

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201510024

陈霞, 杨鹏军, 张旭强, 等. 转基因烟草在 PEG6000 模拟干旱胁迫条件下的生理响应发[J]. 广西植物, 2016, 36(12):1498-1504

CHEN X, YANG PJ, ZHANG XQ, et al. Physiological response of transgenic tobacco to drought stress simulated by PEG6000 [J]. Guihaia, 2016, 36(12):1498-1504

# 转基因烟草在 PEG6000 模拟干旱胁迫条件下的生理响应

陈霞, 杨鹏军, 张旭强, 杨宁

(西北师范大学 生命科学院, 兰州 730070)

**摘要:** 该研究以转高山离子芥的 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因烟草为材料, 研究了渗透调节物质和保护酶系对 PEG6000 溶液模拟干旱胁迫的响应机制。结果表明: 渗透调节物质脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白分别以各自不同的响应方式在干旱胁迫下增强转基因烟草的抗旱性, 且在所有浓度 PEG6000 模拟的干旱胁迫下, 转基因烟草的脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白的含量始终显著高于野生型烟草 ( $P < 0.05$ )。说明干旱胁迫下两种转基因烟草的渗透调节能力要强于野生型烟草。保护酶系中, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 在减轻干旱胁迫下转基因烟草膜脂过氧化伤害中起到协同互补作用, 而过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 在干旱胁迫下转基因烟草清除过氧化氢机制中发挥主要作用, 说明保护酶系在抵制干旱胁迫和保护转基因烟草免受干旱伤害方面具有重要的生物学功能, 这从生理角度揭示了高山离子芥 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  响应干旱的生理生态机理。综上, 高山离子芥 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因参与了干旱胁迫下烟草的膜稳定性调节、渗透调节物质的积累和抗氧化酶系的调控。该研究结果为提高植物抗旱性研究及应用提供了新的基因资源, 对于加强 PLD 功能研究、补充植物抗干旱理论及抗低温干旱育种种质资源的开发利用具有重要意义。

**关键词:** PEG6000 模拟干旱胁迫, *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$* , 渗透调节物质, 保护酶

**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)12-1498-08

## Physiological response of transgenic tobacco to drought stress simulated by PEG6000

CHEN Xia, YANG Pen-Jun, ZHANG Xu-Qiang, YANG Ning

(College of life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** *Chorispora bungeana* is a rare alpine subnival plant species, the extremely harsh living environment makes it become a new plant for study the responses of drought stress. In this study we used *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  transgenic tobacco plants as material to find the mechanism of plants response drought stress, and we also detected the osmolytes content and protective enzymes activity in *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  transgenic tobacco plants, using the ways of the drought stress simulated by PEG6000. The results showed that proline, soluble sugar and soluble protein involved in strengthening resistance of *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  transgenic tobacco to drought stress simulated by PEG6000, and in different concentrations of PEG6000 simulate drought stress, *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  transgenic tobacco proline, soluble sugar and soluble protein content were always significantly higher than that of wild type tobacco plants ( $P < 0.05$ ). This indicated that osmotic adjustment ability of drought stress in *CbPLD $\alpha$*  and *CbPLD $\beta$*  transgenic tobacco was stronger than the wild type tobacco plants.

收稿日期: 2015-10-19 修回日期: 2016-02-17

基金项目: 国家自然科学基金(31160087, 31360061) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160087, 31360061)].

作者简介: 陈霞 (1989-), 女, 甘肃兰州人, 硕士研究生, 主要从事植物分子细胞生物学研究, (E-mail) 1102729599@qq.com。

\*通讯作者: 杨宁, 博士, 教授, 主要从事植物分子细胞生物学研究, (E-mail) xbsd-yn@163.com。

In the protective enzymes, Superoxide dismutase(SOD) and Peroxidase (POD) have significant complementary effects on mitigating the injury of membrane lipid peroxidation of transgenic tobacco; Catalase (CAT) and Ascorbate peroxidase (APX) played major roles in the mechanism of removal of hydrogen peroxide. SOD, POD, CAT and APX had higher activity in *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  transgenic tobaccos than in wild tobacco plants ( $P < 0.05$ ). All of these results indicated that protective enzymes had important biological function in protecting transgenic tobacco from drought stress simulate by PEG6000. It partly revealed the physiological and ecological mechanisms of the *CbPLD $\alpha$* , *CbPLD $\beta$*  genes responding to drought environment in *C. bungeana*. The results showed that both *CbPLD $\alpha$*  and *CbPLD $\beta$*  transgenic tobaccos involved in the regulation pathway of membrane stability, osmotic adjustment and the regulation of anti-oxidative system. *CbPLD $\alpha$*  and *CbPLD $\beta$*  genes can provide powerful genetic resources for improving drought resistance of plants. The results strengthen the PLD for functional studies, supplementary plant resistance to drought stress and drought resistance theory breeding germplasm development and utilization, has important theoretical value and practical significance.

