麦类作物学报 2023,43(2):150－156
Journal of Triticeae Crops doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2023.02.03

网络出版时间:2023-02-13
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail//61.1359.S.20230210.1447.010.html

# 大麦根系响应湿害胁迫的转录组分析

栾海业[1],王春吉[3],陈昌宇[1],王 鸿[1],杨 力[3],
张英虎[2],乔海龙[2],杨红燕[2],沈会权[2],臧 慧[1,2]

(1.盐城师范学院,江苏盐城 224002;2.江苏沿海地区农业科学研究所,江苏盐城 224002;
3.盐城市粮油作物技术指导站,江苏盐城 224002)

**摘 要**:湿害是影响大麦产量和品质的主要非生物胁迫之一。为进一步明确大麦响应湿害胁迫的应答机理,本研究以耐湿大麦品种泰兴9425为材料,利用高通量转录组测序(RNA－seq)技术,比较不同湿害胁迫时间下的基因表达差异。结果表明,湿害胁迫12 h后获得1 436个差异表达基因,而胁迫48 h后获得2 090个差异表达基因,其中共同上调表达基因286个。GO富集分析发现,涉及代谢过程、细胞膜、催化活性等的差异表达基因占比最多。KEGG富集分析发现,差异表达基因主要富集于糖酵解、类黄酮生物合成、乙烯合成等代谢通路。对7个耐湿相关的候选基因进行qRT-PCR分析,发现差异表达基因的表达量变化趋势与RNA-seq结果一致。

**关键词**:大麦;湿害胁迫;转录组;差异表达基因
**中图分类号**:S512.3;S330 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-1041(2023)02-0150-07

# Transcriptome Analysis of Barley Root in Response to Waterlogging Stress

**LUAN Haiye[1], WANG Chunji[3], CHEN Changyu[1], WANG Hong[1], YANG Li[3],
ZHANG Yinghu[2], QIAO Hailong[2], YANG Hongyan[2], SHEN Huiquan[2], ZANG Hui[1,2]**

(1. Yancheng Teachers University, Yancheng, Jiangsu 224002, China; 2. Jiangsu Coastal Area Institute of Agricultural Sciences, Yancheng, Jiangsu 224002, China; 3. Yancheng Grain and Oil Crop Technical Gruidance Station, Yancheng, Jiangsu 224002, China)

**Abstract**: Waterlogging is one of the major abiotic stresses that affects barley yield and quality. In order to further clarify the mechanism of barley response to waterlogging stress, Taixing 9425, a waterlogging tolerant barley variety, was used to compare the gene expression differences under different stress time by high-throughput transcriptomic sequencing analysis. The results showed that a total of 1 436 differentially expressed genes(DEGs) were detected under waterlogging stress treatment for 12 h, while 2 090 DEGs were detected under waterlogging stress treatment for 48 h, including 286 DEGs both up-regulated in 12 h and in 48 h. GO enrichment analysis showed that the functions of DEGs were mainly referred to metabolic process, cell membrane, catalytic activity, etc. KEGG enrichment analysis showed that DEGs were enriched in glycolysis and fermentation, flavonoid and ethylene biosynthesis, etc . We validated the expression profiles of seven candidate genes by qRT-PCR, and found the results were consistent with the RNA-seq results.

**Key words**: Barley; Waterlogging stress; Transcriptome; Differentially expressed genes

收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-05-06
**基金项目**:啤酒大麦产量与质量协同技术推广计划项目(2020-ZYXT-04-2);江苏省自然科学基金项目(BK20201215);国家大麦青稞产业技术体系专项(CARS-05);江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室开放课题项目(PL202102);江苏现代农业(特粮特经)产业技术体系啤酒大麦创新团队项目(JATS[2021]228)
**第一作者** E-mail:luanhaiye@163.com
**通讯作者**:臧 慧(E-mail:244693584@qq.com)

湿害是指土壤水分过多造成的缺氧环境,对作物正常生长发育所产生的危害。随着全球生态环境的恶化,极端天气出现的频率不断增加,湿害已经成为影响农作物生产的主要非生物胁迫因素之一[1]。据统计,在世界范围内,大约有 16%的耕地面积受到不同程度的湿涝危害,导致作物减产约 20%~30%。中国每年大约有 30%的耕地面积受到不同程度的洪涝影响,且呈逐年增加的趋势[2]。

大麦是世界上最古老的栽培作物之一,播种面积和总产量仅次于玉米、小麦、水稻,居禾谷类作物第 4 位,具有饲用、啤用、食用以及保健等用途[3]。大麦在中国长江中下游地区及江苏沿海地区广泛种植,但该地区地下水位偏高或雨水偏多,是中国受洪涝影响最为严重的地区之一,严重影响大麦的产量和品质。目前,麦类作物抵抗湿涝胁迫的分子机理尚不清楚,耐湿基因克隆的报道尚少见[4]。因此,创新大麦耐湿种质资源,培育耐湿大麦品种是防止湿害胁迫最经济、有效的方法。

