

干旱胁迫对不同抗旱性棉花品种抗氧化酶活性及基因表达的影响

田又升,王志军,于航,董永梅,张国丽,马盼盼,谢宗铭

(新疆农垦科学院 生物技术研究所/作物种质创新与基因资源利用兵团重点实验室,新疆石河子 832000)

摘要:为明确不同抗旱性棉花品种对干旱胁迫的适应性差异,该研究选用‘新陆早 50 号’(耐旱型)和‘新陆早 27 号’(干旱敏感型)为材料,分析干旱及复水处理下两材料的活性氧产生、电解质渗漏、抗氧化酶活性变化,并分析部分抗氧化酶基因、渗透调节基因和转录因子在干旱胁迫下的表达谱。结果显示:(1)棉花叶片的电导率和 MDA 含量随着干旱胁迫的加强逐渐增加,复水后恢复;在干旱胁迫处理 6 和 8 d,耐旱型品种‘新陆早 50 号’的抗氧化酶活性显著高于干旱敏感型品种‘新陆早 27 号’。(2)基因表达谱分析显示,棉花超氧化物歧化酶基因(*GhSOD*)仅在干旱胁迫下表达,且 2 个品种间差异不显著,*GhBADH*、*GhNCED* 和 *GhP5Cs* 及转录因子 *GhPHD1*、*GhPHD5*、*GhPHD6* 和 *GhPHD10* 在‘新陆早 50 号’叶片中的表达量均高于‘新陆早 27 号’。研究表明,耐旱型棉花品种较干旱敏感型在干旱胁迫下其体内的活性氧含量、电导率和 MDA 含量较低,抗氧化酶活性较高,并且其抗旱相关基因表达量也更高。

关键词:棉花;干旱;抗氧化酶;基因

中图分类号:Q945.78;Q789 文献标志码:A

Response of Antioxidant Enzyme Activities and Gene Expression in Different Drought Resistance Cotton Varieties under Drought Stress

TIAN Yousheng, WANG Zhijun, YU Hang, DONG Yongmei,
ZHANG Guoli, MA Panpan, XIE Zongming

(Biotechnology Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science/Xinjiang Production & Construction Group Key Laboratory of Crop Germplasm Enhancement and Gene Resources Utilization, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: In order to clarify the adaptable difference of different drought resistance cotton varieties under drought stress, we took ‘Xinluzao 50’(drought-tolerant) and ‘Xinluzao 27’(drought sensitive) as the material in this test. The active oxygen species generation, electrolyte leakage, antioxidant enzyme activity change, and the expression profiles of some antioxidant enzymes genes, osmotic regulation genes, transcription factors were analyzed under drought stress. The results showed that: (1) the conductivity and MDA content in cotton leaves increased gradually with drought stress strengthen, and recovery after rehydration; the antioxidant enzyme activities of drought-tolerant variety ‘Xinluzao 50’ significantly higher than that of drought sensitive variety ‘Xinluzao 27’ after drought stress 6 and 8 days. (2) Gene expression profiling under drought and rewater treatment showed that cotton superoxide dismutase (*GhSOD*) only expressed under drought stress and had no difference between two varieties, *GhBADH*, *GhNCED*, *GhP5Cs* and transcription factors *GhPHD1*, *GhPHD5*, *GhPHD6*, *GhPHD10* in drought-tolerant variety ‘Xinluzao 50’ had

收稿日期:2015-09-29;修改稿收到日期:2015-11-17

基金项目:新疆农垦科学院青年基金(YQJ201302)

作者简介:田又升(1987—),女,硕士,助理研究员,主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail:tianyoushengzi@163.com

higher expression level than that in drought sensitive variety 'Xinluzao 27'. The results demonstrated that drought-tolerant variety had lower active oxygen content, conductivity and MDA content, higher antioxidant enzymes activity, and the expression of drought relate genes had higher level compared with drought sensitive variety under drought stress.

Key words: cotton; drought; antioxidant enzyme; gene

棉花是新疆的主要经济作物,棉花的生长发育过程中会遭遇早春寒、干旱、盐碱、病虫害等诸多不利因素,其中干旱对其影响最大。干旱可引起植物体内发生一系列的生理代谢反应,从而产生代谢和生长的可逆性抑制,严重时引起植株不可逆的伤害甚至死亡^[1-2]。植物对水分缺乏的适应性同时表现在细胞水平和分子水平上^[3]。干旱胁迫下活性氧大量积累并引发活性氧伤害,植物中的酶促保护系统和抗氧化物质参与了活性氧的清除^[4-5]。干旱胁迫诱导能够提高植物体内 SOD、POD、CAT、GR 等抗氧化酶活性,有效地调节活性氧代谢的平衡,降低细胞膜脂过氧化程度,保护膜结构的完整性,增强作物干旱胁迫下的抗氧化能力^[6-7]。分子水平上,大量不同功能的基因在干旱胁迫下诱导或表达,其中,大多数基因的表达产物在细胞水平上响应或者耐受干旱胁迫^[8-10]。现在已经从植物中分离的抗旱相关基因主要包括渗透调节基因、抗氧化酶基因、晚期胚胎发生丰富蛋白基因、编码转录因子的调节基因和水孔蛋白基因等^[6,11-12]。

