



## 转 *OvDREB2B* 基因陆地棉鉴定 及其对水分渗透胁迫的分析

沈海涛<sup>1,2</sup>, 冯玉杰<sup>1,2</sup>, 王爱英<sup>1,2</sup>, 李予霞<sup>1</sup>, 胡鸢雷<sup>3</sup>, 祝建波<sup>1,2\*</sup>

(1 石河子大学 生命科学学院, 新疆石河子 832003; 2 石河子大学 农业生物技术重点实验室, 新疆石河子 832003; 3 北京大学 生命科学学院, 北京 100871)

**摘要:** 通过花粉管通道技术, 以该实验室自育陆地棉品系 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub> 为材料, 将诸葛菜(*Orychophragmus vidaceus*) 抗逆转录因子 *OvDREB2B* 基因构建到植物表达载体后, 导入棉花基因组, 经卡那霉素筛选和分子鉴定表明目的基因已整合到棉花基因组中并表达。将 T<sub>1</sub> 代转基因植株和受体对照在温室中栽培, 待植株生长至四叶一心时, 用不同渗透势的 PEG-6000 水溶液进行渗透胁迫处理, 分析探讨转基因植株的抗旱效果及其抗旱机理。结果显示: 当渗透势为 0 和 0.5 MPa 处理时, 转基因植株和对照无明显差异; 当渗透势为 0.8 MPa 和 1.1 MPa 处理时转基因植株较对照抗旱性明显提高。当渗透势为 1.1 MPa 处理 96 h 时, 对照植株  $F_v/F_m$  降至 0.2 左右, 而转基因植株仍正常生长,  $F_v/F_m$  值约为 0.51, 而且初始荧光( $F_0$ )值、净光合速率( $P_n$ )、胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )、蒸腾速率( $T_r$ )等一系列参数转基因植株都明显优于对照, 表明 *DREB2B* 基因能够提高棉花对水分胁迫的耐受性。

**关键词:** 二月兰; *OvDREB2B*; 棉花; 抗旱; PEG-6000

**中图分类号:** Q789; Q945.78

**文献标志码:** A

## Identify and Analysis of Transgenic Upland Cotton with *OvDREB2B* Gene under Osmotic Stress

SHEN Haitao<sup>1,2</sup>, FENG Yujie<sup>1,2</sup>, WANG Aiyong<sup>1,2</sup>, LI Yuxia<sup>1</sup>, HU Yuanlei<sup>3</sup>, ZHU Jianbo<sup>1,2\*</sup>

(1 College of Life Sciences of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2 Key Agriculture Biotechnology of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 3 Life Sciences College, Peking University, Beijing 100871, China)

**Abstract:** In this study, two upland cotton lines TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub> were employed. The anti-retroelement *OVDREB2B* in *Orychophragmus vidaceus* was integrated into plant expression vector and the transformation of cotton was conducted by pollen-tube pathway. The results of Kanamycin selection and molecular analysis showed that the transgenic cotton lines with *OvDREB2B* were obtained. T<sub>1</sub> and receptor plants were grown in greenhouse and treated by a serial of PEG-6000 osmotic potential at seedling stage. The results indicated that the obvious difference induced by different osmotic potential (0 and 0.5 MPa) was not observed in transgenic lines and control plants. However, the transgenic lines exposed to higher osmotic potential (0.8 and 1.1 MPa) displayed a significantly better resistance to drought. Meanwhile, the transgenic plants showed the significantly higher initial fluorescence, net photosynthetic rate, intercellular  $CO_2$  concentration and transpiration rate than did the control plants under 1.1 MPa condition for 96 h. Based on this fact, *DREB2B* gene resulted in the development of transgenic lines resistant to drought stress.