近年来,转录组测序(RNA-seq)技术已广泛应用于小麦[5]、玉米[6]、大豆[7]、西红柿[8]等物种的湿害胁迫研究,并发现了大量与耐湿性相关的基因。Shen 等[5]对 3 个小麦品种的种子进行淹水处理后作 RNA-seq 分析,共发现 2 775 个差异表达基因,主要与糖酵解、淀粉和蔗糖代谢以及乳糖代谢等通路相关。Sharmin 等[7]通过对耐湿大豆和敏感大豆的转录组学进行分析,分别鉴定到 1 563 和 1 958 个差异表达基因,主要富集于细胞壁、抗氧化酶活性、转录因子活性以及蛋白传导与代谢等通路[7]。RNA-seq 技术也已应用于大麦抗逆等相关研究中[9-10]。

本研究以耐湿大麦品种泰兴 9425 为材料,采用 RNA-seq 技术筛选大麦根系中响应湿害胁迫的差异表达基因,通过功能富集,解析耐湿大麦适应湿害胁迫的分子调控机理,以期为挖掘大麦耐湿基因和培育耐湿大麦新品种奠定基础。

## 1　材料与方法

### 1.1　试验材料

本课题组前期通过盆钵栽培,在水池中对 75 份大麦种质进行耐湿性鉴定,以黄叶数目作为鉴定指标,筛选出多个耐湿材料[11]。本研究以筛选出的耐湿大麦品种泰兴 9425 为试验材料。

### 1.2　试验方法

选取大小均匀一致且无破损的大麦种子,播种于装满营养土和蛭石的盆钵中,每盆均匀播种 9 粒种子,待幼苗长至 2 叶 1 心期时,定苗至每盆 6 棵,继续培养至 3 叶 1 心期,将试验材料置于水箱中进行湿害胁迫处理,水平面高于基质表面 2~3 cm。在湿害胁迫处理后的 0、12 和 48 h,将根系洗净,迅速放入液氮中,然后置于超低温冰箱中保存。后续 RNA 的提取、cDNA 的建库和 RNA-seq 均委托上海伯豪生物科技有限公司进行。

#### 1.2.1　RNA-seq 及数据预处理

通过 Illumina HiSeq™ 2000 高通量测序技术对构建的 cDNA 文库进行 RNA-seq。每个处理进行 3 次生物学重复。对测得的原始数据(raw reads)进行严格控制,去除 reads 中含有的接头序列、长度小于 25 bp 的序列以及所属物种的核糖体 RNA 序列,最终得到可用于数据分析的有效数据(clean reads)。用 TopHat 2.0.9 的拼接映射(spliced mapping)算法对预处理后的有效数据进行基因组比对。

#### 1.2.2　基因功能注释及数据分析

用 BLAST 软件将差异表达基因的序列对比到 NR、KEGG 等数据库,将处理后的数据进行注释和分类。用 FPKM(fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped)进行基因表达量的标准化,用 DESeq 软件对样品间的差异表达基因进行筛选与检测,将表达差异倍数(fold change)≥2 且错配率(false discovery rate, FDR)<0.01 作为筛选标准[12]。

#### 1.2.3　qRT-PCR 验证分析

选择 7 个与大麦耐湿相关的差异表达基因,根据其全长 cDNA 序列,用 Primer 5.0 软件设计引物(表 1),以看家基因 *Actin* 为内参进行 qRT-PCR 验证分析。PCR 反应体系为 25 μL,包括 SYBR Premix Ex Taq 12.5 μL,上、下游引物各 1 μL,cDNA 模板 2 μL,蒸馏水 8.5 μL。PCR 反应程序按照 7500 ABI FAST(美国)要求进行。设置 3 次重复,采用 $2^{-\triangle\triangle C_t}$ 法[13]计算基因的相对表达量。

## 2　结果与分析

### 2.1　RNA-seq 数据质量分析

利用 Illumina HiSeq™ 2000 对湿害胁迫后的 3 个大麦根系样品进行 RNA-seq,数据统计结

果如表 2 所示。3 个样品分别得到 46 771 648、44 658 008 和 45 803 130 bp 的原始数据，过滤后分别获得 44 094 490、42 233 219 和 43 168 149 bp 的高质量有效数据，分别包含 7.0、6.7 和 6.9 Gb 的碱基，Q20（质量值≥20 的碱基）所占百分比均在 94.97%以上（表 2），表明测序数据符合试验要求，可以进行后续分析。