在前人研究工作基础上,本研究以抗旱性存在差异的 2 个品种'新陆早 50 号'(耐旱型)和'新陆早 27 号'(干旱敏感型)为材料,分析其在干旱及复水处理下活性氧产生、电解质渗漏、抗氧化酶活性变化,并分析部分挑选的抗氧化酶基因、渗透调节基因和转录因子在干旱胁迫下的表达谱,旨在了解棉花对水分胁迫的生理和分子响应,为棉花抗旱栽培及抗旱生理育种提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料

实验所选材料为'新陆早 27 号'(干旱敏感型)和'新陆早 50 号'(耐旱型),二者在棉花苗期田间抗旱性评价中表现出明显的抗旱性差异。将'新陆早 27 号'和'新陆早 50 号'以花盆直径为界种在同一花盆中,四叶期从底部充分渗水后进行干旱胁迫,19 d 后 2 个品种的表现如图 1 所示。

1.2 实验设计

取大田表层土,晒干碾碎后,以 3:1 的比例与蛭石混匀备用。选上、下直径分别为 20 和 15 cm,



图 1 '新陆早 27 号'和'新陆早 50 号'在干旱胁迫下的表现

Fig. 1 The performance of 'Xinluzao 27' and 'Xinluzao 50' with drought treatment

高度为 18 cm 的花盆,每个花盆装土 2.4 kg 后,抚平花盆内土壤表面,在同一个花盆内同时播种'新陆早 27 号'和'新陆早 50 号',以花盆直径为界,之后覆土 0.6 kg。播种完成后将花盆放于盛有水的大盆中,使其从底部渗水,待花盆上层土湿润后取出,摆放于光暗周期为 14 h/10 h,温度为 28 ℃ 的植物培养间内。出苗后进行间苗,每盆每品种保留长势一致的棉花幼苗 3 株。为了防止幼苗疯长,于间苗后的两片子叶期和两片真叶期喷洒缩节胺,浓度分别为 0.05 和 0.15 g/L,期间浇水均采用底部渗水方式,保证不出现植物受胁迫状态。于三叶期选取长势均匀的 18 盆棉苗进行干旱胁迫处理。每 3 盆一组(3 个重复),进行干旱胁迫 0、2、4、6、8 d 及干旱胁迫 8 d 后复水 2 d 处理,其中干旱胁迫 0 d 为对照。为了使各处理在同一天取样,干旱处理方法为:复水 2 d 处理于取样前 10 d 进行干旱胁迫,取样 2 d 前进行复水,同时称取干旱处理前花盆总重量(以 A 表示);干旱 8 d 处理于取样前 8 d 进行干旱胁迫,胁迫前采用称重补水法调节花盆总重量为 A;干旱 6 d 处理于取样前 6 d 开始干旱胁迫,胁迫前调节花盆总重量为 A;其它处理依次类推。处理结束后每品种取 3 株棉花倒 2 叶,剪碎后混匀,称重分装,用于各项生理指标的测定,取倒一叶剪碎后的混样用于 RNA 提取,样品液氮速冻后 -80 ℃ 冰箱保存。取样结束后,挖取花盆中间层土样称取烘干前后重量,以计算土壤含水量。

表 1 实验所用引物
Table 1 Primers in this test

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'→3')	下游引物 Reverse primer(5'→3')	退火温度 Annealing temperature/°C
Gh18s	TTGGACTTAGGGTGGGT	TGGTCGGCATCGTTA	60
GhSOD(Cu/Zn)	GTCAACAGGACCTCACTTC	ATGTATTACTCCGCTCACC	58
GhCAT	CCTGCCATTGTGGTTCCT	TCGTTCTTGCTGTCTGC	60
GhPOD	TGCTCAAATGGGTCTCAGTG	GGCAAATGTTGTTGGCTTC	58
GhAPX	TGAGCGAGGAATACCAGAAG	TCAGCGTAGGTGAGGTTAGG	60
GhBADH	CTTCCTTGGCTGCTGGTT	CATTATCTGCTCCCTGTTG	60
GhNECD	AAAACCGCAGACCCACAT	AACAGGGCGACCCAACTC	60
GhP5Cs	GGTGGACCAAGGGCAAGT	AGCGCTAGACCAAATCG	60
GhPHD1	TGGACAGTGTTCCTCAAAG	CTCGGAGTAGTGCTAGACG	60
GhPHD5	GATGCTGCCACTTCTGTT	TTTGATGCGTGATCTTGAC	60
GhPHD6	TTAGCAAATGGGAGTG	GCAGTAATCGCAACAGAA	58
GhPHD10	ATGCCTTACAATCCTGATG	AAAGGTAGAAACGGTGAAAGT	60

1.3 测定指标及方法

细胞膜透性测定采用电导法;丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸法^[13];H₂O₂含量采用硫酸钛法进行测定^[13];超氧阴离子含量(O₂[·])测定参照 Elstner^[14]的方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)比色法^[13];过氧化氢酶(CAT)活性参照 Cakmak^[15]的方法测定并加以改进;POD活性采用愈创木酚法测定^[16],可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝染色法。