收稿日期: 2013-04-16; 修改稿收到日期: 2013-11-27

基金项目: 国家转基因专项(2011zx08011-002); 兵团青年科技创新资金专项(2013cb010)

作者简介: 沈海涛(1980—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物基因工程研究。E-mail: ghost521@126.com

\* 通信作者: 祝建波, 研究员, 主要从事植物基因工程研究。E-mail: 274831213@qq.com

**Key words:** *Orychophragmus vidaceus*; *OVDREB2B*; *Gossypium hirsutum*; drought resistance; PEG-6000

*DREB* 类转录因子是植物所特有的一类在非生物逆境胁迫应答中起重要作用的蛋白分子。此类转录因子含有一个由 58 个氨基酸组成的 AP2/EREBP 保守结构域,该结构域能与耐逆基因启动子中的 DRE/CRT 顺式原件特异结合,启动基因表达,因而 *DREB* 转录因子被认为可能与植物对干旱、高盐和低温应答的基因调控有重要关系<sup>[1]</sup>。目前,已从拟南芥、水稻、玉米、小麦、黑麦、大豆、西红柿和油菜等几十种植物中分离并鉴定出调控干旱、高盐及低温耐性的 *DREB* 基因,并利用这些基因得到了抗逆性增强的拟南芥、油菜、西红柿、小麦以及杨树等转基因植株。转基因结果表明 *DREB* 转录因子家族在双子叶植物、单子叶植物、草本植物及木本植物抗逆品种改良中均具有重要的应用价值<sup>[2]</sup>。拟南芥中 *DREB* 类基因分为 *DREB1* 和 *DREB2* 两类,*DREB1* 类基因被低温胁迫诱导,但不被干旱和高盐胁迫诱导,而 *DREB2* 类基因可被干旱和高盐胁迫诱导,不被低温胁迫诱导<sup>[3]</sup>。Kazuo Nakashima 在拟南芥中利用拟南芥 *DREB2A* 和 *DREB2B* 启动子融合 *GUS* 基因在拟南芥中表达,发现干旱胁迫后 *DREB2A* 启动子驱动 *GUS* 表达量高于 *DREB2B*,说明 *DREB2A* 可能对提高植物干旱胁迫更有效<sup>[4]</sup>。然而, Matsukura 等利用启动子 *rd29A* 驱动水稻 *OsDREB2B* 和 *OsDREB2A* 转化拟南芥,转基因拟南芥经水分胁迫后 *OsDREB2B* 表达量显著增加<sup>[5]</sup>,而 *OsDREB2A* 未被检测到,这可能是拟南芥中基因转录后修饰系统与水稻不同,导致水稻的 *OsDREB2A* 在转化拟南芥后不能正常表达<sup>[6]</sup>。所以,外源 *DREB2B* 转化植株后受植株本身的转录后修饰导致基因沉默的风险可能小于 *DREB2A*。

植物在水分胁迫下,植物叶片荧光参数和光合速率是反映植物抗旱性的重要指标。植物受水分胁迫后,羧化反应相关酶的活性和中间产物的合成受到抑制,导致光合机构的光抑制,严重时还可引起光破坏<sup>[7-8]</sup>,干旱胁迫加重时放氧复合体 OEC 会受到损害,随之 PS II 活性降低会导致激发能的上升,活性氧自由基 ROS 浓度升高,伤害 PS II 与 PS I 之间的电子传递链以及 PS II 供、受体侧和反应中心,使活性氧代谢失调,破坏生物膜结构,最终引起光合作用下降<sup>[9-10]</sup>。所以,植物在水分胁迫下测定光合参数和荧光参数是反映植物抗旱性的重要指标。本研

究将来源于耐旱、耐寒的诸葛菜(*Orychophragmus vidaceus*)的转录因子基因 *OvDREB2B* 导入新疆陆地棉品系 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub>,使其能够表达并稳定遗传。采用 PEG-6000 作为水分渗透胁迫剂处理转基因植株和对照植株,利用 Li-6400 和 Handy PEA 检测处理植株的光合及荧光各项指标,分析转 *OvDREB2B* 基因棉花抗旱性,以期为新疆陆地棉抗旱育种提供新材料,创造新种质资源。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