用 TopHat 的拼接映射算法对测序得到的有效数据进行基因组比对，发现湿害胁迫处理 0、12 和 48 h 的大麦样品与大麦参考基因组匹配的序列所占比例分别为 83.81%、83.44%和 83.03%（表 2）。通过对测序饱和度进行分析，发现测序数据量接近饱和，表明所测样本的数据可用于下一步的差异基因表达分析。

**表 1 差异表达基因 qRT-PCR 分析所用到的引物**

**Table 1 Primers for qRT-PCR analysis of differentially expressed genes**

| 基因名称 Gene name | 正向序列(5′-3′) Forward primer | 反向序列(5′-3′) Reverse primer | 产物长度 Product length/bp |
|---|---|---|---|
| ATP 合酶基因 *ATPS* | GACCGGAACACTGAGAGGAG | GGACGGGTTGATGAGAGGAA | 61 |
| 乙醇脱氢酶基因 *ADH* | CCCGTCTCACTTACACCCTT | CCGTCCTTCTCCTCGAACTT | 85 |
| 丙酮酸脱羧化酶基因 *PDC* | ATGCTTACGGGTGACAATGC | CTGGAATTCATACCCGCAGC | 99 |
| 谷氨酰氨合成酶基因 *GS 1* | CGATCTCCATTCTCTCGCCT | CTGGAATTCATACCCGCAGC | 144 |
| 乙烯氧化酶基因 *ACO 1* | AAGGACTGGGGCTTCTTCTG | CTCGTCGTAGTGGGCATACA | 93 |
| 谷胱甘肽 s-转移酶基因 *GST* | TGGAAGCAGGTGGTCAAGAT | TGTGAAGCCCGATGGAAGAT | 141 |
| ERF 转录因子基因 *ERF021* | ACGAATCCGCCGACAGTATC | TCAGAAAATGGCGCTGTCCA | 110 |
| 肌动蛋白基因 *Actin* | GGTCCATCCTAGCCTCACTC | GATAACAGCAGTGGAGCGCT | 129 |

*ATPS*: ATP synthase; *ADH*: Alcohol dehydrogenase; *PDC*: Pyruvate decarboxylase; *GS 1*: Glutamine synthetase; *ACO 1*: 1-aminocyclopropane-carboxylate oxidase 1; *GST*: Glutathione S-transferase; *ERF021*: Ethylene responsive factor 021.

**表 2 测序数据质量评估表**

**Table 2 Sequencing reads quality assessment**

| 样品 Sample | 原始数据 Raw reads | 有效数据 Clean reads | 总碱基 Clean data/Gb | Q20 占比 Q20 ratio/% | 比对到参考基因组的序列数(比对到参考基因组的序列数占序列总数的百分比/%) Mapped reads(Percentage of mapped reads in total reads/%) |
|---|---|---|---|---|---|
| TX9425-0 h | 46 771 648 | 44 094 490 | 7.0 | 94.81 | 36 881 691(83.81) |
| TX9425-12 h | 44 658 008 | 42 233 219 | 6.7 | 94.97 | 34 924 946(83.44) |
| TX9425-48 h | 45 803 130 | 43 168 149 | 6.9 | 95.04 | 35 544 445(83.03) |

TX9425-0 h、TX9425-12 h 和 TX9425-48 h 分别表示泰兴 9425 湿害胁迫 0、12 和 48 h。TX9425：泰兴 9425。图 1 和图 2 同。

TX9425-0 h, TX9425-12 h, and TX9425-48 h represent waterlogging stress for 0, 12 and 48 h, respectively. TX9425: Taixing 9425. The same in figures 1 and 2.