**Key words:** drought stress simulated by PEG6000, *CbPLD $\alpha$*  and *CbPLD $\beta$* , osmolytes, protective enzyme

干旱已成为导致世界粮食减产的重要因素之一,近几年统计数据表明,因干旱造成的损失在 15.6%~48.5%之间,严重影响农业生产的可持续发展。干旱胁迫会导致植物细胞膜发生不可逆的变化,细胞膜的透性被改变,导致大量内溶物流失,并且严重缺水会导致植物细胞器蛋白变性,影响植物的光合作用(锡林呼,2011)。干旱胁迫还会使植物体内产生大量的活性氧,如:羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )、超氧根阴离子( $\text{O}_2\cdot^-$ )、过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )等(杜秀敏等,2001),逆境胁迫破坏了植物体内活性氧产生与清除的动态平衡,从而导致植物细胞膜脂过氧化产物增加,破坏细胞膜的完整性和通透性(Sreenivasulu et al,2000)。

高山离子芥(*Chorispora bungeana*)是一种高抗逆的多年生高山草本植物,具有特殊的分子及生理抗逆响应机制。Yang et al(2012, 2015)以高山冰缘植物中的高山离子芥为材料,克隆了高山离子芥的磷脂酶 D 基因,对高山离子芥的磷脂酶 D 基因在低温胁迫下的响应机制进行研究,结果表明高山离子芥的磷脂酶 D 基因在抵御逆境胁迫中发挥了重要作用。磷脂酶 D(phospholipase D, PLD)普遍存在于生物体中,PLD 基因可以被逆境条件,如:干旱、渗透胁迫、低温、机械损伤、病原菌刺激等因素迅速激活,从而引起细胞内 PLD 活性的增加(Lee et al,1997)。PLD 各个家族成员具有不同的功能,磷脂酶类编码基因是参与植物胁迫应答的重要基因之一。本实验室已成功构建了高山离子芥的 *CbPLD $\alpha$*  (GenBank 登录号为 KF248008), *CbPLD $\beta$*  (GenBank 登录号为 HM756247) 基因的植物表达载体(杨宁等,2014),使之在野生型烟草中正常表达后,获得转 *CbPLD $\alpha$*

和 *CbPLD $\beta$*  基因烟草。本研究以转 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因烟草和野生型烟草为材料,在 PEG6000 模拟的干旱胁迫条件下,对烟草叶片的渗透调节物质和保护酶活性变化进行测定,检测 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因是否参与了烟草抵御干旱胁迫的机制,为作物的抗旱育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料的培养

对转 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因的烟草和野生型(CK)烟草种子进行精选和表面消毒后,种植到 MS 培养基上,转基因烟草种子用 Kan 进行培养筛选,CK 种子置于不含 Kan 培养基上,培养温度 25 °C,光照 16 h · d<sup>-1</sup> 培养,待种子萌发至 2 cm 时移植到无菌生根培养瓶中培养 20 d。

### 1.2 材料处理

选择大小一致、长势旺盛的转基因烟草幼苗接种于 150 mL 广口三角瓶中,分别在广口三角瓶中倒入含琼脂的 MS 培养基各 25 mL,用于固定幼苗,再向每个广口瓶加入含 10%、15%、20%、30% 的 PEG6000 的 MS 液 25 mL,进行干旱胁迫处理 6 d。在同样条件下以不添加 PEG6000 的试管苗为对照组。收集处理过的烟草叶片进行实验测定。

### 1.3 实验方法

电解质渗透率(REC)测定参照 Amako et al (1994)方法,可溶性蛋白(SP)测定参照考马斯亮蓝 G-250 法(杨颖丽等,2004),可溶性糖(SS)含量测定采用苯酚比色法(王晶英等,2003)。游离脯氨酸(Pro)测定采用磺基水杨酸法(Bates, 1973)。丙二

醛 (MDA) 含量测定采用硫代巴比妥酸法 (张志良和瞿伟菁, 2003), CAT 活性、SOD 活性和 POD 活性测定参照 Shah et al (2001) 的方法, APX 活性测定参照 Asada (1984) 的方法。

#### 1.4 数据分析

所有数据利用 SPSS17.0 软件进行分析, 采用 Excel 2003 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对转基因烟草叶片膜系统伤害程度指标的测定