诸葛菜 *OvDREB2B* 基因由北京大学生命科学学院林忠平教授提供。转基因受体为本实验室自育陆地棉品系 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub>。大肠杆菌 TOP10、农杆菌 GV3101、植物表达载体 pCAMBIA-2300 由本实验室保存。*Taq* DNA 聚合酶、T<sub>4</sub> DNA 连接酶、限制性内切酶、DNA Marker、pGM-T 载体和 DNA 片段回收试剂盒均购自大连 TaKaRa 公司;大肠杆菌感受态细胞 TOP10 和反转录试剂盒购自天根物技术有限公司;基因序列测定由华大基因公司完成;卡那霉素、高纯度质粒大提试剂盒购自天根生化科技有限公司;其他化学试剂为国产分析纯产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 植物表达载体构建及鉴定** 根据 *OVDREB2B* 基因序列设计引物,上游引物 P<sub>1</sub> (5'-AATCTAGGC-CTCGAGCAGACG-3'),下游引物 P<sub>2</sub> (5'-TACAGTA-AGCGGCTCCGACG-3')。20 μL PCR 体系包含克隆载体质粒 DNA 2 μL、10 × buffer 2 μL、dNTP (25 mmol/L) 0.3 μL、MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 1 μL、上游引物 (20 mmol/L) 0.5 μL、下游引物 (20 mmol/L) 0.5 μL、*Taq* 酶 0.3 μL (2.5~5 U/μL)、ddH<sub>2</sub>O 13.4 μL。反应程序:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 30 s,30 个循环后延伸 7 min,琼脂糖凝胶电泳分离后,获得 690 bp 左右的 DNA 片段,回收目的片段。将回收的目的片段与克隆载体 pGM-T 连接,将连接产物转化 TOP10 感受态细胞。通过抗生素及 α 互补筛选,挑取阳性克隆,用 SDS 碱裂解法小量提取质粒,PCR 检测。利用 *EcoRI* 和 *BamHI* 双酶切克隆载体和植物表达载体 pCAMBIA-2300,并进行连接,获得植物表达载体 pCAMBIA-2300-*OvDREB2B* (图 1),利用电转化法将该载体转化农杆菌 GV3101,挑取阳性克隆进行 PCR 鉴定。

**1.2.2 花粉管通道法转化棉花** 花粉管通道法参照马盾等采用的方法<sup>[11]</sup>。在棉花植株开花受精后 12 h 内,将外源基因溶液涂抹在柱头上,或用微量注射器顺着花粉管通道注射进入卵细胞。

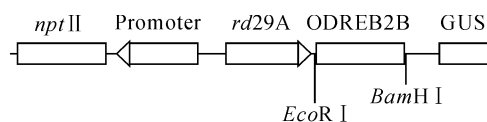


图 1 质粒 pCambia-2300-*OvDREB2B* 构建图

Fig. 1 Structure of plasmid pCambia-2300-*OvDREB2B*

**1.2.3 转基因棉花卡那霉素筛选** 将部分收获的棉花种子在石河子大学试验场进行田间种植,种植密度为 30 株/m<sup>2</sup>。待植株第二片真叶展开时进行第一次卡那霉素抗性筛选,检测浓度为 2 500 mg/L。1 周后观察检测结果,拔除卡那霉素检测呈阴性即叶片表面出现黄色斑点的植株,余下植株每隔 1 周重复上一次卡那霉素检测操作,连续 3 次,检测浓度依次为 3 000、5 000 和 7 000 mg/L。将 4 次卡那霉素检测呈阳性的植株挂牌标记。利用 PCR 和 RT-PCR 技术对卡那霉素检测阳性植株进行分子检测,分子检测为阴性植株去牌淘汰。

**1.2.4 分子检测** PCR 检测:取卡那霉素检测呈阳性的植株幼嫩叶片,参照 CTAB 法提取叶片总 DNA,用 *OvDREB2B* 基因特异性引物 P<sub>1</sub> 和 P<sub>2</sub> 进行 PCR 和 RT-PCR 检测。

**拷贝数检测:**随机选取一部分独立来源的经 PCR 验证的 T<sub>0</sub> 转基因植株和非转化对照植株大量提取基因组 DNA。取转基因植株 DNA,用 *Hind* III 酶切后,在 0.8% 琼脂糖凝胶上电泳分离,然后转移到 Hybond-N+ 尼龙膜上。根据 *OvDREB2B* 基因序列设计引物制备探针、PCR 扩增体系及程序见 1.2.1。分子杂交和信号检测采用 Amersham Pharmacia Biotech 公司生产的 ECL 试剂盒,方法依照操作手册。