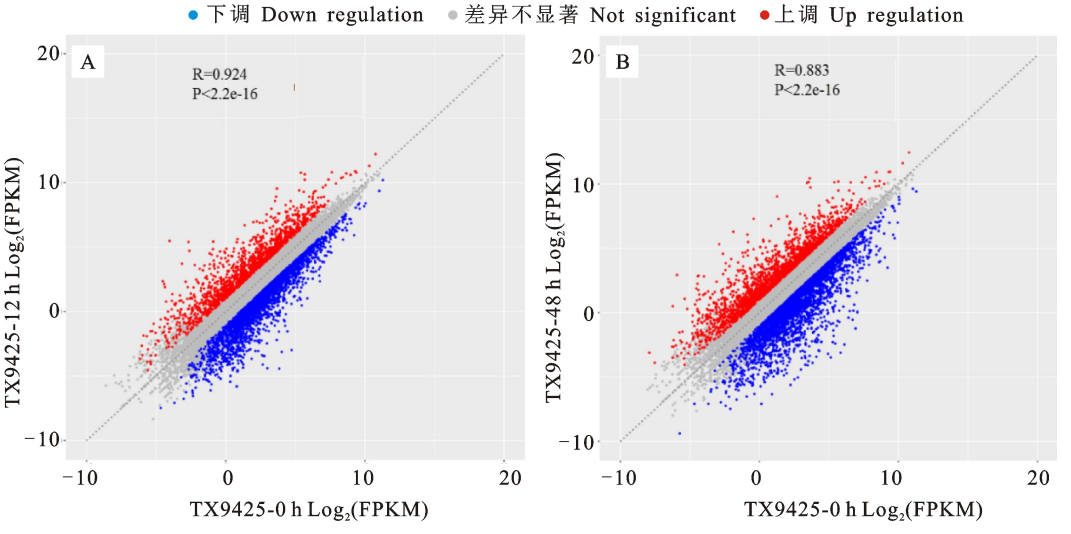
## 2.2 差异表达基因分析

对湿害胁迫后的差异表达基因进行分析，结果（图 1）表明，泰兴 9425 湿害胁迫 12 h 后上调表达的差异表达基因有 508 个，下调表达的差异表达基因有 928 个；湿害胁迫 48 h 后上调表达的差异表达基因有 687 个，下调表达的差异表达基因有 1 403 个。这说明湿害胁迫后，大麦根系中下调表达基因的数量明显多于上调表达的基因数量。通过比较分析，发现在两个时间点内共同上调表达的差异表达基因有 286 个，共同下调表达的差异表达基因有 444 个，这些共同上调表达的差异基因是与大麦耐湿性密切相关的候选基因（图 2）。

## 2.3 差异表达基因的 GO 富集分析

为进一步了解湿害胁迫条件下大麦根系的抗逆机理，对差异表达基因进行 GO 富集分析。结果如图 3 所示，差异表达基因可分为生物学过程、细胞组分和分子功能三大类，每个大类可以进一步分为 22、16 和 13 个亚类。生物学过程中，涉及细胞过程、代谢过程和单组织过程类的差异表达基因占比最高，而涉及解毒和生物附着的差异表达基因占比最低；细胞组分中涉及细胞、细胞部件和膜的差异表达基因占比最高，而涉及病毒体的

差异表达基因占比最低;分子功能中,涉及结合和催化活性的差异表达基因占比最高,而涉及金属伴侣活性蛋白的差异表达基因占比最低。以上结果可以看出,差异表达基因主要富集在细胞学过程和代谢过程,且在不同湿害胁迫处理时间下,差异基因富集的趋势基本一致。




A:泰兴 9425 湿害胁迫 12 h 的差异表达基因统计;B:泰兴 9425 湿害胁迫 48 h 的差异表达基因统计。

A: Differentially expressed genes statistics of Taixing 9425 under waterlogging stress for 12 h; B: Differentially expressed genes statistics of Taixing 9425 under waterlogging stress for 48 h.