#### 2.1.1 对转基因烟草叶片相对电导率的影响 干旱胁迫

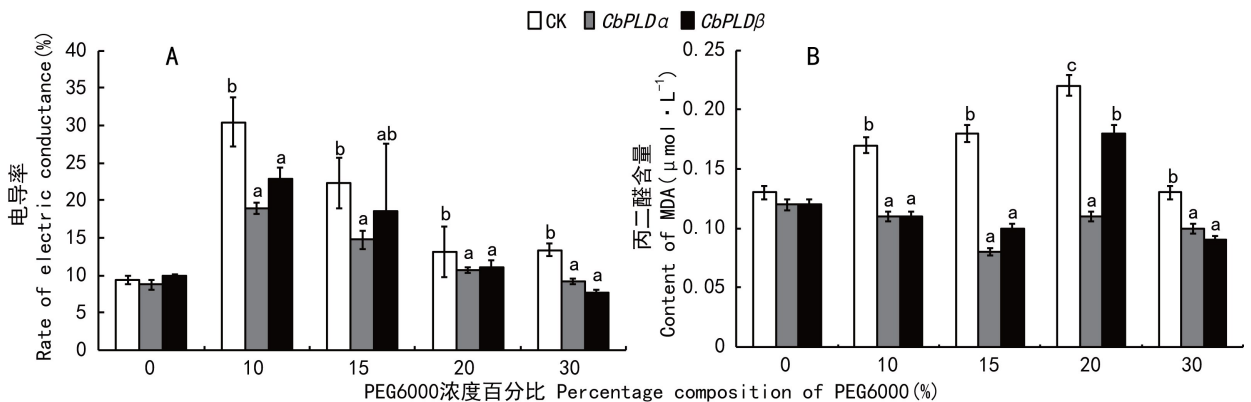


图 1 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草叶片电导率 (A)、MDA 含量 (B) 的影响

Fig. 1 Effects of drought stress on Rate of electric conductance (REC) (A), MDA content (B) of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

从图 1:B 可以看出, 干旱处理后, CK 组烟草叶片的 MDA 含量始终显著高于转基因烟草叶片的 MDA 含量, 且 20% PEG6000 胁迫时, CK 烟草叶片的 MDA 含量达到最大值, 此时, CK 烟草叶片的 MDA 含量分别是转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草叶片的 2 倍和 1.2 倍。PEG6000 模拟干旱胁迫对转基因烟草和野生型烟草叶片电导率和 MDA 含量的影响表明, 转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草在抵御干旱胁迫方面处于优势。

### 2.2 干旱胁迫对转基因烟草叶片渗透调节物质含量的测定

2.2.1 对转基因烟草叶片游离脯氨酸 (Pro) 含量的影响 Pro 在保护植物渗透调节方面起到重要的作用。逆境条件下, 如干旱、低温、高温、冰冻、盐渍等

胁迫通常会导致植物细胞膜损伤, 表现在细胞膜的电导率增加和膜脂过氧化程度的增加。本研究分别测定了正常生长条件下和干旱处理第 6 天植株的叶片细胞电导率和丙二醛的含量。在正常生长条件下, CK 和转基因烟草的电导率差别不大, 在 8.7~9.96 之间。干旱处理 6 d 后, 随着 PEG6000 浓度的增大, 烟草植株的电导率呈下降趋势, 但转基因烟草叶片的电导率下降幅度显著低于 ( $P < 0.05$ ) CK 烟草叶片的电导率, 且 10% PEG6000 处理后, CK 组叶片的电导率相较于转基因烟草达到最大, 是转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草叶片的 1.6 倍及 1.3 倍 (图 1:A)。

2.1.2 对转基因烟草叶片 MDA 含量的影响 丙二醛 (MDA) 是表示植物膜脂氧化伤害程度的指标之一。

都会造成植物体内 Pro 含量的积累, 并且积累的量与植物的抗逆性密切相关。因此, Pro 常用来作为植物抗性的一项生理指标。如图 2 所示, 转基因烟草的 Pro 含量随着 PEG6000 胁迫强度呈现增加趋势, 且转 *CbPLDα* 基因烟草和转 *CbPLDβ* 基因烟草的脯氨酸含量均在 30% PEG6000 胁迫时达到最大, 此时转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草的脯氨酸含量分别是野生型的 1.3 倍及 1.2 倍。

2.2.2 对转基因烟草叶片可溶性糖含量的影响 在干旱胁迫条件下, 要维持植物正常生长, 就需要积累大量的可溶性糖来维持植物细胞膜的稳定性和完整性。如图 3 所示, 经一定强度的干旱处理后转基因烟草和野生型烟草的可溶性糖含量呈现先升后降再升的趋势, 且在 30% PEG6000 胁迫时可溶性糖含量