土壤含水量(%)=(土壤重量-土壤干重)/土壤重量×100%

1.4 反转录及半定量 PCR

采用 CTAB 法^[17]提取棉花叶片总 RNA,选用 invitrogen 的 M-MLV First strand kit 试剂盒按其说明书合成 cDNA 第一链,PCR 反应为 20 μL 体系:cDNA 模板 x μL、正反向引物各 0.5 μL、2×PCR Master Mix 10 μL、灭菌水(9-x) μL。反应程序为:95 °C 预变性 10 min,然后 35 个循环:95 °C 变性 30 s、58~60 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 45 s,最后灭活:72 °C 延伸 5 min。PCR 产物选用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像仪拍照后分析。所用基因引物信息见表 1。

1.5 数据处理

实验数据均采用 Excel 2013 进行整理,DPS 7.05 进行二因素方差分析,Origin 8.0 作图。

2 结果与分析

2.1 干旱复水对棉花膜脂过氧化的影响

干旱处理降低盆栽内土壤含水量(图 2,A),对照的土壤含水量为 16.19%,干旱胁迫 2、4、6 和 8 d

的土壤含水量分别为 12.10%、9.15%、7.39% 和 5.63%,分别较对照下降了 25.26%、43.48%、54.38% 和 65.22%,复水 2 d 的土壤含水量为 18.28%,略高于对照。

随着干旱胁迫程度加强,干旱敏感型品种‘新陆早 27 号’的超氧阴离子含量逐渐下降,干旱 4、6 和 8 d 分别较对照下降 6.96%、17.65% 和 14.50%,复水 2 d 较对照上升 48.63%。而耐旱型品种‘新陆早 50 号’的超氧阴离子含量在整个干旱复水处理过程中均显著高于‘新陆早 27 号’,且呈先上升后下降的变化趋势。‘新陆早 50 号’的超氧阴离子含量在干旱胁迫 2 和 4 d 与对照无显著差异,6 d 时显著上升,较对照上升 51.33%,在干旱胁迫 8 d 下降到对照水平,复水 2 d 较对照上升 14.27%(图 2,B)。

在干旱处理过程中,‘新陆早 27 号’和‘新陆早 50 号’的电导率均逐渐增加,复水后下降。除在干旱胁迫 8 d,干旱敏感型品种‘新陆早 27 号’的电导率比耐旱型品种‘新陆早 50 号’高出 9.44% 外,其它处理阶段均是耐旱型品种‘新陆早 50 号’高于干旱敏感型品种‘新陆早 27 号’,对照、干旱胁迫 2、4、6 和复水 2 d 分别高出 21.50%、76.13%、4.59%、11.04% 和 22.30%,但仅在干旱胁迫 2 d,电导率在‘新陆早 27 号’和‘新陆早 50 号’间的差异显著(图 2,C)。

MDA 含量在干旱复水过程中呈先上升后下降的趋势,除干旱胁迫 6 d 外,其它处理时间点的 MDA 含量在 2 个品种‘新陆早 27 号’和‘新陆早 50 号’间差异不显著(图 2,D)。

2.2 干旱复水对棉花可溶性蛋白含量和抗氧化酶活性的影响

在正常水分条件下(对照),干旱敏感型品种‘新

陆早 27 号'的叶片可溶性蛋白含量是耐旱型品种'新陆早 50 号'的 1.14 倍,随着干旱胁迫程度加强及复水,耐旱型品种'新陆早 50 号'的可溶性蛋白含量逐渐增加,而干旱敏感型品种'新陆早 27 号'则无显著变化(图 3,A)。同时,随着干旱处理及复水,干旱敏感型品种'新陆早 27 号'叶片的 CAT 活性下降趋势明显,在干旱 8 d 降到最低值,其活性仅为对照的 19.58%,复水后上升到对照的 58.10%,而耐旱型品种'新陆早 50 号'则呈曲线波动,在干旱胁迫 2 和 6 d 活性较对照分别升高 43.63% 和 34.08%,在干旱胁迫 4 和 8 d 活性较对照降低 33.14% 和 49.42%,复水后活性恢复到对照的 70.00%(图 3,B)。另外,随着干旱胁迫加强, SOD 活性逐渐升高,且耐旱型品种'新陆早 50 号'的 SOD 活性高于干旱敏感型品种'新陆早 27 号',复水 2 d'新陆早 50 号'的 SOD 活性降低,'新陆早 27 号'的 SOD 活性继续上升(图 3,C)。此外,随着干旱胁迫加强, POD 活性逐渐升高,在干旱 6 和 8 d,耐旱型品种'新陆早 50 号'的 SOD 活性显著高于干旱敏感型品种'新陆早 27 号',复水 2 d 后'新陆早 50 号'的 POD 活性降低,'新陆早 27 号'的 POD 活性与干旱 8 d 无显著差异(图 3,D)。