**图 1　差异表达基因的火山图**

**Fig. 1　Volcano plot of differentially expressed genes**

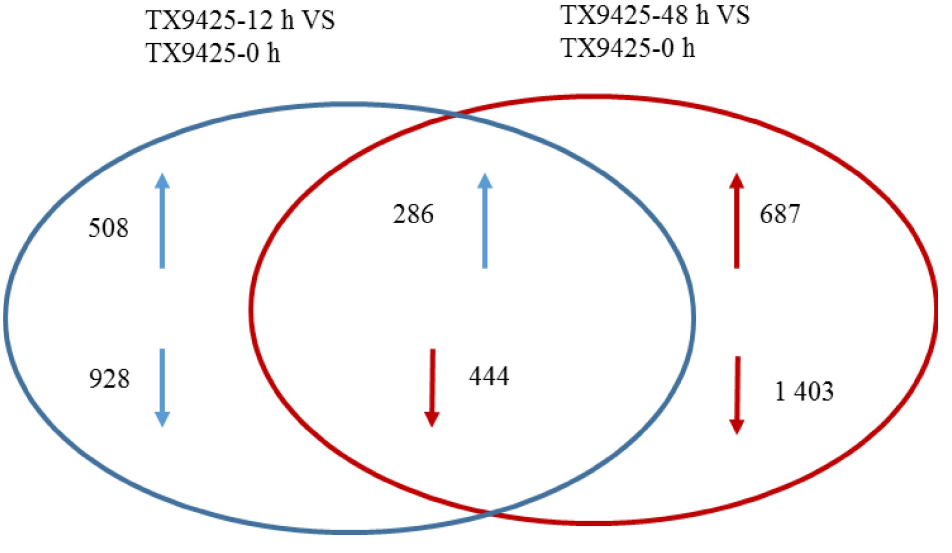
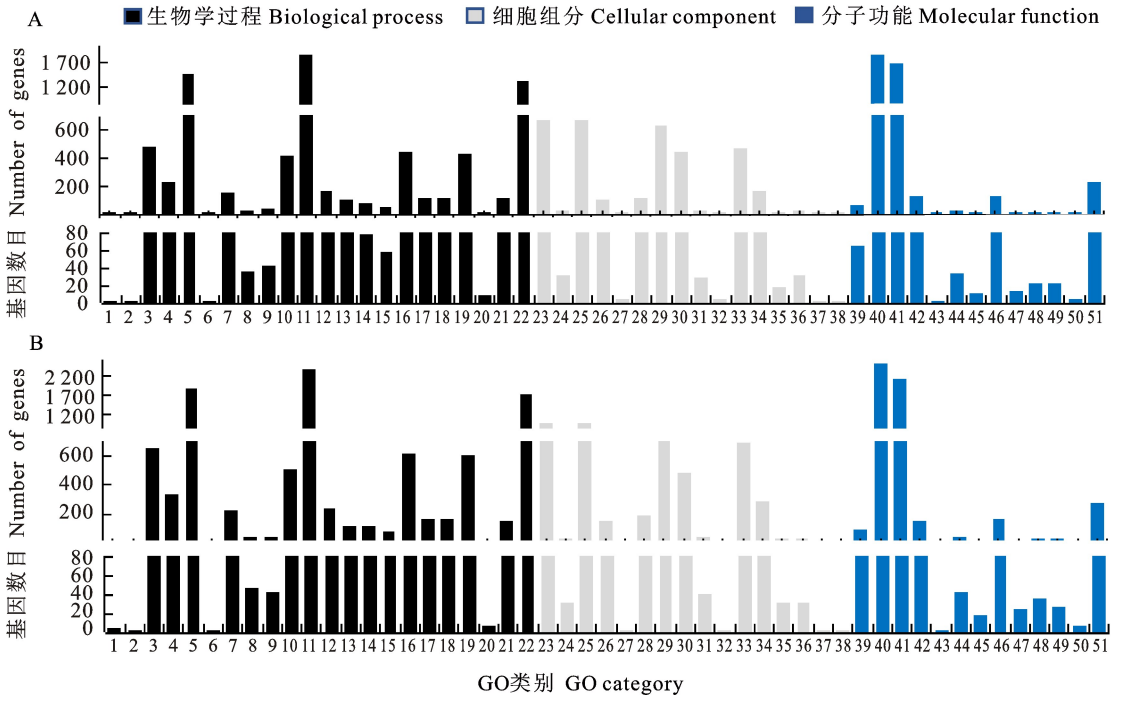



**图 2　差异表达基因的维恩图**

**Fig. 2　Venn graph of differentially expressed genes**

## 2.4　差异表达基因的 KEGG 富集分析

为进一步研究差异表达基因的生物学功能,对差异表达基因进行 KEGG 富集分析,发现差异表达基因主要富集于 106 条代谢通路中。不同湿害胁迫处理时间下,均选取富集最显著的前 15 条代谢通路进行展示(图 4),发现在不同湿害胁迫处理时间中均显著富集的代谢通路有 8 个,分别为玉米素生物合成、糖酵解、黄酮生物合成、硫代葡萄糖苷、淀粉和蔗糖代谢、硫代谢、双酚降解和苯酸盐降解。




A:泰兴 9425 湿害胁迫 12 h 的差异表达基因 GO 富集分析;B:泰兴 9425 湿害胁迫 48 h 的差异表达基因 GO 富集分析。1:生物附着;2:生物阶段;3:生物调节;4:细胞成分组织或生物合成;5:细胞过程;6:解毒;7:发育过程;8:生长;9:免疫系统过程;10:定位;11:代谢过程;12:多细胞生物过程;13:有机体过程;14:负调控生物过程;15:正调控生物过程;16:生物过程调控;17:繁殖;18:生殖过程;19:刺激反应;20:节律过程;21:信号;22:单一生物过程;23:细胞;24:细胞结合;25:细胞部分;26:胞外区域;27:胞外基质部分;28:大分子复合物;29:膜;30:膜-封闭腔;31:膜部分;32:类核;33:细胞器;34:细胞器部分;35:超分子纤维;36:合胞体;37:病毒粒子;38:病毒粒子部分;39:抗氧化活性;40:结合;41:催化活性;42:电子载体活性;43:金属伴侣蛋白活性;44:分子功能调控;45:分子传感活性;46:核酸结合转录因子活性;47:营养库活性;48:信号传感器活性;49:结构分子活性;50:转录因子活性,蛋白质结合;51:运输活动。