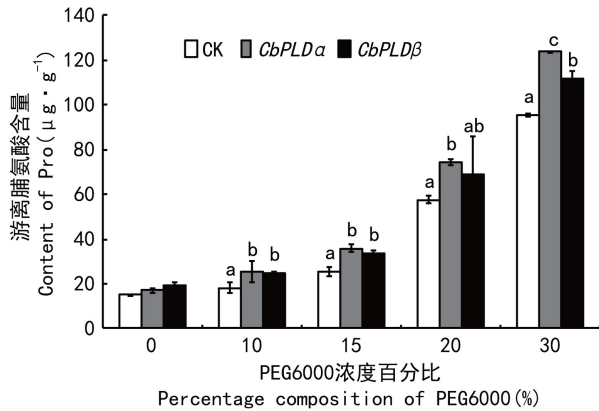


图 2 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草游离脯氨酸含量的影响

Fig. 2 Effects of drought stress on Pro content of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

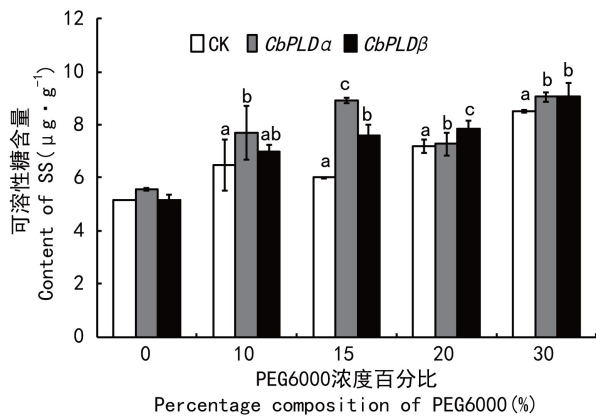


图 3 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草叶片可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effects of drought stress on SS content of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

达到最大,此时,转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草的可溶性糖含量分别是野生型的 1.20 倍及 1.21 倍。

### 2.2.3 对转基因烟草叶片可溶性蛋白含量的影响

植物可溶性蛋白的含量与调节植物细胞渗透势有关,越高含量的可溶性蛋白能够使植物维持较低的渗透势,从而帮助植物抵抗干旱带来的胁迫。如图 4 所示,随着 PEG6000 胁迫强度的增加,转基因烟草的可溶性蛋白含量呈现先升后降再升的趋势,且 10% PEG6000 胁迫时,转基因烟草的可溶性蛋白含量达到最大值,此时,转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草的可溶性蛋白含量分别是野生型的 1.62 和 1.52 倍。

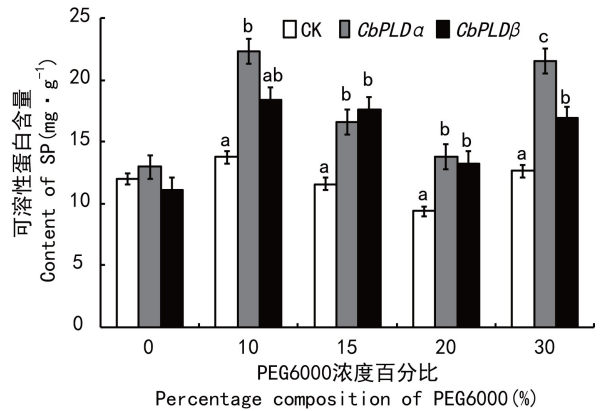


图 4 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 Effects of drought stress on SP content of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

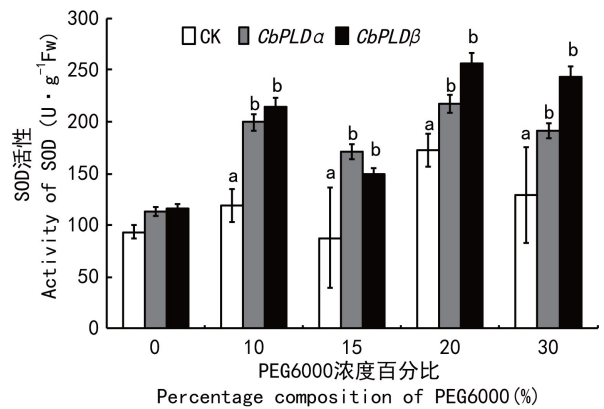


图 5 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草叶片 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effects of drought stress on SOD activity of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

