和 IV 分别表示 4 个不同分支。Ta: 小麦; Os: 水稻; At: 拟南芥; Zm: 玉米; Bn: 油菜; St: 马铃薯。

I、II、III and IV represent four different subfamilies, respectively. Ta: Wheat; Os: Rice; At: *Arabidopsis*; Zm: Maize; Bn: Rape; St: Potato.

图 2 大麦与其他物种 SERKs 系统进化树
Fig. 2 Phylogenetic tree of SERKs

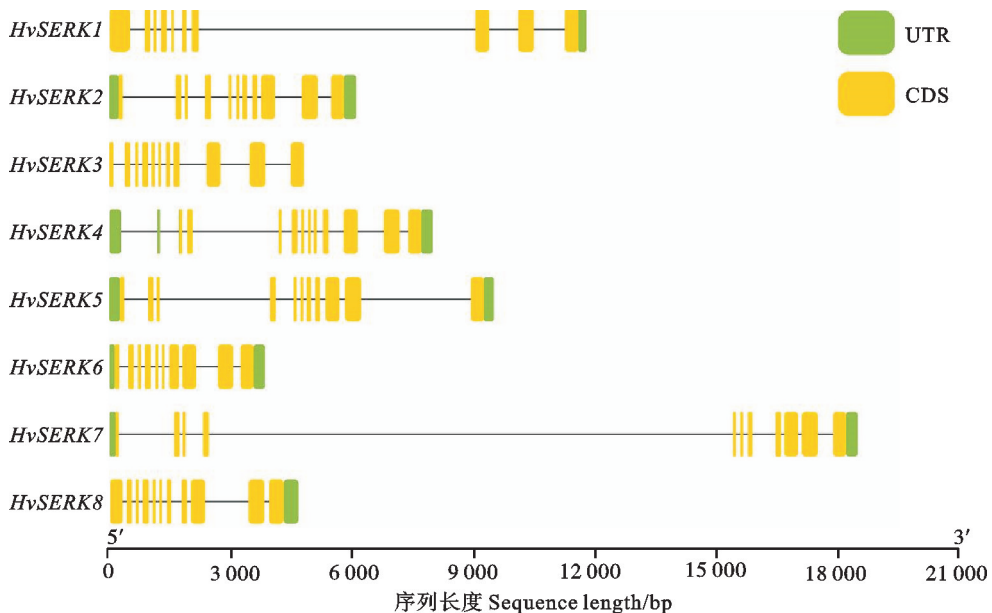


图 3 HvSERKs 基因结构图

Fig. 3 Gene structure map of HvSERKs

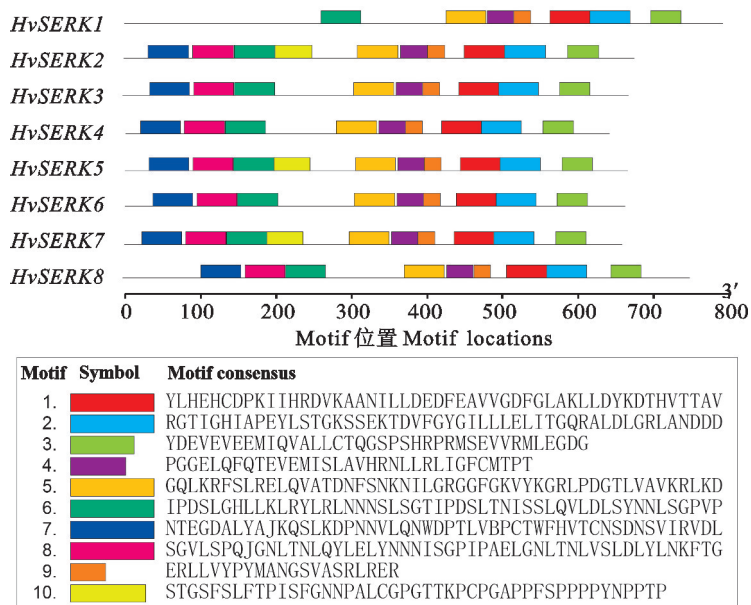


图 4 HvSERKs 蛋白保守基序
Fig. 4 Conserved motif of HvSERKs



图 5 大麦与拟南芥 SERKs 的 LRR 序列分析
Fig. 5 LRR sequence analysis of SERKs between barley and *Arabidopsis thaliana*