A: GO enrichment analysis of differentially expressed genes of Taixing 9425 under waterlogging stress for 12 h; B: GO enrichment analysis of differentially expressed genes of Taixing 9425 under waterlogging stress for 48 h. 1:Biological adhesion; 2:Biological phase; 3:Biological regulation; 4:Cellular component organization or biogenesis; 5:Cellular process; 6:Detoxification; 7: Developmental process; 8:Growth; 9:Immune system process; 10:Localization; 11: Metabolic process; 12:Multicellular organismal process; 13:Multi-organism process; 14:Negative regulation of biological process; 15:Positive regulation of biological process; 16:Regulation of biological process; 17: Reproduction; 18: Reproductive process; 19: Response to stimulus; 20: Rhythmic process; 21: Signaling; 22: Single-organism process; 23:Cell; 24:Cell junction; 25:Cell part; 26: Extracellular region; 27:Extracellular region part; 28:Macromolecular complex; 29:Membrane; 30:Membrane-enclosed lumen; 31:Membrane part; 32:Nucleoid; 33:Organelle; 34:Organelle part; 35:Supramolecular fiber; 36:Symplast; 37: Virion; 38:Virion part; 39:Antioxidant activity; 40:Binding; 41:Catalytic activity; 42: Electron carrier activity; 43:Metallochaperone activity; 44:Molecular function regulator; 45: Molecular transducer activity; 46:Nucleic acid binding transcription factor activity; 47:Nutrient reservoir activity; 48: Signal transducer activity; 49:Structural molecule activity; 50:Transcription factor activity,protein binding; 51: Transporter activity.

**图 3 差异表达基因的 GO 富集分析**

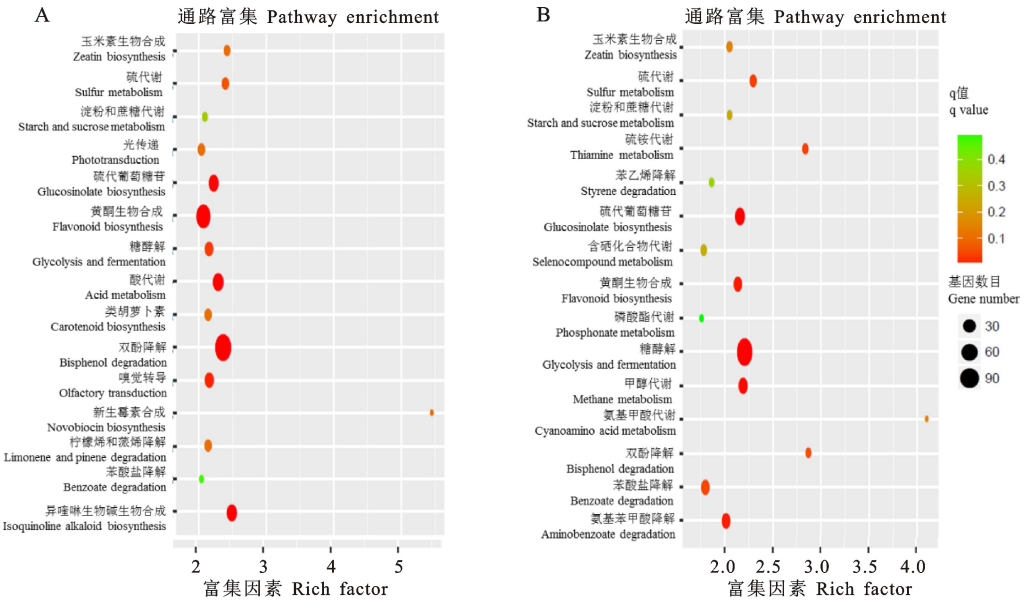
**Fig. 3 GO enrichment analysis of differentially expressed genes**

### 2.5 差异表达基因的 qRT-PCR 验证

为验证 RNA-seq 数据结果的准确性和可靠性,利用 qRT-PCR 对湿害胁迫处理 12 和 48 h 均上调表达的 7 个基因(见表 1)进行表达分析,结果表明,qRT-PCR 结果与 RNA-seq 结果呈显著相关,平均相关系数为 0.732 3(图 5),说明 RNA-seq 结果可靠。

## 3 讨 论

植物响应湿害胁迫是一个由多基因控制的复杂调控过程,首先感受湿害胁迫的是植物根系,其通过一系列基因表达调控,导致蛋白质和代谢产物发生变化,最终引起植株地上和地下表型发生改变,进而适应湿害胁迫。本研究对耐湿小麦品




A:泰兴 9425 湿害胁迫 12 h 的差异表达基因 KEGG 富集分析;B:泰兴 9425 湿害胁迫 48 h 的差异表达基因 KEGG 富集分析。

A: KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes of Taixing 9425 under waterlogging stress for 12 h; B: KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes of Taixing 9425 under waterlogging stress for 48 h.