**1.2.5 转基因棉花渗透胁迫处理** 用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液处理供试棉种 5 min,自来水冲洗干净后,置于 28 ℃ 培养箱催芽,选发芽程度一致的种子,播种于装有河沙的塑料盆中,在生长室内培养。幼苗出土后用 1/2 浓度 Hoagland 营养液浇灌。每天光照时间 14 h, Li-250A 光照计测得为 1 074 lx,昼夜温度 28 ℃/20 ℃。幼苗生长至四叶一心时,选取长势一致的转基因幼苗和受体对照,用 PEG-6000 配成 0 MPa(0 g/L)、0.5 MPa(193 g/L)、0.8 MPa(251 g/L)和 1.1 MPa(298 g/L)4 种不同水势的

1/2 浓度 Hoagland 溶液进行水分胁迫处理,每个处理 9 个重复。处理后 0、24、48 和 96 h 测定各处理植株倒四叶的光合参数和荧光特性。

**1.2.6 光合特性和荧光特性分析** 天气晴朗的正午 12:00~16:00,气温在 22 ℃~24 ℃ 之间,将待测植株从生长室移至室外,光适应 30 min,利用调整好的光合仪 Li-6400 进行相关光合参数的测定。将待测植株暗适应处理 20 min 后,用 Handy PEA 荧光测定仪(英国 Hansatech 公司)测定荧光特性。

**1.2.7 数据分析** 利用 SPSS 18.0 对实验数据进行单变量多因素曲线图分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 分子检测

利用特异性引物进行 PCR 扩增提取北京大学林忠平教授提供的 *OvDREB2B* 基因载体,连接克隆载体 pGM-T,转化感受态细胞 TOP<sub>10</sub> 并测序。将测序正确的目的基因连接到植物表达载体 pCambia-2300,通过花粉管通道技术将 *OvDREB2B* 基因导入本实验室自育陆地棉品系 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub>。后代植株经卡那霉素筛选获得转 *OvDREB2B* 基因的 TH<sub>1</sub> 植株 7 株和转 *OvDREB2B* 基因的 TH<sub>2</sub> 植株 6 株。用 CTAB 法提取 13 个转基因植株基因组 DNA,并进行 PCR 扩增。结果表明,转基因受体 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub> 各有 4 个转基因植株 (TH<sub>1</sub>-O<sub>1</sub>~TH<sub>1</sub>-O<sub>4</sub> 和 TH<sub>2</sub>-O<sub>1</sub>~TH<sub>2</sub>-O<sub>4</sub>) 与质粒对照 (pCambia-2301-*OvDREB2B*) 一致,在 690 bp 左右有目的条带(图 2)。选取其中 2 个农艺性状和产量性状较好的转基因株系 (TH<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> 和 TH<sub>2</sub>-O<sub>4</sub>) 为研究材料,在温室中进行种植,待

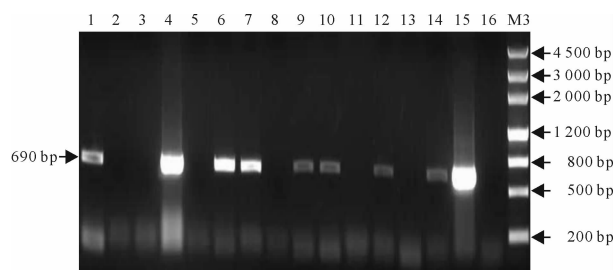


图 2 转 *OvDREB2B* 基因棉花 PCR 检测

M3. Marker III; 1~7. 转 *OvDREB2B* 基因 TH<sub>1</sub> 植株; 8. TH<sub>1</sub> 非转基因植株; 9~14. TH<sub>2</sub> 转 *OvDREB2B* 基因植株; 15. 质粒 pCambia-2300-*OvDREB2B*; 16. TH<sub>2</sub> 非转基因植株