表 3 大麦 HvSERKs 蛋白质二级结构及亚细胞定位
Table 3 Protein secondary structure and subcellular localization of HvSERKs in barley

蛋白 Protein	序列长度 Sequence length/aa	α-螺旋 α-helix/aa	无规则卷曲 Random coil/aa	延伸链 Extended strand/aa	亚细胞定位 Subcellular localization
HvSERK1	622	216(34.73%)	334(53.70%)	72(11.58%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK2	627	219(34.93%)	338(53.91%)	70(11.16%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK3	632	228(36.08%)	341(53.96%)	63(9.97%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK4	605	224(37.02%)	316(52.23%)	65(10.74%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK5	628	210(33.44%)	342(54.46%)	76(12.10%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK6	625	212(33.92%)	339(54.24%)	74(11.84%)	质膜 Plasma membrane
HvSERK7	622	211(33.92%)	344(55.31%)	67(10.77%)	叶绿体 Chloroplast
HvSERK8	644	215(33.39%)	368(57.14%)	61(9.47%)	质膜 Plasma membrane

括号内的数值为二级结构长度占序列总长度的比例。

Values in parentheses are the proportions of secondary structure length to the total length of the sequence.

2.6 *HvSERKs* 在干旱胁迫下的表达模式分析

SERKs 定位于细胞膜上,在响应外界环境变化中发挥非常重要的作用^[19]。为探究*HvSERKs* 响应干旱胁迫中的功能,通过 qRT-PCR 对干旱胁迫下大麦幼苗根、茎、叶和全株中该类基因表达进行检测,结果(表 4)显示,干旱胁迫后,8 个基因在根、茎、叶和整株中均上调表达。在叶片中,*HvSERK1*~*HvSERK7* 表达量均在干旱胁迫 7 d 后与 CK 差异最大,尤其*HvSERK7* 表达量是 CK 的 9.4 倍,而*HvSERK8* 表达量则在胁迫 14 d 后是 CK 的 5.4 倍;在茎中,除*HvSERK6* 表达量在胁迫 14 d 后是 CK 的 4.1 倍,其余基因均在胁迫 3 d 或 7 d 后与 CK 差异最大,尤其*HvSERK5* 和

HvSERK7 表达量分别是 CK 的 7.6 和 8.5 倍;在叶中,*HvSERK4*、*HvSERK6* 和*HvSERK7* 表达量均在胁迫 14 d 后与 CK 差异最大,其中*HvSERK7* 表达量是 CK 的 5.4 倍,其余基因在胁迫 7 d 和 10 d 后与 CK 差异最大,尤其*HvSERK5* 表达量在胁迫 7 d 后是 CK 的 8.1 倍;在全株中,*HvSERK4*~*HvSERK7* 表达量均在胁迫 14 d 后与 CK 差异最大,其中*HvSERK7* 表达量是 CK 的 9.4 倍,其余基因在胁迫 7 d 和 10 d 后与 CK 差异最大,其中是*HvSERK3* 表达量在胁迫 7 d 后是 CK 的 8.5 倍。干旱胁迫 21 d 后,大麦幼苗均枯萎死亡。这些结果表明,大麦*HvSERKs* 基因能够响应干旱胁迫。