**图 4　差异表达基因 KEGG 富集分析**

**Fig. 4　KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes**

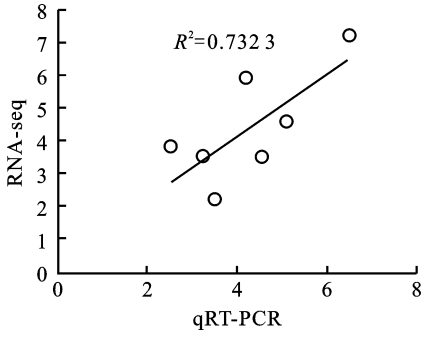



**图 5　7 个差异表达基因的 qRT-PCR 结果与 RNA-seq 结果的相关性分析**

**Fig. 5　Correlation analysis between qRT-PCR results and RNA-seq results of the seven differentially expressed genes**

种泰兴 9425 进行湿害胁迫 12 和 48 h 后,取其根系进行 RNA-seq 分析,分别获得 1 436 和 2 090 个差异表达基因,其中有 286 个为共同上调表达基因。

植物在遭受逆境胁迫时,活性氧自由基(ROS)的含量会明显上升,植物会通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)以及谷胱甘肽硫转移酶(GST)等多个抗氧化酶的活性,来清除在植物体内积累的 ROS[14]。GST 是广泛分布于动植物体内的一组多功能的同工酶,受到外界氧化胁迫、干旱胁迫、盐胁迫、乙烯响应等多种逆境胁迫因子的诱导[15]。GST 在植物体内具有过氧化酶的活性,可以清除氧化胁迫产生的过氧化物等物质,起到解毒的作用,保证作物的正常生长[16]。Ji 等[17]研究表明,在烟草中过表达野生大豆 *GST* 基因,明显增强了转基因烟草的抗旱性和耐盐性。本研究转录组测序分析结果发现,湿害胁迫处理后,*GST* 基因在湿害胁迫处理 12 和 48 h 后均明显上调表达,且与 qRT-PCR 分析结果一致,表明耐湿大麦材料可通过抗氧化系统的调节,清除活性氧等对自身的伤害,进而增强其湿害胁迫下的耐受性。

能量代谢途径中的相关基因与植物逆境胁迫也密切相关,在玉米和猕猴桃的耐湿性研究中发现,湿害可诱导糖酵解和发酵途径中相关基因的上调表达[18-19]。本研究也发现,湿害导致耐湿大麦品种泰兴 9425 中丙酮酸脱羧酶基因 *PDC* 和乙醇脱氢酶基因 *ADH* 均明显上调表达,且在湿害胁迫处理 48 h 后的表达量明显高于 12 h 的表达量。*PDC* 基因在响应低氧、冷害、盐胁迫等非生物胁迫方面起重要作用[20]。Zhang 等[19]利用转录组学对猕猴桃进行耐湿性研究,也发现 *PDC* 和 *ADH* 基因在湿害胁迫后明显上调表达,促进

猕猴桃在低氧环境下产生更多的能量，维持猕猴桃的正常生长。

本研究 GO 富集分析发现，差异表达基因主要富集于代谢过程、细胞膜结构以及催化活性等通路。KEGG 富集分析发现，差异表达基因主要富集于糖酵解、硫代葡萄糖苷生物合成、双酚降解等通路。说明湿害胁迫条件下，耐湿大麦根系主要通过无氧呼吸迅速产生 ATP，满足自身能量代谢的需要，同时可通过增强抗氧化酶的活性，减少湿害对细胞的毒害，这与其他作物的耐湿性研究结果相契合[5-8]。前人研究还发现，湿害胁迫会导致与通气组织形成相关的基因明显上调表达，而本研究未发现，这可能与胁迫处理的时间较短有关。本研究在转录水平上初步解释了大麦对湿害胁迫响应的分子调控机理，为以后深入研究大麦耐湿基因的功能以及耐湿大麦新品种选育提供了理论依据。

**参考文献：**


[1]SINGH G，KUMAR P，TYAGI B S，*et al*. Identification and characterization of recombinant inbred lines(RILs) for waterlogging tolerance in bread wheat [J]. *Journal of Cereal Research*，2021，12：229.

[2]霍治国，范雨娴，杨建莹，等. 中国农业洪涝灾害研究进展[J]. 应用气象学报，2017，28(6)：641.
HUO Z G，FAN Y X，YANG J Y，*et al*. Review on agricultural flood disaster in China [J]. *Journal of Applied Meteorological Science*，2017，28(6)：641.