## 2.3 干旱胁迫下转基因烟草叶片抗氧化酶系的测定

### 2.3.1 对转基因烟草叶片 SOD 活性和 POD 活性的影响

干旱胁迫下,植物细胞内会产生大量的活性氧 (ROS),导致植物生长受到抑制。图 5 中,随着 PEG6000 胁迫强度的增加,烟草的 SOD 活性呈波动性变化,且在此变化过程中野生型烟草的 SOD 活性下降幅度显著大于转基因烟草的 SOD 活性 ( $P < 0.05$ )。当受到 20% PEG6000 胁迫时,转 *CbPLDα* 和 *CbPLDβ* 基因烟草的 SOD 活性增加到最大值,分别是野生型烟草的 1.3 倍及 1.51 倍,30% PEG6000 胁迫下转基因烟草和野生型烟草的 SOD 活性较之



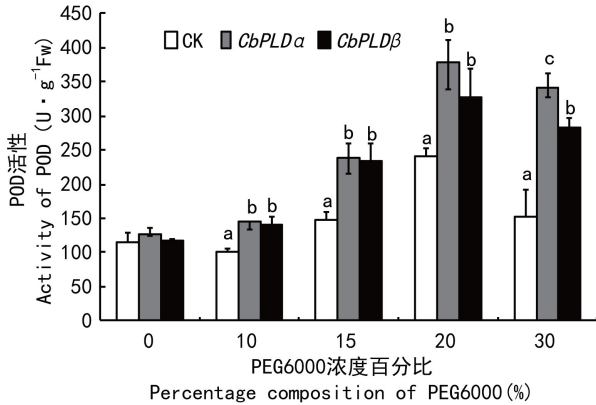


图6 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草 POD 活性的影响

Fig. 6 Effects of drought stress on POD activity of *CbPLDα*、*CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

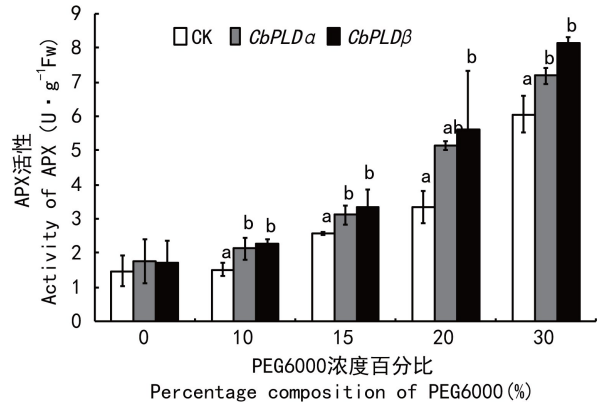


图8 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草 APX 活性的影响

Fig. 8 Effects of drought stress on APX activity of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

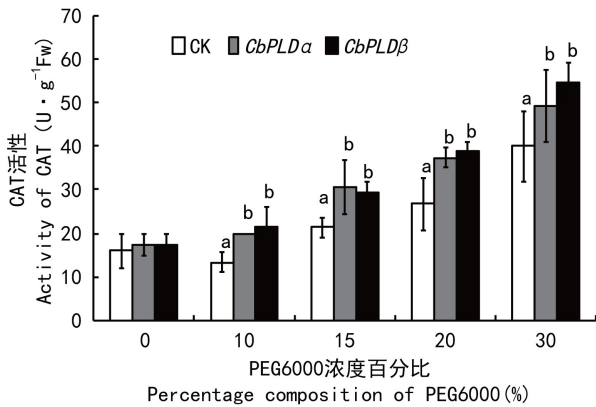


图7 干旱胁迫对转 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因烟草 CAT 活性的影响

Fig. 7 Effects of drought stress on CAT activity of *CbPLDα* and *CbPLDβ* transgenic tobacco leaves

低质量分数的 PEG6000 胁迫呈现下降趋势,但野生型烟草的 SOD 活性的下降幅度大于转基因烟草。而转基因烟草植株的 POD 活性呈现先升后降的趋势,在 20% PEG6000 胁迫下,转基因烟草的 POD 活性达到最大值,且两种转基因烟草的 POD 活性分别是野生型烟草的 1.6 倍和 1.4 倍,30%PEG6000 胁迫下烟草的 POD 活性较之 20%PEG6000 胁迫有所下降,且野生型烟草 POD 活性的下降幅度高于转基因烟草的 POD 活性变化(图 6)。

2.3.2 对转基因烟草 CAT 及 APX 活性的影响 CAT 和 APX 是植物体内清除自由基的关键酶。它们能

将逆境条件下植物细胞中生成  $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  和其他的活性氧清除。植物的抗逆性与 CAT 和 APX 活性有关,植物对逆境条件的适应可以用 CAT 和 APX 等酶活性来评价。如图 7-8 所示,烟草 CAT 和 APX 的活性随着胁迫浓度的增加均呈现逐渐上升趋势,且均在 30% PEG6000 胁迫时达到最大酶活性,此时,两种转基因烟草的 CAT 活性分别是野生型烟草的 1.23 倍及 1.37,而二者的 APX 活性分别是野生型的 1.2 倍及 1.34 倍。在不同浓度 PEG6000 模拟的干旱胁迫下转基因烟草的 CAT、APX 活性始终显著高于 ( $P < 0.05$ ) 野生型烟草。