2.3 干旱复水条件下各指标相关性分析

将干旱复水处理下的各指标分品种进行相关性分析(表 2),干旱敏感型品种'新陆早 27 号'仅 2 处存在显著相关性,分别是电导率与 CAT 间存在显著负相关,相关系数为 -0.85, SOD 与 POD 间存在显著正相关,相关系数为 0.77。而耐旱型品种'新陆早 50 号',MDA 含量与超氧阴离子含量、电导率、POD 间存在显著正相关,相关系数分别为 0.76、0.86 和 0.85,可溶性蛋白含量与 SOD 间存在显著正相关,相关系数为 0.83,SOD 和 POD 间存在显著正相关,相关系数为 0.76。说明干旱胁迫处理下,耐旱型品种'新陆早 50 号'的生理生化指标变化规律性更强。

2.4 干旱与复水条件下棉花部分基因表达谱分析

以 *Gh18S* 为内参基因,干旱及复水条件下,棉花叶片中部分功能基因及转录因子表达谱见图 4。由图 4 可以看出,对照、干旱 2 d 和复水 2 d 时,在'新陆早 27 号'和'新陆早 50 号'中均检测不到 *GhSOD* 表达,而在干旱 4、6、8 d 时 *GhSOD* 表达显著上升。'新陆早 27 号'和'新陆早 50 号'中 *GhCAT*

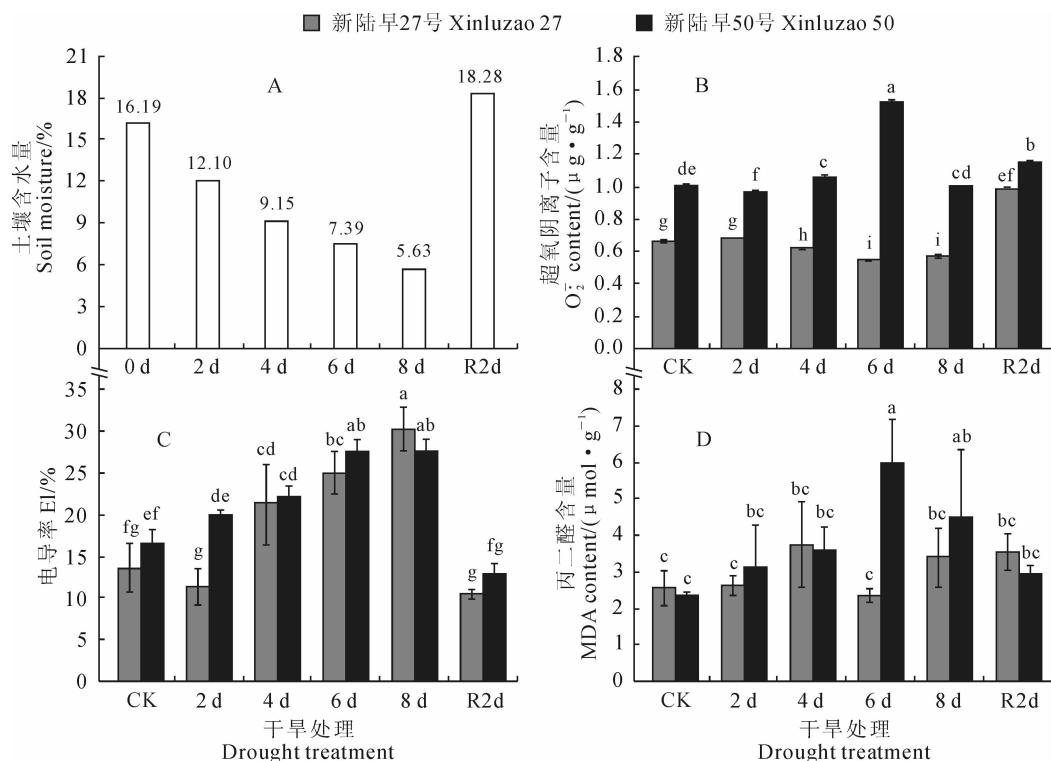


图 2 干旱与复水对棉花膜脂过氧化的影响

R2d. 干旱 8 d 后复水 2 d; 不同小写字母表示差异达 0.05 显著性水平; 下同

Fig. 2 Response of membrane lipid peroxidation in cotton during drought and rewater

R2d. Rewatering 2 d after drought; The different normal letter indicated significant