[3]栾海业，徐 肖，陶 红，等. 大麦 EMS 突变体库构建和突变体筛选[J]. 麦类作物学报，2020，40(5)：577.
LUAN H Y，XU X，TAO H，*et al*. Construction of EMS-treated mutant library and mutant phenotypic analysis in barley [J]. *Journal of Triticeae Crops*，2020，40(5)：577.

[4]栾海业，杨红燕，徐 肖，等. 作物耐湿性生理及分子机理研究进展[J]. 大麦与谷类科学，2021，38(2)：8.
LUAN H Y，YANG H Y，XU X，*et al*. Research progress in the physiology and molecular mechanisms of waterlogging tolerance in crops [J]. *Barley and Cereal Sciences*，2021，38(2)：8.

[5]SHEN C W，YUAN J P，QIAO H，*et al*. Transcriptomic and anatomic profiling reveal the germination process of different wheat varieties in response to waterlogging stress [J]. *BMC Genetics*，2020，21：93.

[6]KAUR G，VIKAL Y，KAUR L，*et al*. Elucidating the morpho-physiological adaptations and molecular responses under long-term waterlogging stress in maize through gene expression analysis [J]. *Plant Science*，2021，304：110823.

[7]SHARMIN R A，BHUIYAN M R，LV W H，*et al*. RNA-Seq based transcriptomic analysis revealed genes associated with seed-flooding tolerance in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. &Zucc.) [J]. *Environmental and Experimental Botany*，2020，171：103906.

[8]SAFAVI-RIZI V，HERDE M，STOHR C. RNA-Seq reveals novel genes and pathways associated with hypoxia duration and tolerance in tomato root [J]. *Scientific Reports*，2020，10：1692.

[9]李 桃，汪军成，姚立蓉，等. 大麦在网斑病菌侵染后的转录组学分析[J]. 麦类作物学报，2020，40(9)：1070.
LI T，WANG J C，YAO L R，*et al*. Transcriptomic analysis of barley (*Hordeum vulgare*) infected by *Pyrenophora teres* [J]. *Journal of Triticeae Crops*，2020，40(9)：1070.

[10]LIANG J J，CHEN X，DENG G B，*et al*. Dehydration induced transcriptomic responses in two Tibetan hulless barley(*Hordeum vulgare* var. nudum) accessions distinguished by drought tolerance [J]. *BMC Genomics*，2017，18：775.

[11]LUAN H Y，GUO B J，PAN Y H，*et al*. Morpho-anatomical and physiological responses to waterlogging stress in different barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes [J]. *Plant Growth Regulation*，2018，85(3)：399.

[12]MORTAZAVI A，WILLIAMS B A，MCCUE K，*et al*. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-seq [J]. *Nature Methods*，2008，5(7)：621.

[13]LIVAK K J，SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method [J]. *Methods*，2001，25(4)：402.

[14]SOUKUP A，ARMSTRONG W，SCHREIBER L，*et al*. Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration：A chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species，*Phragmites australis* and *Glyceria maxima* [J]. *New Phytologist*，2007，173(2)：264.

[15]姚启伦，霍仕平，张俊军. 玉米自交系响应高温、干旱胁迫的关键基因及通路[J]. 江苏农业学报，2021，37(1)：29.
YAO Q L，HUO S P，ZHANG J J. Key genes and pathways of maize inbred lines responding to heat and drought stress [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*，2021，37(1)：29.

[16]杨 平，胡 军，王玉成，等. 紫杆柽柳谷胱甘肽硫转移酶基因的克隆及功能鉴定[J]. 农业生物技术学报，2007，15(1)：76.
YANG P，HU J，WANG Y C，*et al*. Cloning and function characterization of glutathione S-transferase gene from *Tamarix androssowii* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*，2007，15(1)：76.

[17]JI W，ZHU Y，LI Y，*et al*. Over-expression of a glutathione S-transferase gene，*GsGST*，from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco [J]. *Biotechnology Letters*，2010，32(8)：1173.

[18]YU F，HAN X S，GENG C J，*et al*. Comparative proteomic analysis revealing the complex network associated with waterlogging stress in maize(*Zea mays* L.) seedling root cells [J]. *Proteomics*，2015，15：135.

[19]ZHANG J Y，HUANG S N，WANG G，*et al*. Overexpression of *Actinidia deliciosa* pyruvate decarboxylase 1 gene enhances waterlogging stress in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*，2016，106：244.

[20]TADEGE M，DUPUIS I，KUHLEMEIER C. Ethanolic fermentation，new functions for an old pathway [J]. *Trends in Plant Science*，1999，4(8)：320.