

转入 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因对甘薯旱后复水的恢复作用

陆燕元^{1,2}, 邓西平^{1,2}

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

2 中国科学院 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**研究转基因与非转基因甘薯幼苗在水分胁迫不同时间及解除胁迫后,膜脂过氧化及抗氧化防御系统中主要指标的变化情况,深入探讨甘薯的耐旱性及旱后自我修复机制。**【方法】**以转基因甘薯(T)与非转基因甘薯(N)幼苗为材料,以150 g/L的PEG模拟干旱条件,探讨水分胁迫不同时间及复水后甘薯叶片生理指标的变化情况。**【结果】**(1)水分胁迫12 h,甘薯叶片相对膜透性和MDA含量增加,相对含水量(RWC)、光化学效率(Fv/Fm)下降,抗坏血酸过氧化物酶(APX)、超氧化物歧化酶(SOD)活性显著增加。水分胁迫时间延长至24和48 h,植株受到进一步损害,其中转基因甘薯植株叶片中SOD活性先升后降,APX活性变化则与之相反,而非转基因甘薯植株的SOD、APX活性变化与转基因植株的相反;在同等胁迫条件下,转基因植株叶片抗氧化酶活性的表达均远高于非转基因植株。(2)水分胁迫12 h后复水,转基因和非转基因甘薯植株RWC、相对膜透性、MDA含量等均快速恢复到对照水平;水分胁迫延长至24和48 h后复水,转基因和非转基因甘薯植株叶片相对膜透性、MDA含量均在复水初期升高,而后下降,RWC、Fv/Fm则在复水后持续上升,而抗氧化酶活性的变化略为复杂。水分胁迫24 h后复水,转基因甘薯植株SOD和APX活性均在复水初期下降,然后回升,胁迫48 h后复水,SOD和APX活性则呈先升后降再升高的双峰变化趋势;非转基因植株在水分胁迫24和48 h后复水的表现与转基因植株略有差异,且变化幅度显著低于转基因植株。**【结论】**在甘薯体内同时转入*Cu/Zn SOD*和*APX*基因,可以有效减轻甘薯在水分胁迫条件下受损害的程度,提高甘薯的抗氧化胁迫能力,在水分胁迫逆境解除后,也可以更快更强地进行自我修复。

[关键词] 水分胁迫;复水;转基因甘薯;抗氧化酶

[中图分类号] S531.01

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)01-0067-08

Recovery effects of transferring both *Cu/Zn SOD* and *APX* genes in sweet potato under water stress

LU Yan-yuan^{1,2}, DENG Xi-ping^{1,2}

(1 College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on Loess Plateau, Chinese Academy of Sciences, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** Response of antioxidative system and lipid peroxidation during water stress and rewatering in transgenic sweet potato (T) both expressing *Cu/Zn SOD* and *APX* genes and non-transgenic line (N), were studied to explore how transferring genes improve the recovery ability of sweet potato. **【Method】** Transgenic and non transgenic sweet potatoes were used as experimental material under 150 g/L PEG simulated water stress condition, the physiological changes of sweet potato under different water stress time and rewatering time were discussed. **【Result】** (1) After 12 h water stress, membrane permeability

* [收稿日期] 2009-08-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(50779063);国家重点基础研究(973)发展计划项目(2009CB118604);西北农林科技大学拔尖人才支持计划项目

[作者简介] 陆燕元(1979—),女,广西南宁人,在读博士,主要从事植物水分生理与抗逆性研究。
E-mail: yanyuan.lu@yahoo.com.cn

[通信作者] 邓西平(1959—),男,陕西西安人,研究员,博士生导师,主要从事植物生理生态研究。E-mail: dengxiping@ms.iswc.ac

ty and MDA content increased, while RWC and Fv/Fm decreased. 12 h water stress also improved the expressing of APX and SOD. Longer water stress (24 and 48 h), brought more harm to plants. The activity of SOD in transgenic sweet potato increased first and then declined gradually, APX did the contrary way. The performance of SOD and APX in non transgenic plants showed just the reverse of what the transgenic line did. However, the activity of SOD and APX of T was always higher than that of N under all water stress levels. (2) Rewatering after 12 h water stress, RWC, membrane permeability and MDA content could recover to control level quickly. When recovered from 24 and 48 h water stress, membrane permeability and MDA content in both lines were increased firstly and then declined, and RWC, Fv/Fm kept going up after rewatering. However, the performance of antioxidative enzymes was more complicated. Rewatering after 24 h water stress, the activity of SOD and APX of transgenic plants decreased firstly and then increased significantly and they showed double peak values when plants recovered from 48 h water stress. The activity of antioxidative enzymes of N plants showed a little different trend. However, the change extent in N plants was much lower than that in T plants. **【Conclusion】** Overexpressing both *Cu/Zn SOD* and *APX* genes in sweet potato leaves can protect them from stress environment and enhance their drought tolerance. Moreover, it also improves their recovery ability during rewatering.