表 4 干旱胁迫下*HvSERKs* 在大麦组织中的表达量

Table 4 Expression of *HvSERKs* in barley tissues under drought stress

基因 Gene	组织 Tissues	干旱胁迫时间 Duration of drought stress			
		3 d	7 d	10 d	14 d
<i>HvSERK1</i>	根 Root	1.813±0.107**	2.484±0.285**	1.968±0.141**	1.793±0.067**
	茎 Stem	2.856±0.085**	1.458±0.081**	1.305±0.058**	1.280±0.074**
	叶 Leaf	1.611±0.017**	1.821±0.051**	2.001±0.061**	1.256±0.051**
	整株 Plant	1.286±0.006**	1.711±0.045**	2.340±0.057**	1.346±0.079**
<i>HvSERK2</i>	根 Root	2.008±0.054**	4.008±0.051**	3.308±0.106**	2.302±0.369**
	茎 Stem	3.173±0.023**	1.810±0.043**	1.494±0.050*	1.455±0.086*
	叶 Leaf	2.157±0.092**	3.894±0.031**	3.128±0.486**	1.566±0.007**
	整株 Plant	4.012±0.055**	5.570±0.181**	2.234±0.091**	1.589±0.412**
<i>HvSERK3</i>	根 Root	2.137±0.045**	3.527±0.081**	1.976±0.016**	1.772±0.167*
	茎 Stem	3.113±0.097**	2.583±0.167**	2.068±0.051**	1.774±0.013*
	叶 Leaf	4.112±0.086**	5.778±0.804**	3.226±0.019**	2.726±0.197**
	整株 Plant	2.375±0.276**	8.435±0.842**	4.784±0.532**	3.620±0.456**
<i>HvSERK4</i>	根 Root	1.608±0.016**	3.043±0.131**	2.197±0.009**	1.554±0.092**
	茎 Stem	1.811±0.015**	3.863±0.017**	1.561±0.054**	1.652±0.042**
	叶 Leaf	1.517±0.134**	1.831±0.143**	3.735±0.247**	4.408±0.287**
	整株 Plant	1.833±0.134**	2.034±0.326**	2.184±0.298**	2.359±0.407**
<i>HvSERK5</i>	根 Root	1.693±0.089**	5.499±0.529**	3.152±0.078**	1.898±0.199**
	茎 Stem	1.542±0.065*	7.419±0.153**	2.128±0.003**	1.640±0.145*
	叶 Leaf	1.815±0.108**	7.957±0.183**	1.740±0.072**	1.750±0.043**
	整株 Plant	1.799±0.099**	1.990±0.066**	2.875±0.040**	4.533±0.753**
<i>HvSERK6</i>	根 Root	6.115±0.119**	8.069±0.552**	3.065±0.001**	2.162±0.488**
	茎 Stem	1.573±0.014**	1.728±0.025**	2.916±0.024**	3.832±0.071**
	叶 Leaf	1.491±0.025*	1.775±0.059**	2.378±0.071**	3.161±0.119**
	整株 Plant	3.328±0.032**	4.271±0.033**	5.285±0.027**	6.081±0.083**
<i>HvSERK7</i>	根 Root	6.397±1.067**	9.096±0.174**	7.167±1.076**	4.312±0.577**
	茎 Stem	3.540±0.104**	8.395±0.687**	3.611±0.071**	2.195±0.121*
	叶 Leaf	2.366±0.033**	2.425±0.153**	3.596±0.333**	6.103±0.021**
	整株 Plant	5.023±0.189**	5.700±0.278**	7.355±0.451**	9.536±0.057**
<i>HvSERK8</i>	根 Root	1.853±0.102**	2.950±0.411**	3.944±0.498**	5.498±0.735**
	茎 Stem	2.206±0.036*	3.973±0.055**	1.888±0.008**	1.801±0.011**
	叶 Leaf	1.684±0.032**	2.016±0.035**	3.828±0.095**	1.534±0.028*
	整株 Plant	1.741±0.061**	2.234±0.188**	3.701±0.099**	1.678±0.025**

* 和 ** 表示胁迫处理与 CK 间差异在 0.05 和 0.01 水平显著。下同。

* and ** mean significant differences between stress treatment and CK at 0.05 and 0.01 levels, respectively. The same below.