### 3 讨论

#### 3.1 PEG6000 模拟干旱胁迫下转基因烟草叶片细胞中膜脂过氧化程度的变化

在逆境条件下植物细胞内的氧化还原水平失衡,导致植物细胞膜遭到破坏。相对电导率的变化能够反映细胞膜的伤害程度,本研究随着 PEG6000 胁迫强度的增加,转基因烟草的相对电导率始终低于野生型烟草,在一定程度上维持了细胞膜的透性,减少了细胞内可溶性物质的外渗,降低了植物细胞内外的水势差,增强了耐旱性,这与张芳(2010)对烟草的遗传转化及抗旱性检测中,干旱胁迫 6 d 后转白沙蒿铁蛋白基因烟草的相对电导率显著低于野生型烟草一致,表明高山离子芥的 *CbPLDα*、*CbPLDβ* 基因参与维持了转基因烟草细胞膜完整性,提高了

转基因烟草的抗旱能力。MDA 是植物细胞内氧化还原水平被打破的直接证据之一。MDA 含量的高低反映了植物所处逆境环境的强弱,其增加速度也能反映植物在逆境中的生存时间长短(徐秀梅等,2014)。吴茜等(2015)发现超表达拟南芥 2-烯醛还原酶基因显著降低了烟草在干旱胁迫下的 MDA 含量,保护了烟草细胞膜的完整性。本研究中,随着 PEG6000 质量分数的增大,转基因烟草的 MDA 较之正常条件有明显增加,但在 PEG6000 处理下转基因烟草 MDA 的增加幅度始终小于野生型烟草,即 PEG6000 模拟的干旱胁迫对转基因烟草的损害程度低于野生型烟草。

### 3.2 PEG6000 模拟干旱胁迫下转基因烟草叶片渗透调节物质含量的变化

渗透调节直接反映了是植物对干旱胁迫的适应能力(张海燕等,1998)。大多植物遭受逆境胁迫后体内会累积脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等物质,它们对细胞的渗透调节起重要作用(李悦等,2011)。植物中脯氨酸的累积与其逆境抗性呈正相关(Lutts et al., 1996)。郭利娜等(2013)发现 *cyFBPase* 基因过表达提高了干旱胁迫下烟草的可溶性糖含量。本研究也发现,干旱胁迫可提高转基因烟草叶片脯氨酸和可溶性糖的含量。本研究中,随着胁迫强度的增加转基因烟草的脯氨酸含量呈现上升趋势,可溶性糖的含量呈现先升后降的趋势,且在此过程中转基因烟草的脯氨酸和可溶性蛋白的含量始终高于野生型烟草,表明高山离子芥 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  提高了转基因烟草的渗透调节能力,增强了转基因烟草的抗旱性。

在逆境条件下,植物体为适应逆境环境,维持自身细胞膜的完整,会通过积累蛋白或产生新蛋白的方法,来保护植物体不受逆境伤害(方志红和董宽虎,2010;魏爱丽等,1997)。本研究中,转基因烟草的可溶性糖随着胁迫强度的增加呈现逐渐上升趋势,且在上升过程中转基因烟草的可溶性蛋白含量始终高于野生型烟草的蛋白含量。这与张执金(2007)在 ERF 蛋白 TERF1 调控烟草乙烯生物合成并提高渗透胁迫耐性的分子机理中转基因烟草在渗透胁迫下可溶性蛋白含量的升高是一致的。表明转 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  参与了烟草的抗旱机制。

### 3.3 PEG6000 模拟干旱胁迫下转基因烟草叶片保护酶活性的变化

#### 3.3.1 PEG6000 模拟干旱胁迫下转基因烟草叶片

SOD、POD 活性的变化 在非逆境环境中,植物体内氧化还原反应处于相对平衡,逆境胁迫打破了这种平衡,导致细胞中大量积累活性氧和自由基(曾韶西和王以柔,1990)。当植物体内的平衡状态被打破后,植物细胞膜的完整性和透性就会被破坏,细胞内的一系列反应就不能正常发生,植物的正常生长就会受到抑制(艾立江·麦麦提等,2008)。植物体内的 SOD、POD 等抗氧化物酶可以减轻活性氧对植物细胞的毒害作用,增强植物在逆境条件下的生长能力(李丽华等,2007)。保护酶系统中 SOD、POD、CAT、APX 等酶类是细胞清除超氧自由基、过氧化物等活性氧的重要酶类,在抵御活性氧方面起着重要作用。