Fig. 2 PCR test of transgenic cotton plants

M3. Marker III; 1~7. Transgenic *OvDREB2B* cotton TH<sub>1</sub>; 8. Cotton TH<sub>1</sub>; 9~14. Transgenic *OvDREB2B* cotton TH<sub>2</sub>; 15. Plasmid pCambia-2300-*OvDREB2B*; 16. Cotton TH<sub>2</sub>

植株生长至四叶一心时,提取顶部新叶总 RNA,进行 RT-PCR 检测鉴定(图 3),表明 *OvDREB2B* 基因在转基因植株中成功表达。利用 Southern 杂交技术对转基因植株拷贝数进行分析,结果显示,转基因株系 TH<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> 和 TH<sub>2</sub>-O<sub>4</sub> 各有 2 个杂交条带,说明 *OvDREB2B* 基因为双拷贝插入(图 4)。

## 2.2 PEG 胁迫下转 *OvDREB2B* 基因对棉花叶片最大光化学效率与初始荧光的变化

在不同浓度 PEG-6000 胁迫处理不同时间,棉花荧光动力学参数  $F_v/F_m$  影响线性关系,随着渗透势和处理时间的增加  $F_v/F_m$  值逐渐降低(图 5~6)。渗透势为 0 MPa 和 0.5 MPa 时,转基因植株与对照在处理不同时间的差异并不明显,为 0.6 左右;当渗透势为 0.8 MPa 和 1.1 MPa 胁迫 24 h,转基因株系荧光动力学参数下降幅度明显低于对照。渗透势 1.1 MPa 处理 96 h,对照植株已严重脱水萎蔫,  $F_v/F_m$  降至 0.2 左右,而转基因植株仍正常生长,  $F_v/F_m$  值为约 0.51,未出现脱水症状。

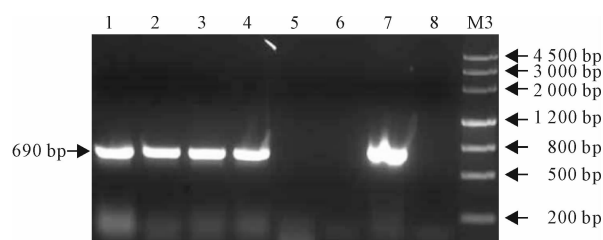


图 3 转 *ODREB2* 基因棉花 RT-PCR 检测

M3. Marker III; 1, 2. TH<sub>1</sub> 转 *OvDREB2B* 基因植株; 3, 4. TH<sub>2</sub> 转 *OvDREB2B* 基因植株; 5. TH<sub>1</sub> 非转基因植株; 6. TH<sub>2</sub> 非转基因植株; 7. 质粒 pCAMBIA-2300-*OvDREB2B*; 8. 空白质粒

Fig. 3 RT-PCR of transgenic cotton

M3. Marker III; 1, 2. Transgenic *OvDREB2B* cotton TH<sub>1</sub>; 3, 4. Transgenic *OvDREB2B* cotton TH<sub>2</sub>; 5. Cotton TH<sub>1</sub>; 6. Cotton TH<sub>2</sub>; 7. Plasmid pCAMBIA-2300-*OvDREB2B*; 8. Plasmid pCAMBIA-2300

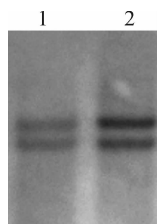


图 4 转 *OvDREB2* 基因棉花 Southern 检测

1. TH<sub>1</sub> 转 *OvDREB2B* 基因植株;  
2. TH<sub>2</sub> 转 *OvDREB2B* 基因植株转基因植株

Fig. 4 Southern blot of transgenic cotton

1. *OvDREB2B* transgenic cotton TH<sub>1</sub>;  
2. *OvDREB2B* transgenic cotton TH<sub>2</sub>

转基因植株受到 PEG-6000 胁迫后,  $F_0$  明显低于对照。对照植株 TH<sub>1</sub> 和 TH<sub>2</sub> 随渗透势和处理时间的增加,  $F_0$  也逐渐增大,增幅远远高于转基因植株,依次为 TH<sub>2</sub>-O<sub>4</sub> < TH<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> < TH<sub>1</sub> < TH<sub>2</sub> (图 7)。