Key words: water stress; rewatering; transgenic sweet potato; antioxidative enzyme

在植物生长过程中,干旱会引起过量活性氧(ROS)的产生,导致细胞活性氧代谢失调及细胞损伤,从而造成植物延迟生长和产量减少。有研究表明,由干旱造成的危害超过了其他逆境因子危害的总和^[1]。因此,如何有效清除植物体内过量的ROS,成为植物在干旱条件下生存和生产的关键^[2]。

抗氧化酶防御系统通过激活和增加超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、氯霉素乙酰转移酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶的活性,来提高细胞对活性氧的清除和防御能力,是植物在长期逆境适应过程中产生的有效防御机制之一。因此,转入抗氧化酶基因是提高植物抗逆性的一大策略。Van 等^[3]曾报道,导入 *Cu/Zn* 超氧化物酶基因可以延长马铃薯在干旱胁迫下的存活时间。但由于抗氧化酶系统对活性氧的清除是各个酶相互协同、制约的过程,单独增加某个酶的表达量,对整个系统活性氧清除能力的提高作用有限,有的甚至不起作用,因此,同时转入 2 个或多个抗氧化酶基因,则有可能更有效地提高植物的抗氧化胁迫能力^[4]。Lee 等^[5]的试验表明,在烟草中同时转入 *Cu/Zn SOD*、*APX* 以及脱氢抗坏血酸还原酶基因(*DHAR*),比单独转入其中 1 个或者 2 个能更有效地提高烟草对多种逆境的抗性。Kwon 等^[6]在甲基紫精(MV)诱导的光氧化胁迫下,研究了分别转 *Cu/Zn SOD*、*MnSOD*、*APX* 基因以及同时转 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因烟草的耐胁迫性,结果表明,在叶绿体中同时表达 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因的烟草耐氧化胁迫

能力最强。对马铃薯^[7]、高茅草^[8]以及甘薯^[9-11]等的研究也发现,叶绿体中同时表达 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因的植株表现出更强的抗逆性。

甘薯是世界上重要的粮食、饲料、工业原料和生物能源用作物,随着全球人口猛增、耕地剧减和灾害日趋频繁,亚、非、拉一些国家通过扩大甘薯生产来解决粮食和能源危机问题。甘薯在生长过程中对水分较敏感,因此,通过转基因手段(如转入活性氧清除酶基因)增强其对水分胁迫的抗性,提高水分利用效率,有利于其在干旱和半干旱地区进行扩大生产。

然而,植物对干旱胁迫的适应性,不仅表现在对干旱的忍耐力上,同时也表现在逆境解除后自身的恢复能力上。只有从逆境中更快、更好恢复的植物,才能更好地在多变的环境中生存。但前人的研究多集中在植物的忍耐能力方面,而对其在逆境后的恢复机制涉及甚少。本课题组之前对转基因甘薯的报道^[9-11],也是侧重于转基因甘薯的耐旱性研究,而本研究主要探讨转基因甘薯在不同的水分胁迫历时下,如何启动抗氧化防御系统的协同作用来抵制水分胁迫,减轻自身受到的伤害,以及复水一定时间内如何相互协同作用对植株进行修复,以期对甘薯的耐旱机理研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料的培养

供试植物材料为以 *SWPA2* 为诱导性启动子启动的、在叶绿体中同时表达 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 抗

氧化酶基因的甘薯植株(*Ipomoea batatas* L.)和非转基因甘薯植株,均由韩国生命科学与生物技术研究所提供^[12-13]。试验在黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室完成。

从盆栽植株中剪取3~5叶实心甘薯幼苗,于实验室用1/2 Hoagland 营养液培养,容器为直径30 cm的塑料桶,每桶3株,4~5 d更换1次营养液,每天间断性通气7~8 h,昼夜温差20~28℃,光照8~10 h,散射光强200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右。室内水培15~20 d后选取大小基本一致的转基因与非转基因甘薯植株进行试验处理。

1.2 甘薯植株的水分胁迫及复水处理

将培养好的转基因和非转基因甘薯植株各分为4组,即1个对照组和3个处理组,每处理重复3次,每重复3株。对照组(CK):在1/2 Hoagland 营养液中生长;3个处理组:用1/2 Hoagland 营养液和聚乙二醇(PEG)配成150 g/L的PEG处理液对植株分别进行12,24和48 h干旱胁迫;此后,除CK外,对每个处理均分别进行12,24,48和72 h的复水。PEG由上海光明化工厂生产,所用浓度参照李筠等^[10]、李建梅等^[11]的试验结果定为150 g/L,与之对应的PEG的1/2 Hoagland 溶液水势为0.44 MPa。