本研究中,当转基因烟草受到不同强度的 PEG6000 模拟的干旱胁迫后 SOD 活性发生了变化,但在整个胁迫过程中,由于转入了高山离子芥的 *CbPLD $\alpha$*  和 *CbPLD $\beta$*  基因烟草的抗旱性被显著提高,这与王娟(2007)转 *ZmPIS* 基因及聚合 *betA/TsVP* 基因提高棉花耐受性中转基因棉花的 SOD 活性的升高的结果一致。而本研究转基因烟草的 POD 活性在 15% PEG6000 胁迫下才显著升高,表明转基因烟草 POD 活性对干旱胁迫的响应要滞后于 SOD,但随着胁迫强度的增加转基因烟草 POD 活性的增幅始终高于野生型烟草。

#### 3.3.2 PEG6000 模拟干旱胁迫下转基因烟草叶片

CAT、APX 活性的变化 在非逆境条件下,植物可以正常生长依靠的是植物自身的调节能力,维持自身的氧化还原水平处于可调节的阈值之内,但随着逆境环境的加重,植物细胞的自我调节能力不能维持自身的正常生长,氧化和还原水平的平衡被打破就会使植物遭受生存威胁。本研究对 CAT 和 APX 响应干旱胁迫结果表明,CAT 和 APX 均积极参与了转基因烟草对 PEG6000 模拟干旱胁迫的响应,并随胁迫强度的增加转基因烟草 CAT 和 APX 活性呈现上升趋势,CAT 和 APX 活性的升高可能是由于干旱胁迫使得活性氧不断累积,诱导机体产生较多的 CAT 和 APX,以保护自身免受伤害。郭慧娜(2007)以转枣树 *Zj-CP* 基因的拟南芥为材料,研究发现干旱胁迫能增强 CAT 和 APX 的活性,降低活性氧对转基因拟南芥的氧化损伤。杨晓健(2014)的研究表明,转拟南芥 *VKOR* 基因的番茄在干旱胁迫下 CAT 和 APX 的活性均升高,显著降低了番茄植株内 ROS 的积累量,提高了转基因番茄植株抵抗干旱胁迫的能

力。本研究表明,高山离子芥 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因参与了烟草抵抗干旱胁迫的机制,提高了转 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因烟草的抗旱性能。

综上所述,高山离子芥的 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因的转入提高了烟草在干旱胁迫下的抗氧化酶活性,增强了渗透调节物质对烟草细胞膜的保护能力,从而提高了转基因烟草植株干旱胁迫的耐受性,表明高山离子芥的 *CbPLD $\alpha$* 、*CbPLD $\beta$*  基因不仅响应低温胁迫(杨宁等,2014),而且在烟草抵御干旱的过程中发挥了重要作用。

## 参考文献:

AMAKO K, CHEN GX, ASADA K, 1994. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isoforms of ascorbate peroxidase in plants [J]. *Plants Cell Physiol*, 35(3): 497-504.

ASADA K, 1984. Formation of active oxygen and its scavenging [J]. *Meth Enzymol*, 105: 422-429.

BATES LS, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies [J]. *Plant Soil*, 39(1): 205-207.

DU XM, YING WX, ZHAO YX, 2001. The production and scavenging of reactive oxygen species in plants [J]. *Chin J Biotechnol*, 17(2): 121-125. [杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 2001. 植物中活性氧的产生及清除机制 [J]. *生物工程学报*, 17(2): 121-125.]

FANG ZH, DONG KH, 2010. Effects of NaCl stress on soluble protein contents and soluble carbohydrate contents of *Artemisia cnethifolia* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 26(16): 147-149. [方志红, 董宽虎, 2010. NaCl 对碱蒿可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响 [J]. *中国农学通报*, 26(16): 147-149.]

GUO HN, 2013. *Jujube Zj2-CP* gene plant expression vector construction and functional verification [D]. Taiyuan: Shanxi University. [郭慧娜, 2013. 枣树 Zj2-CP 基因植物表达载体构建与功能验证 [D]. 太原: 山西大学.]

GUO LN, ZHANG R, SUN GQ, et al, 2013. Overexpression of *cyFBP* gene can enhance the drought tolerance of transgenic tobacco [J]. *Biotechnol Bull*, 11(06): 63-68. [郭利娜, 张锐, 孙国清, 等, 2013. *cyFBP* 基因过表达提高转基因烟草的抗旱性 [J]. *生物技术通报* 2013, 11(06): 63-68.]