difference at the 0.05 level; The same as below

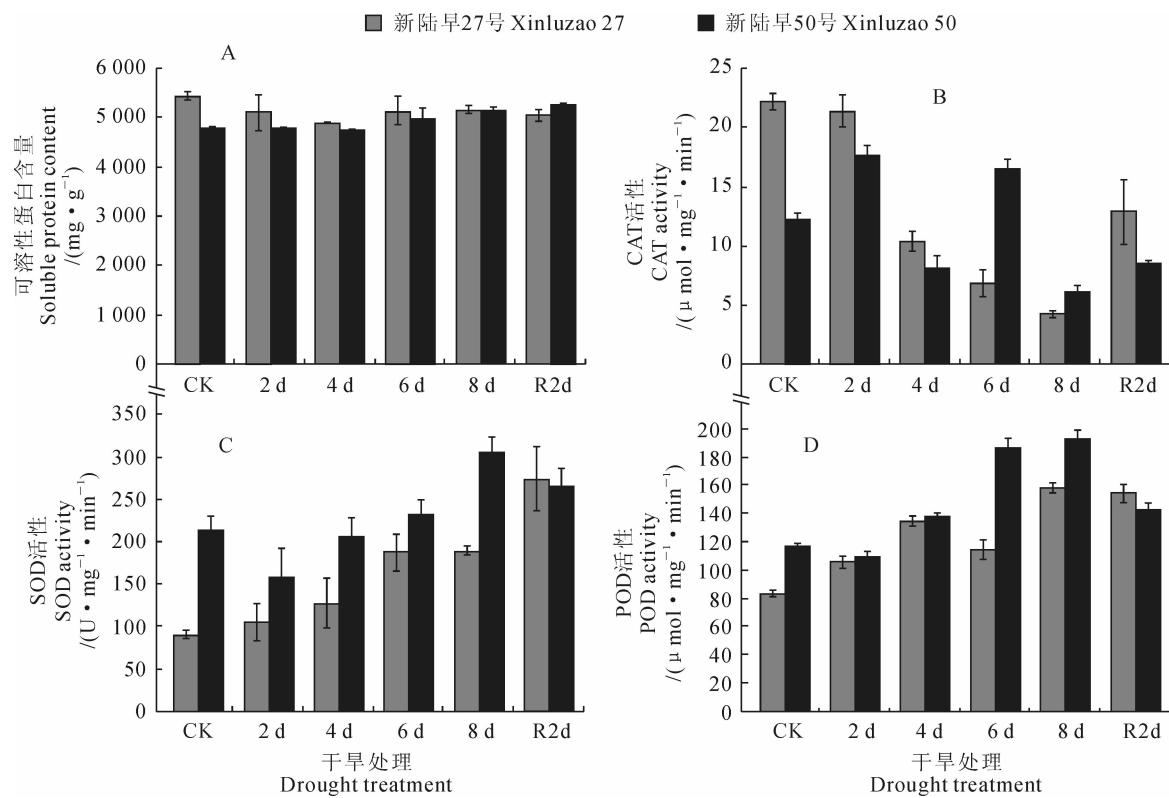


图3 干旱与复水对棉花抗氧化酶活性的影响

Fig. 3 Response of antioxidant enzyme activities in cotton during drought and rewater

表2 干旱复水条件下各指标相关性分析

Table 2 Correlation analysis of all indexes under drought stress and rewater

指标 Index	X1		X2		X3		X4		X5		X6	
	27	50	27	50	27	50	27	50	27	50	27	50
X2	0.42	0.76 *										
X3	-0.74	0.37	-0.1	0.86 *								
X4	-0.13	0.23	-0.4	0.22	-0.14	-0.06						
X5	0.31	0.35	-0.06	0.16	-0.85 *	0.06	0.45	-0.47				
X6	0.56	0.14	0.17	0.31	0.09	0.23	-0.33	0.83 *	-0.57	-0.73		
X7	0.29	0.56	0.60	0.85 *	0.38	0.74	-0.60	0.57	-0.73	-0.31	0.77 *	0.76 *

注:27.‘新陆早27号’;50.‘新陆早50号’;X1.超氧阴离子含量;X2.MDA含量;X3.电导率;X4.可溶性蛋白含量;X5.CAT;X6.SOD;X7.POD;*表示显著相关。

Note:27.‘Xinluzao 27’;50. Xinluzao 50’;X1. Superoxide anion content;X2. MDA content;X3. Conductivity;X4. Soluble protein content;X5. CAT;X6. SOD;X7. POD;* means significant positive correlation.

基因在干旱及复水过程中表达量较低,且无明显的差异变化。*GhPOD*在棉花叶片中的表达量较高,随着干旱胁迫的加强,*GhPOD*在干旱敏感型品种‘新陆早27号’中的表达量逐渐增加,在干旱8 d和复水2 d时表达量减少,*GhPOD*在耐旱型品种‘新陆早50号’中的表达量稍高于‘新陆早27号’,但处理间差异不明显。*GhAPX*在2个品种中的表达量均较低,且各处理间无显著差异。*GhBADH*的表达量在2个品种中均较低,但在‘新陆早50号’干旱胁迫2 d时表达量高于其它处理。*GhNCED*和

*GhP5Cs*的表达量在2个品种间存在差异,两者均在耐旱型品种‘新陆早50号’中的表达量较高。*GhNCED*基因在‘新陆早50号’干旱胁迫2和4 d时表达量较高,*GhP5Cs*基因在干旱胁迫下的表达量高于对照,且在干旱2 d时表达量最高。

转录因子*GhPHD1*、*GhPHD5*、*GhPHD6*和*GhPHD10*在耐旱型品种‘新陆早50号’中的表达量显著高于‘新陆早27号’。随着干旱胁迫的加强*GhPHD1*的表达量增加,复水后降低。*GhPHD5*的表达量在干旱敏感型品种‘新陆早27号’中不随