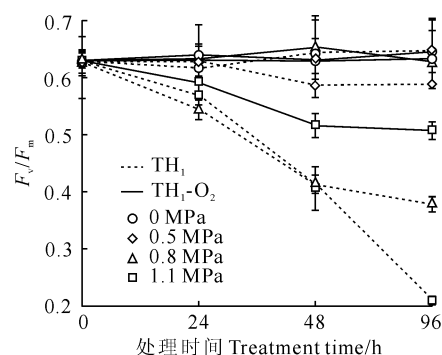


图 5 水分渗透胁迫对 TH<sub>1</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花 TH<sub>1</sub>-O<sub>2</sub> 的  $F_v/F_m$  的影响

Fig. 5 Effects of PEG-6000 stress on  $F_v/F_m$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>1</sub>

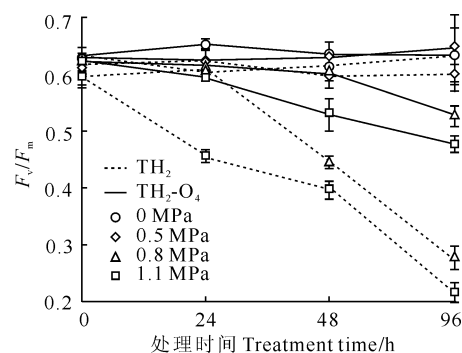


图 6 水分渗透胁迫对 TH<sub>2</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花 TH<sub>2</sub>-O<sub>4</sub> 的  $F_v/F_m$  影响

Fig. 6 Effects of PEG-6000 stress on  $F_v/F_m$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>2</sub>

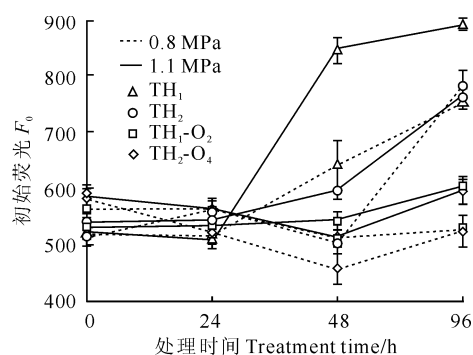


图 7 水分渗透胁迫对 TH<sub>1</sub>、TH<sub>2</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花  $F_0$  的影响

Fig. 7 Effect of PEG-6000 stress on  $F_0$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub>

## 2.3 PEG-6000 渗透胁迫对转 *OvDREB2B* 基因棉花叶片光合性能及蒸腾速率的影响

### 2.3.1 净光合速率 对照植株由于水分胁迫,光合速率随胁迫时间的延长逐渐降低,当渗透势为 0.8

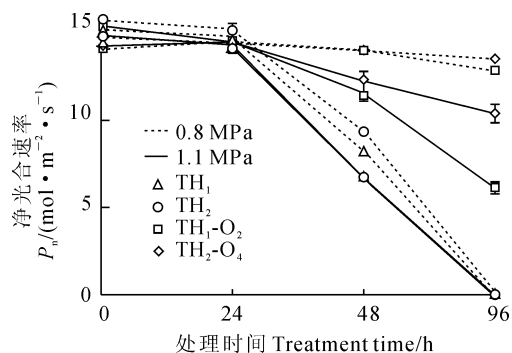


图 8 水分渗透胁迫对 TH<sub>1</sub>、TH<sub>2</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花  $P_n$  的影响

Fig. 8 Effect of PEG-6000 stress on  $P_n$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub>

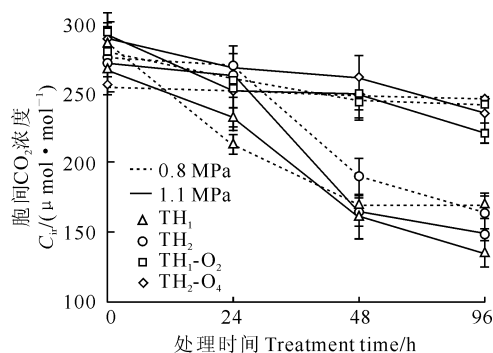


图 9 水分渗透胁迫对 TH<sub>1</sub>、TH<sub>2</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花  $C_i$  的影响