AI LJMMT, QI MYNSG L, 2008. Effects of NaCl stress on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in *Elaeagnus oxycarpa* [J]. *J Friut Sci*, 25(4): 531-536. [艾立江·麦麦提, 齐曼·尤努斯, 公勤, 2008. NaCl 胁迫对尖果沙枣实生苗膜脂过氧化与抗氧化酶系的影响 [J]. *果树学报*, 25(4): 531-536.]

LI LH, 2007. Discussion on drought tolerance analysis of transgenic tobacco *galE* gene and its possible mechanism [D]. Jinan: Shandong University. [李丽华, 2007. 转 *galE* 基因烟草的耐旱性分析及其可能的机理的探讨 [D]. 济南: 山东大学.]

LUTTIS S, KINET J, 1996. Bouharmont J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance [J]. *Plant Growth Regul*, 19(3): 207-218.

LIU SP, 2006. Simulated drought stress on antioxidant system jujube seedlings and osmotic adjustment [J]. *Acta Bot Boreal-*

*Occident Sin*, 9(10): 26-29. [刘世鹏, 2006. 模拟干旱胁迫对枣树幼苗的抗氧化系统和渗透调节的影响 [J]. *西北植物学报*, 9(10): 26-29.]

LEE S, SUH S, KIM S, et al, 1997. Systemic elevation of phosphatidic acid and lysophospholipid levels in wounded plants [J]. *Plant J*, (12): 547-556.

LI Y, CHEN ZL, WANG J, et al, 2011. Effects of salt stress on *Suaeda heteroptea* Kitagawa growth and osmosis-regulating substance concentration [J]. *Chin J Ecol* (生态学杂志), 30(1): 72-76. [李悦, 陈忠林, 王杰, 等, 2011. 盐胁迫对翅碱蓬生长和渗透调节物质浓度的影响 [J]. *生态学杂志*, 30(1): 72-76.]

SHAH K, KUMAR RG, VERMA S, et al, 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings [J]. *Plant Sci*, 161(6): 135-144.

SREENIVASULU N, GRIMM B, WOBUS U, et al, 2000. Different response of antioxidant compounds to salinity in salt-tolerant and salt sensitive seeding of foxtail millet [J]. *Physiol Plant*, 109(4): 435-442.

WEI AL, YANG C, CHEN YZ, 1997. The study of soybean callus small true page change soluble protein content under salt stress [J]. *J Shanxi Agric Univ*, 17(4): 318-321. [魏爱丽, 杨臣, 陈云昭, 1997. 盐胁迫下大豆小真叶愈伤组织可溶性蛋白含量变化的研究 [J]. *山西农业大学学报*, 17(4): 318-321.]

WANG J, 2007. The study of enhancement of drought tolerance in cotton by transgene of *ZmPIS* and transgene pyramiding of *betA/TsVP* [D]. Jinan: Shandong University. [王娟, 2007. 转 *ZmPIS* 基因及聚合 *betA/TsVP* 基因提高棉花耐受性 [D]. 济南: 山东大学.]

WANG JY, AO H, ZHANG J, et al, 2003. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiment [M]. Haerbing: Northeast Forestry University Press: 12-13. [王晶英, 敖红, 张杰, 等, 2003. 植物生理生化实验技术与原理 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社: 12-13.]

WU Q, WANG SW, CAO D, et al, 2015. Influence of overexpression of 2-alkenal reductase gene on drought resistance in tobacco [J]. *Acta Bot Boreal-Occidental Sin*, 35(6): 166-172. [吴茜, 王世稳, 曹丹, 等, 2015. 超表达拟南芥 2-烯醛还原酶基因对烟草抗旱性的作用机理分析 [J]. *西北植物学报*, 35(6): 166-172.]

XI LH, 2011. The analysis of turn *Lea-bZIP* bivalent transgenic tobacco drought and salt tolerance [D]. Harbin: Northeast Forestry University. [锡林呼, 2011. 转 *Lea-bZIP* 双价基因烟草抗旱、耐盐性分析 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学.]

XU XM, ZHANG XH, WANG HJ, 2004. Physiological property in drought resistance of *Atriplex canescens* [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, (5): 54-58. [徐秀梅, 张新华, 王汉杰, 2004. 四翅滨藜抗旱生理特性研究 [J]. *南京林业大学学报*, (5): 54-58.]

YANG N, DING FX, WU GF, et al, 2015. Phospholipase D $\alpha$  from *Chorispora bungeana*: cloning and partial function characterization [J]. *Plant Growth Regul*, 75(2): 511-520.

YANG N, DING FX, WANG CL, et al, 2014. Effects of low temperature stress osmotic and protective enzyme system in *Chorispora bungeana* plantlets in vitro [J]. *J Sichuan Univ (Nat Sci)* (下转第 1467 页 Continue on page 1467)