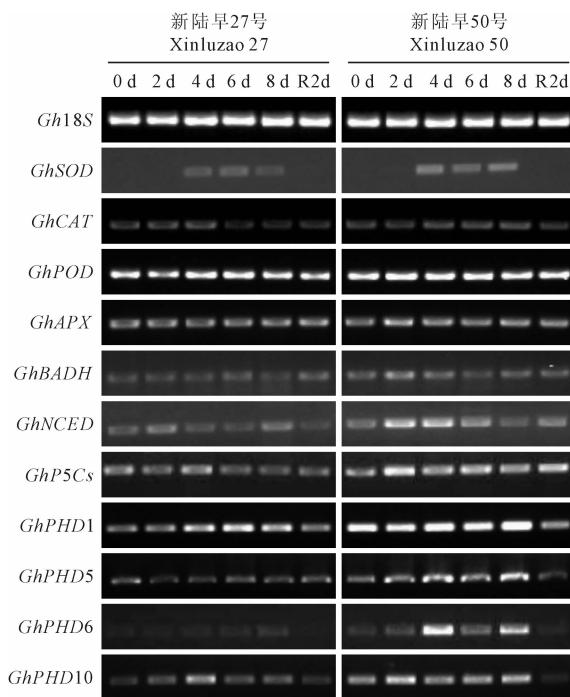


图4 干旱复水处理下基因表达谱分析

Fig. 4 Analysis of gene expression profiling with drought treatment and rewater

干旱胁迫处理发生变化,而在耐旱型品种‘新陆早50号’中随着干旱胁迫的加强逐渐增加,复水后降低。*GhPHD6*仅在‘新陆早50号’干旱处理4和6 d时表达量显著增加,而在‘新陆早27号’及‘新陆早50号’的其它处理中表达量低至几乎检测不到。*GhPHD10*在‘新陆早27号’干旱胁迫4 d表达量高,而在‘新陆早50号’中,于对照及干旱处理过程中均表达,但复水后表达量低至几乎检测不到。

3 讨 论

活性氧(ROS)是植物体内不同生理过程中的信号分子^[18],来源于细胞氧代谢。在正常生长条件下,植物体内的ROS含量处于动态平衡,在干旱胁迫下过量产生,它们在细胞水平上的氧化性损伤是植物受害的主要来源^[19]。ROS主要包括超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、氢氧自由基($\cdot OH$)和单线态氧(1O_2)^[20]。在自然条件下,ROS活性很强,能够和DNA、叶绿素、蛋白质、脂类等分子及其他主要细胞分子相互作用,随后产生一系列的破坏过程^[21],导致作物细胞遭受氧化胁迫,特别是膜系统首先受到影响,导致膜脂过氧化,膜镶嵌多种酶结构改变,膜透性加大,离子大量泄漏^[22]。丙二醛(MDA)是膜脂氧化降解的主要产物,具有很强的细胞毒性,对膜和细胞中的许多生物功能分子如蛋白

质、核酸和酶等均具有很强的破坏作用,并破坏生物膜的结构与功能^[23]。干旱胁迫下,通过外渗电介质的电导率测定可推算质膜透性的变化,质膜的透性、丙二醛的含量则反映了质膜过氧化受破坏的程度^[24-25]。在本实验干旱复水过程中,电导率和MDA含量的变化在2个品种间无显著差异,总体趋势均随干旱胁迫的加强而逐渐增加,复水后恢复,说明2品种均受到干旱胁迫的影响并产生伤害。在干旱胁迫8 d时,‘新陆早50号’的电导率低于‘新陆早27号’,说明‘新陆早50号’的膜伤害小于‘新陆早27号’,暗示‘新陆早50号’的耐旱性强于‘新陆早27号’。活性氧含量的变化规律在抗旱性不同的棉花品种间存在差异,‘新陆早50号’的超氧阴离子含量在干旱胁迫下增加,复水后下降;而‘新陆早27号’的超氧阴离子含量则呈减少趋势,这与干旱胁迫下的‘新陆早27号’的膜脂损害程度不相符合,可能因为本实验中只测定了超氧阴离子含量这一种活性氧,‘新陆早27号’的膜脂伤害可能受其它种活性氧影响较多。