Fig. 9 Effect of PEG-6000 stress on  $C_i$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub>

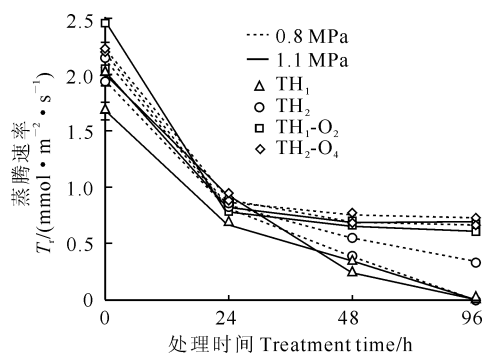


图 10 水分渗透胁迫对 TH<sub>1</sub>、TH<sub>2</sub> 以及转 *OvDREB2B* 基因棉花  $T_r$  的影响

Fig. 10 Effect of PEG-6000 stress on  $T_r$  of *OvDREB2B* transgenic cotton and TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub>

MPa 和 1.1 MPa 胁迫 96 h 后,  $P_n$  降低至 0。转基因植株  $P_n$  变化趋势与对照相似,但降低幅度明显小于对照,渗透势 1.1 MPa 胁迫转基因植株 96 h,转基因植株  $P_n$  仍维持在 5 以上(图 8)。

**2.3.2 胞间  $CO_2$  浓度** 经 0.8 MPa 和 1.1 MPa 水分渗透胁迫处理后,对照植株随胁迫时间的增加  $C_i$  呈逐渐降低趋势。说明对照植株短时间水分胁迫后气孔关闭,导致  $C_i$  降低,当处理 24 h 后,由于持续水分胁迫导致叶绿体受到损伤,PS II 系统受到破坏,  $C_i$  持续下降,处理 96 h 后,  $C_i$  达到 150 左右。转基因植株随胁迫时间的增加  $C_i$  一直呈缓慢下降趋势,下降速率明显小于对照,胁迫处理 96 h 后  $C_i$  处于 240 和 260 之间(图 9)。

**2.3.3 蒸腾速率** 转基因植株和对照经水分渗透胁迫处理后,  $T_r$  的变化趋势与  $P_n$  相似,都随渗透势的增大胁迫时间的增加而降低。对照植株  $T_r$  降低速率明显高于转基因植株,当渗透势为 1.1 MPa 处理对照植株 96 h 后,  $T_r$  降至 0,而转基因植株  $T_r$  仍为 0.75 左右(图 10)。

## 3 讨论

本研究利用 PEG-6000 对转 *OvDREB2B* 基因棉花植株及对照植株进行渗透胁迫处理,研究 *OvDREB2B* 基因提高棉花抗旱方面的功能。结果显示:转基因植株受水分渗透胁迫后荧光参数和光合参数明显优于对照植株。当植株受水分胁迫,初始荧光  $F_0$  显著上升,  $F_v/F_m$  陡然降低意味着干旱胁迫对棉花叶片光系统 II (PS II) 的活性中心产生伤害,破坏了对照植株 PS II 的反应中心和部分蛋白复合体的结构<sup>[12]</sup>,抑制光合作用的原初反应,这对光合速率的下降起着非常重要的影响。而且,植株受水分胁迫后导致气孔关闭,胞间  $CO_2$  浓度降低,蒸腾速率也随之降低,从而进一步影响植株的光合效率<sup>[13]</sup>。对照植株经渗透势 1.1 MPa 处理 96 h 后,光合速率几乎为 0,光合作用基本停滞,而转基因植株经渗透胁迫处理后,荧光参数和光合参数的各项指标变化明显小于对照,即使渗透势为 1.1 MPa 处理 96 h,转基因植株光合效率只降低 30%~50%。*OvDREB2B* 基因提高植物抗旱性的机理可能是由于在逆境胁迫下 *DREB2* 类基因不仅有转录因子的作用,而且可能还具有应急激活调节作用(如磷酸化酶)<sup>[3]</sup>。*DREB2B* 基因转录产物是植物受水分胁迫下激活 *rd29A* 和其他 *DRE/CRT* 调节的靶基因所必需<sup>[4]</sup>,从而提高植物对水分胁迫的耐受性。