2.7 *HvSERKs* 在盐胁迫下的表达模式分析

为探究*HvSERKs* 响应盐胁迫中的功能,利用 qRT-PCR 对盐胁迫下大麦幼苗根、茎、叶和全株中该类基因的表达量进行测定,结果(表 5)显示,盐胁迫后,8 个*HvSERKs* 基因中,除*HvSERK4* 在大麦叶中下调表达外,其余基因在根、茎、叶和整株中均上调表达。在根中,*HvSERK5* 在盐胁迫 24 h 后上调表达最明显,其表达量是 CK 的 5.8 倍;在茎中,*HvSERK7* 在盐胁迫 48 h 后上调表达最明显,其表达量是 CK 的 3.8 倍;在全株中,*HvSERK5* 在盐胁迫 48 h 后上调最明显,其表达量是 CK 的

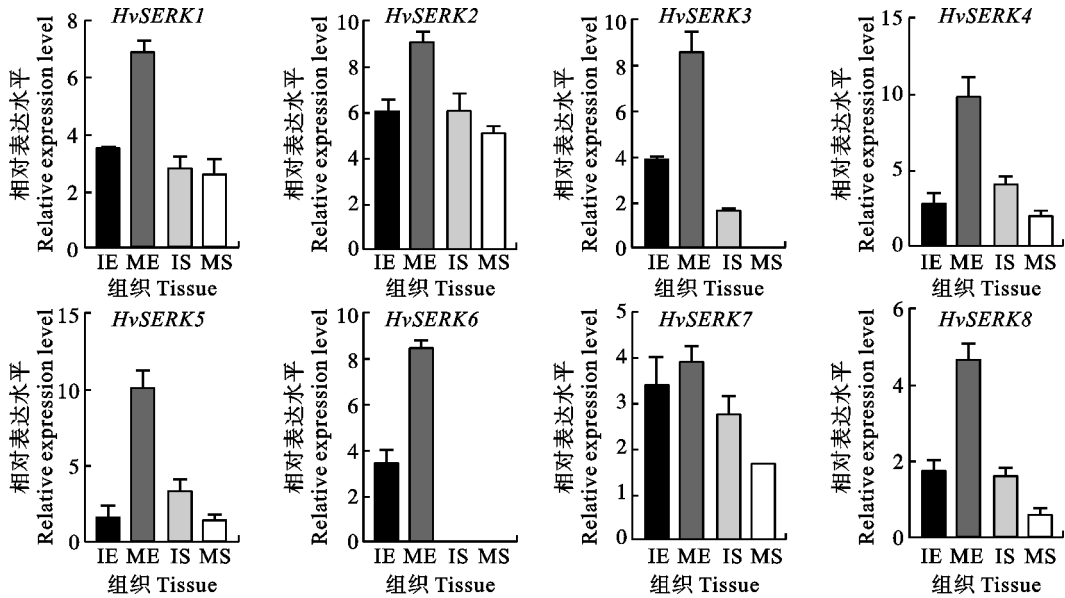
4.8 倍。上述结果表明,大麦*HvSERKs* 基因能够响应盐胁迫。

2.8 *HvSERKs* 基因在幼胚、成熟胚、幼穗和成熟穗中的表达量分析

SERKs 在拟南芥胚胎发育中发挥重要作用^[6-7]。为探究 *HvSERKs* 在大麦胚胎和穗发育中的功能,利用 qRT-PCR 检测大麦幼胚、成熟胚、幼穗和成熟穗中*HvSERKs* 的表达量。结果(图 6)表明,8 个*HvSERKs* 基因均在成熟胚中表达量最高,在幼穗和成熟穗中表达量较胚降低,而*HvSERK6* 在幼穗与成熟穗中没有任何表达。

表 5 盐胁迫下*HvSERKs* 在大麦组织中的表达量
Table 5 Expression of *HvSERKs* in barley tissues under salt stress