ROS的损坏作用引起植物启动复杂的抗氧化机制来对抗氧化胁迫,这些ROS清除抗氧化机制包括酶促保护系统和小分子抗氧化物质^[26]。在酶促保护系统中,SOD催化 O_2^- 到 H_2O_2 的歧化反应,是ROS防御的第一道防线^[27]。过氧化氢酶(CAT)主要存在于过氧化氢酶体中,与 H_2O_2 的亲和性较低,起到搬运 H_2O_2 的作用。抗坏血酸过氧化物酶(APX)在抗坏血酸-谷胱甘肽循环中通过氧化抗坏血酸盐和谷胱甘肽清除 H_2O_2 ^[28],因此,抗坏血酸过氧化物酶存在于ROS产生的任何部位,是细胞内ROS水平的主要调节者^[29]。在对小麦、玉米、文冠果、苜蓿等的研究表明干旱胁迫诱导能够提高植物体内SOD、POD、CAT、GR等活性,有效地调节活性氧代谢平衡,降低膜脂过氧化程度,保护膜结构的完整性,增强作物干旱胁迫下的抗氧化能力^[30]。不同植物的SOD、CAT和POD活性对干旱的响应有所差别,不同干旱程度对SOD、CAT和POD活性的影响也不相同^[31]。在本实验中,SOD和POD活性在2品种中均随干旱胁迫的加强而增加,以清除过多活性氧,降低膜脂损伤程度。基因表达谱分析显示*GhSOD*(Cu/Zn)在干旱处理下表达量也增加,对应于胁迫下SOD活性的变化。前人的研究结果显示,通常耐旱作物在干旱条件下能使保护酶活力维持在一个较高水平^[32]。本实验干旱胁迫下,耐旱型品种‘新陆早50号’的SOD和POD活性均高于

干旱敏感品种‘新陆早 27 号’,耐旱型品种‘新陆早 50 号’的 CAT 活性在干旱胁迫 6 和 8 d 也显著高于干旱敏感品种‘新陆早 27 号’,与前人研究结果基本一致。

脯氨酸和甜菜碱是植物中的渗透调节物质,在植物抗逆过程中起着重要作用。干旱胁迫下,脯氨酸通过 P5CS 途径合成,BADH 是甜菜碱合成的关键酶。脱落酸(ABA)是一种重要的胁迫激素,其浓度对干旱反应敏感,干旱胁迫下作物启动脱落酸合成系统,合成大量的脱落酸^[32],9-顺环氧类胡萝卜素双加氧酶(NCED)是高等植物 ABA 生物合成的关键酶之一^[33-34]。在本实验的干旱处理中, *Gh-BADH*、*GhNCED* 和 *GhP5Cs* 基因在‘新陆早 50 号’干旱胁迫 2 d 表达量显著增加, *GhNCED* 和 *GhP5CS* 在干旱胁迫 4 和 6 d 表达量仍较高,且 *GhBADH*、*GhNCED* 和 *GhP5Cs* 在耐旱型品种‘新陆早 50 号’中的表达量高于干旱敏感品种‘新陆早 27 号’,暗示‘新陆早 50 号’在干旱胁迫下产生的 ABA、脯氨酸和甜菜碱多于‘新陆早 27 号’,也从渗

透调节方面解释了‘新陆早 50 号’较耐旱的原因。

植物同源结构域(plant homeodomain, PHD 结构域),是真核生物中一种进化保守的锌指结构域。多种调控基因转录、细胞周期、凋亡的蛋白质都含有 PHD 结构域^[35]。在干旱胁迫下,转录因子 *Gh-PHD1*、*GhPHD5*、*GhPHD6* 和 *GhPHD10* 在耐旱型品种‘新陆早 50 号’中的表达量均高于干旱敏感品种‘新陆早 27 号’,说明 PHD 转录因子在抗旱性不同棉花品种中的表达量存在差异。*GhPHD1* 在 2 品种中均随干旱胁迫的加强表达量增加,说明 *GhPHD1* 可能参与了干旱胁迫下的基因表达调控,*GhPHD6* 在‘新陆早 27 号’中微弱表达,在‘新陆早 50 号’干旱胁迫 4 和 8 d 表达量显著提高,复水后表达量降低,说明 *GhPHD6* 在抗旱性不同品种中表达谱存在差异,可能参与了耐旱型棉花品种对干旱胁迫的适应性响应。以上也与杨雷等^[36]的研究结果一致,认为部分 *GhPHDs* 在陆地棉应答和适应非生物胁迫过程中可能发挥重要的作用。

参考文献:

- [1] 郜付菊. 棉花抗逆相关基因的克隆与功能研究及低温胁迫下棉花蛋白质差异表达分析[D]. 武汉:华中师范大学,2007.
- [2] 胡龙兴. 草坪草抗旱生理及相关基因的分析[D]. 上海:上海交通大学,2010.
- [3] KAZUO S, KAZUKO Y S. Gene networks involved in drought stress response and tolerance[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(2):221—227.
- [4] MIAO Y, LÜ D, WANG P, et al. An *Arabidopsis* glutathione peroxidase functions as both a redox transducer and a scavenger in abscisic acid and drought stress responses[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(2):749—2 766.
- [5] GAD M, NOBUHIRO S, SULTAN C, et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2010, 33:453—467.
- [6] MA Y L(马艳丽), WANG P(王 鹏). Research progresses of plant adaptation mechanism to drought stress[J]. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*(河北林果研究), 2010, 25(4):359—361(in Chinese).
- [7] LIU ZH L(刘志玲), CHENG D(程 丹). Plant drought-resistant physiology research progress and breeding[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2011, 27(24):249—252(in Chinese).
- [8] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI S K, SEKI M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6:410—417.
- [9] BARTELS D, SUNKARS R. Drought and salt tolerance in plants[J]. *Critical Reviews in Plant Science*, 2005, 24:23—58.
- [10] YAMAGUCHI S K, SHINOZAKI K. Organization of cisacting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters[J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10:88—94.
- [11] LI G L(李国龙), WU H X(吴海霞), WEN L(温 丽), et al. Progress in physiological and molecular mechanism of drought resistant in crop[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2010, 26(23):185—191(in Chinese).
- [12] ZHANG SH ZH(张树珍), WANG Z ZH(王自章). Advances in molecular foundation and gene engineering on plant drought-tolerance [J]. *Life Science Research*(生命科学研究), 2001, 5(3):134—140(in Chinese).
- [13] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳:辽宁科技出版社,1994:89—98.
- [14] ELSTNER E F, HEUPEL A. Inhibition of nitrite formation from hydroxyl ammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 70:616—620.
- [15] CAKMAK I, MARSCHNER H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase ascorbate per-

- oxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1 222—1 227.
- [16] WANG Y, WU W H. Plant sensing and signaling in response to K-deficiency[J]. *Molecular Plant*, 2010, 3: 280—287.
- [17] LIU Y(刘洋), HE X Y(何心尧), MA H B(马红波), et al. Extraction of total RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) tissues with CTAB-PVP method[J]. *Journal of China Agricultural University*(中国农业大学学报), 2006, 11(1): 53—56(in Chinese).
- [18] HEE J K, NAOHIRO K, SUNRAN K, et al. Cu/Zn superoxide dismutases in developing cotton Wbers: evidence for an extracellular form [J]. *Planta*, 2008, 228: 281—292.
- [19] LUO X L, WU J H, LI Y B, et al. Synergistic effects of *GhSOD1* and *GhCAT1* overexpression in cotton chloroplasts on enhancing tolerance to methyl viologen and salt stresses[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): 1—11.
- [20] YUN K, MICHAEL U. Global regulation of reactive oxygen species scavenging genes in alfalfa root and shoot under gradual drought stress and recovery[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, 7(5): 539—543.
- [21] FOYER C H, DESCOURVIERES P, KUNERT K J. Protection against oxygen radicals—an important defense-mechanism studied in transgenic plants[J]. *Plant Cell Environ*, 1994, 17: 507—523.
- [22] SUBBARAO G V, CHAU Y S, JOHANSEN C, et al. Patterns of osmotic adjustment in pigeonpea—its importance as a mechanism of drought resistance[J]. *European Journal of Agronomy*, 2000, 12(34): 239—249.
- [23] WU Y M(吴永美), LÜ J ZH(吕炯章), WANG SH J(王书建), et al. Research progress on eco-physiological responses of plants to drought conditions[J]. *Rain Fed Crops*(杂粮作物), 2008, 28(2): 90—93(in Chinese).
- [24] MOLLER I M, JENSEN P E, HANSSON A. Oxidative modifications to cellular components in plants[J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2007, 58: 459—481.
- [25] XIE CH(谢晨), XIE H(谢皓), CHEN X ZH(陈学珍). Advance on the morphologic characteristic and physiological index in the drought-resistance soybean[J]. *Journal of Beijing University of Agriculture*(北京农学院学报), 2008, 23(4): 74—76(in Chinese).
- [26] IANNONE M F, ROSALES E P, GROPPA M D, et al. Reactive oxygen species formation and cell death in catalase-deficient tobacco leaf discs exposed to paraquat[J]. *Biol. Trace Elem Res.*, 2012, 146: 246—255.
- [27] ALSCHER R G, ERTURK N, HEATH LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53: 1 331—1 341.
- [28] SONJA V J, BILJANA K, BRANKA S, et al. Senescence-and drought-related changes in peroxidase and superoxide dismutase isoforms in leaves of *Ramonda serbica*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(8): 1 759—1 768.
- [29] MARIA H C. Drought stress and reactive oxygen species-production, scavenging and signaling[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2008, 3(3): 156—165.
- [30] BRYAN D, MCKERSIE, CHEN Y R, et al. Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. *Plant Physiol.*, 1993, 103: 1 155—1 163.
- [31] REDDY A R, CHAITANYA K V, VIVEKANANDAN M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(11): 1 189—1 202.
- [32] 李国龙. 甜菜苗期对干旱适应的生理生化及分子机制研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.
- [33] BURBIDGE A, GRIEVE T M, JACKSON A, et al. Characterization of the ABA-deficient tomato mutant notabilis and its relationship with maize[J]. *The Plant Journal*, 1999, 14(17): 427—431.
- [34] IUCHI S, KOBAYASHI M, TAJI T, et al. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2001, 27: 325—333.
- [35] MA H H(马红辉), FANG C L(方存磊), ZENG P Y(曾平耀). The PHD finger: a reader of the histone code[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*(生物化学与生物物理进展), 2008, 35(6): 625—630(in Chinese).
- [36] YANG L(杨雷), XIE Z M(谢宗铭), SI A J(司爱君), et al. Expression of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plant homeodomain transcription factors(PHD) under abiotic stress[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*(新疆农业科学), 2013, 50(3): 409—416(in Chinese).

(编辑:宋亚珍)