*rd29A* 驱动 *DREB2B* 基因在转基因植株受水分胁迫后会在叶、根和茎中大量表达,脯氨酸、可溶性糖、甜菜碱等渗透调节物质明显增加<sup>[4,14-16]</sup>,从而减轻

在轻度或中度水分胁迫对植物叶肉细胞的伤害,降低水分胁迫对叶片 PS II 系统的伤害,维持正常的细胞代谢活动。

## 参考文献:

- [1] RIECHMANN J L, HEARD J, MARTIN G, *et al.* *Arabidopsis* transcription factors; Genome-wide comparative analysis among eukaryotes [J]. *Science*, 2000, **290**(5 499): 2 105—2 110.
- [2] CHEN J H(陈金焕), XIA X L(夏新莉), YIN W L(尹伟伦). Advances on plant *DREB* transcription factors and their genetic transformation[J]. *Molecular Plant Breeding* (分子植物育种), 2007, **5**(6): 29—35 (in Chinese).
- [3] LIU Q, ZHAO N M. Two transcription factors, *DREB1* and *DREB2*, with an *EREBP/AP2* DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1998, **10**(8): 1 391—1 406.
- [4] KAZUO NAKASHIMA, ZABTA K SHINWARI, YOH SAKUMA, *et al.* Organization and expression of two *Arabidopsis DREB2* genes encoding DRE-binding proteins involved in dehydration- and high-salinity-responsive gene expression [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, **42**(4): 657—665.
- [5] MATSUKURA S, MIZOI J, YOSHIDA T, *et al.* Comprehensive analysis of rice *DREB2*-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes [J]. *Mol. Genet Genomics*, 2010, **283**(2): 185—196.
- [6] DUBOUZET J G, SAKUMA Y, ITO Y, *et al.* *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression [J]. *Plant J.*, 2003, **33**(4): 751—776.
- [7] QUICK W P, CHAVES M M, WENDLER R, *et al.* The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions [J]. *Plant and Cell Environment*, 1992, **15**(1): 25—35.
- [8] LONG S P, HUMPHRIES S, FALKOWSKI P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature [J]. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1994, **45**: 633—662.
- [9] MÜLLER P, LI X P, NIYOGI K K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy [J]. *Plant Physiology*, 2001, **125**(4): 1 558—1 566.
- [10] FOYER C H, NOCTOR G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context [J]. *Plant and Cell Environment*, 2005, **28**(8): 1 056—1 071.
- [11] MA D(马 盾), HUANG L P(黄乐平), HUANG Y SH(黄全生), *et al.* Study on improvement of pollen tube pathway transformation efficiency through field concrete operation [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica* (西北农业学报), 2005, **14**(1): 10—12 (in Chinese).
- [12] OUKARROUM A, SCHANSKER G, STRASSER R J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance [J]. *Physiologia Plantarum*, 2009, **137**(2): 188—199.
- [13] ATTIPALLI R R, KOLLURU V C, MUNUSAMY V. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants [J]. *Plant Physiol.*, 2004, **161**(11): 1 189—1 202.
- [14] HAO X Y(郝晓燕), CHEN M(陈 明), XU H J(徐惠君). Obtaining of transgenic wheats with GH-DREB gene and their physiological index analysis on drought tolerance [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南植物学报), 2005, **18**(5): 616—620 (in Chinese).
- [15] LIU Y Y(刘洋洋), GUO D(郭 栋), CHU X SH(楚秀生). Determination of physiological index on drought tolerance for new transgenic wheat lines with *DREB* genes [J]. *Shandong Agricultural Sciences* (山东农业科学), 2013, **45**(3): 38—41 (in Chinese).
- [16] 施肖堃. 转 *DREB* 基因甘蔗的抗旱性评价及其遗传稳定性分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010.