基因 Gene	组织 Tissues	盐胁迫时间 Duration of salt stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
<i>HvSERK1</i>	根 Root	1.865±0.025**	2.208±0.086**	2.643±0.121**	2.909±0.002**
	茎 Stem	1.213±0.027**	1.370±0.013**	1.635±0.027**	2.099±0.024**
	叶 Leaf	1.759±0.068**	1.419±0.081**	1.166±0.062**	1.133±0.025**
	整株 Plant	0.861±0.053**	1.781±0.015**	1.157±0.013**	0.880±0.014*
<i>HvSERK2</i>	根 Root	0.834±0.026**	1.777±0.014**	0.864±0.055**	0.615±0.007**
	茎 Stem	0.740±0.006**	1.485±0.014**	2.654±0.041**	1.725±0.056**
	叶 Leaf	1.067±0.012*	1.291±0.048**	2.001±0.037**	2.008±0.011**
	整株 Plant	1.561±0.007**	2.287±0.014**	2.868±0.012**	1.120±0.013**
<i>HvSERK3</i>	根 Root	1.089±0.026*	1.268±0.017**	2.130±0.091**	1.697±0.002**
	茎 Stem	1.083±0.004*	1.165±0.005**	1.157±0.034**	1.425±0.039**
	叶 Leaf	1.113±0.006**	2.358±0.081**	1.133±0.043**	0.910±0.002*
	整株 Plant	1.229±0.024**	1.581±0.011**	1.678±0.019**	2.370±0.011**
<i>HvSERK4</i>	根 Root	0.895±0.005**	1.212±0.009**	3.058±0.055**	3.367±0.027**
	茎 Stem	1.108±0.013**	1.523±0.058**	1.608±0.007**	2.893±0.054**
	叶 Leaf	0.656±0.049**	0.361±0.008**	0.118±0.004**	1.131±0.001**
	整株 Plant	0.907±0.022*	1.467±0.004**	2.156±0.021**	2.747±0.110**
<i>HvSERK5</i>	根 Root	1.393±0.007**	3.984±0.002**	5.727±0.185**	1.957±0.011**
	茎 Stem	1.248±0.028**	1.470±0.007**	2.561±0.030**	2.120±0.053**
	叶 Leaf	1.239±0.079**	1.377±0.004**	1.475±0.018**	1.989±0.003**
	整株 Plant	1.301±0.001**	2.249±0.015**	2.936±0.087**	4.822±0.130**
<i>HvSERK6</i>	根 Root	1.382±0.121**	2.045±0.019**	1.549±0.051**	1.263±0.047**
	茎 Stem	1.412±0.021**	1.613±0.051**	1.641±0.087**	2.367±0.058**
	叶 Leaf	1.119±0.007*	1.440±0.046**	1.880±0.011**	2.309±0.013**
	整株 Plant	1.138±0.009**	1.410±0.008**	2.655±0.110**	1.588±0.037**
<i>HvSERK7</i>	根 Root	0.984±0.044*	2.417±0.012**	3.069±0.103**	1.221±0.001**
	茎 Stem	1.058±0.058*	1.603±0.023**	3.260±0.042**	3.937±0.063**
	叶 Leaf	1.162±0.034*	1.204±0.061**	1.556±0.065**	3.817±0.158**
	整株 Plant	1.203±0.041**	2.775±0.054**	2.947±0.082**	3.725±0.165**
<i>HvSERK8</i>	根 Root	1.180±0.073**	1.986±0.033**	1.697±0.058**	1.119±0.005**
	茎 Stem	2.025±0.063**	2.362±0.051**	1.265±0.011**	1.095±0.051**
	叶 Leaf	1.277±0.019**	1.769±0.051**	1.427±0.001**	0.893±0.001**
	整株 Plant	1.123±0.013**	1.994±0.001**	1.786±0.002**	1.088±0.058**



IE: 幼胚; ME: 成熟胚; IS: 幼穗; MS: 成熟穗。

IE: Immature embryos; ME: Mature embryos; IS: Immature spike; MS: Mature spike.

图 6 HvSERKs 基因在胚、穗中表达量

Fig. 6 Expression pattern of HvSERKs gene in embryo and spike

3 讨论

受体激酶 SERKs 在拟南芥^[20]、水稻^[9]、小麦^[10]和玉米^[11]中参与胚胎发育、先天免疫、响应生物与非生物胁迫、生长发育、细胞死亡等生物学过程。本研究利用拟南芥 SERKs 蛋白序列在大麦全基因组中通过多重序列比对,共鉴定到 8 个大麦 *HvSERKs* 基因,这些基因分布在 5 条染色体上,其中 *HvSERK6*、*HvSERK7* 和 *HvSERK8* 分布于 7H 染色体上,推测该条染色体上发生过基因串联复制。在拟南芥中, *SERKs* 核苷酸序列均包含 11 个外显子;大麦中 8 个 *HvSERKs* 基因中 *HvSERK1* 和 *HvSERK6* 含有 10 个外显子,其余也均具有 11 个外显子。另外, *HvSERKs* 基因具有相似的保守基序,且保守基序长度与位置较为一致。同时,大麦和拟南芥 SERKs 胞外区都具有 4 个 LRR 结构用于接收信号分子。由此可见, *SERKs* 在进化中具有较高的保守性。

SERKs 氨基酸长度在不同物种中差异较小,如 *AtSERK1* (625 aa)、*GmSERK2* (621 aa)、*OsSERK1* (628 aa)。拟南芥中 *AtSERK1* ~ *AtSERK5* 不稳定系数均大于 40,且脂肪系数大于阈值 80。本研究发现, *HvSERKs* 氨基酸长度均在 620 aa 左右,除 *HvSERK5* 和 *HvSERK7* 之外,其余 *HvSERKs* 不稳定系数均小于 40,为稳

定蛋白; *HvSERKs* 富含 Leu、Ser、Gly、Ala 和 Val 等脂肪族氨基酸,且脂肪系数大于 80,均为亲水性蛋白。 *HvSERKs* 二级结构中以无规则卷曲为主 (52.23%~57.14%),为蛋白折叠和稳定提供灵活性,有利于胞外信号识别及信号转导。 *AtSERK3* 参与 BR 信号传导^[21], *OsSERK1* 与 *TaSERK3* 在植物先天免疫和器官发育中发挥作用^[9-10],且系统进化分析表明以上蛋白同 *HvSERK7*、*HvSERK2* 和 *HvSERK5* 同源性较近,推测 *HvSERKs* 功能多样且冗余。

SERKs 通过多种机制在植物逆境适应中发挥重要作用^[16,22-24]。本研究发现,大麦 8 个 *HvSERKs* 在根、茎、叶及全株中均响应干旱和盐胁迫,与甘蓝型油菜 *BnaA07g23390D* 和 *BnaA07g29610D* 干旱胁迫后表达模式类似^[12]。在盐胁迫下,大麦 *HvSERKs* 除 *HvSERK4* 在叶片中下调表达以外均上调表达,且在 24 h 表达量最高,与大豆 *GmSERK4* 和 *GmSERK16* 盐胁迫后表达模式类似^[24]。这表明 *HvSERKs* 广泛参与干旱和盐胁迫信号感知与传导过程,且具有响应时效性和组织间特异性。在幼胚和成熟胚中, *HvSERKs* 都能被检测到,且表达量存在差异,为后续利用基因编辑技术探究 *HvSERKs* 调控胚胎发育的分子机制提供理论依据,也为大麦抗逆种质资源的挖掘和新品种的选育奠定基础。

参考文献:

- [1] 张明生, 张彦平, 朱春梅, 等. 食用大麦开发前景探讨[J]. 大麦与谷类科学, 2008, 25(4): 59.
ZHANG M S, ZHANG Y P, ZHU C M, *et al.* Discussing of exploitation foreground of edible barley [J]. *Barley and Cereal Sciences*, 2008, 25(4): 59.
- [2] 杨涛, 曾亚文, 萧凤回, 等. 药用大麦及其活性物质研究进展[J]. 麦类作物学报, 2007, 27(6): 1154.
YANG T, ZENG Y W, XIAO F H, *et al.* Research progress on medicinal barley and its active substance [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2007, 27(6): 1154.
- [3] KADAM N N, XIAO G, MELGAR R J, *et al.* Agronomic and physiological responses to high temperature, drought, and elevated CO₂ interactions in cereals[M]//Advances in Agronomy. Amsterdam: Elsevier, 2014: 111.
- [4] MA X Y, XU G Y, HE P, *et al.* SERK coreceptors for receptors [J]. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(12): 1017.
- [5] SCHMIDT E D L, GUZZO F, TOONEN M A J, *et al.* A leucine-rich repeat containing receptor-like kinase marks somatic plant cells competent to form embryos [J]. *Development*, 1997, 124(10): 2049.
- [6] ZHANG H, LI X N, WANG W P, *et al.* SERKs regulate embryonic cuticle integrity through the TWS1-GSO1/2 signaling pathway in *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2022, 233(1): 313.
- [7] LI H Q, CAI Z P, WANG X J, *et al.* SERK receptor-like kinases control division patterns of vascular precursors and ground tissue stem cells during embryo development in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(7): 984.
- [8] ITO Y, TAKAYA K, KURATA N. Expression of SERK family receptor-like protein kinase genes in rice [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2005, 1730(3): 253.
- [9] HU H, XIONG L, YANG Y. Rice SERK1 gene positively regulates somatic embryogenesis of cultured cell and host defense response against fungal infection [J]. *Planta*, 2005, 222(1): 107.
- [10] SINGH A, KHURANA P. Ectopic expression of *Triticum aestivum* SERK genes (*TaSERKs*) control plant growth and development in *Arabidopsis* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 12368.
- [11] ZHANG S Z, LIU X G, LIN Y A, *et al.* Characterization of a *ZmSERK* gene and its relationship to somatic embryogenesis in a maize culture [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2011, 105(1): 29.
- [12] 顾巧美, 赵云燕, 彭澳怡, 等. 甘蓝型油菜 SERK 基因家族的鉴定与系统进化分析[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(5): 783.
GU Q M, ZHAO Y Y, PENG A Y, *et al.* Genome-wide identification and phylogenetic analysis of *SERK* gene family in *Brassica napus* [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2021, 43(5): 783.
- [13] KEMMERLING B, SCHWEDT A, RODRIGUEZ P, *et al.* The BRI1-associated kinase 1, BAK1, has a brassinolide-independent role in plant cell-death control [J]. *Current Biology*, 2007, 17(13): 1116.
- [14] CHINCHILLA D, ZIPFEL C, ROBATZEK S, *et al.* A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence [J]. *Nature*, 2007, 448: 497.
- [15] HEESE A, HANN D R, GIMENEZ-IBANEZ S, *et al.* The receptor-like kinase SERK3/BAK1 is a central regulator of innate immunity in plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(29): 12217.
- [16] 常智鸿. 拟南芥 SERK4 参与调控盐胁迫适应机制的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
CHANG Z H. Study on the mechanism of *Arabidopsis* SERK4 involved in regulating salt stress adaptation [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2021.
- [17] DONG N N, YIN W C, LIU D P, *et al.* Regulation of brassinosteroid signaling and salt resistance by SERK2 and potential utilization for crop improvement in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 621859.
- [18] LI Y B, LI Q W, GUO G M, *et al.* Transient overexpression of *HvSERK2* improves barley resistance to powdery mildew [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4): 1226.
- [19] SANTOS M O, ARAGÃO F J L. Role of *SERK* genes in plant environmental response [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(12): 1111.
- [20] WU Y J, GAO Y, ZHAN Y Y, *et al.* Loss of the common immune coreceptor BAK1 leads to NLR-dependent cell death [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(43): 27044.
- [21] LI J, WEN J Q, LEASE K A, *et al.* BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling [J]. *Cell*, 2002, 110(2): 213.
- [22] ZHENG L W, MA J J, MAO J P, *et al.* Genome-wide identification of *SERK* genes in apple and analyses of their role in stress responses and growth [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 962.
- [23] ZHOU R J, WANG Y Y, ZHANG X N, *et al.* Cloning and expression analysis of *SERK1* gene in *Diospyros lotus* [J]. *Open Life Sciences*, 2022, 17(1): 1296.
- [24] 何福林, 刘询, 张斌. 大豆 SERK 基因家族生物信息学及盐胁迫下的表达分析[J]. 西北农业学报, 2019, 28(10): 1708.
HE F L, LIU X, ZHANG B. Bioinformatics identification of *SERK* genes and expression analysis under salt stress in soybean [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2019, 28(10): 1708.