1.3 测定指标及其方法

SOD活性、丙二醛(MDA)含量、叶片相对含水量(RWC)及相对膜透性等指标的测定参照高俊

风^[14]编写的实验指导书,APX活性的测定按照沈文彪等^[15]的方法,叶绿素荧光参数采用德国产WALZ PAM叶绿素荧光仪测定。

1.4 数据处理

试验数据与图表处理采用Sigmaplot10.0和SAS数据统计分析软件。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片MDA含量的影响

丙二醛(MDA)是脂质过氧化的最终产物,其含量反映植物细胞受环境胁迫等伤害的程度。由图1可知,PEG模拟的干旱胁迫促使转基因与非转基因甘薯叶片的MDA含量上升,且随着胁迫时间的延长,MDA含量的积累逐渐增加,表明植株受到的伤害程度加深;复水之后细胞得到修复,MDA含量也随之下降,但恢复的趋势和程度与先前受到的胁迫时间有关。较短时间(12 h)的PEG胁迫后复水,可以使植株叶片的MDA含量很快下降,转基因植株在复水72 h基本恢复;而胁迫时间较长(24和48 h)后复水,MDA含量均在复水初期先上升,然后下降,但即使经过72 h的恢复,MDA含量仍然与对照有显著差异。另外,非转基因甘薯植株叶片的MDA含量,不管是在胁迫期间还是随后的复水过程中,均显著高于转基因甘薯植株。

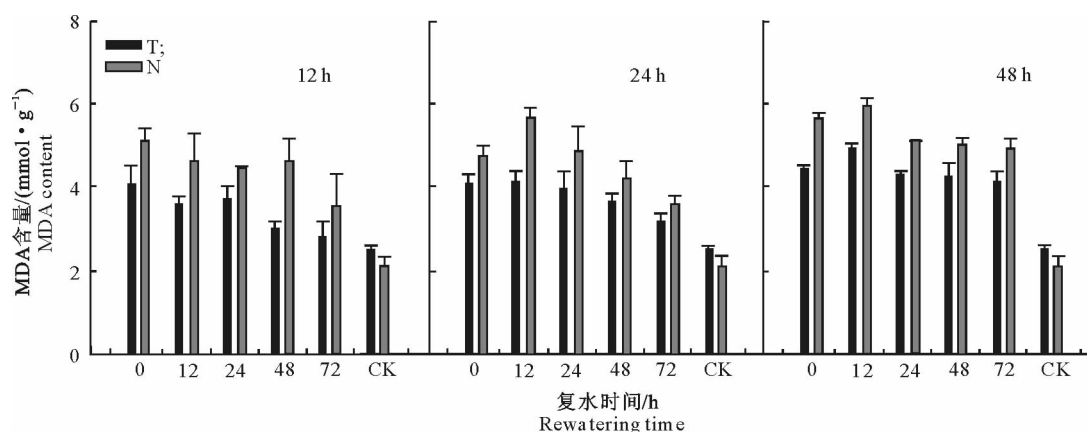


图1 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片MDA含量的变化

T. 转基因植株; N. 非转基因植株。下图同

Fig. 1 Variety of MDA content in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewatering

T. Transgenic plant; N. Non transgenic plant. The same as below

2.2 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片相对膜透性的影响

植物细胞膜是对水分变化敏感的原初部位,水

分胁迫容易引起膜透性的改变,从而导致细胞内电解质外渗,相对膜透性提高。由图2可以看出,在正常生长条件(CK)下,转基因与非转基因甘薯叶片的

相对膜透性并无明显差异;胁迫 12 h 后,二者的相对膜透性均略有上升,但非转基因甘薯植株上升的幅度较大,叶子也呈轻度萎蔫状态;随着水分胁迫时间的延长,叶片相对膜透性也随之持续增加,转基因甘薯植株增加的幅度仍然明显小于非转基因植株。水分胁迫 12 h 再复水 12 h 后,转基因与非转基因甘薯叶片相对膜透性均逐渐下降,转基因甘薯植株在

复水 48 h 后基本恢复到对照水平,而非转基因甘薯植株则略晚一些。水分胁迫 24 和 48 h 的甘薯植株叶片相对膜透性均在复水初期(12 h)先升高,然后随复水时间的延长逐渐降低,在复水 72 h 基本恢复到对照水平。在复水过程中,转基因甘薯植株表现出在恢复能力上的优势,该优势在复水的前 24 h 内表现尤为明显。

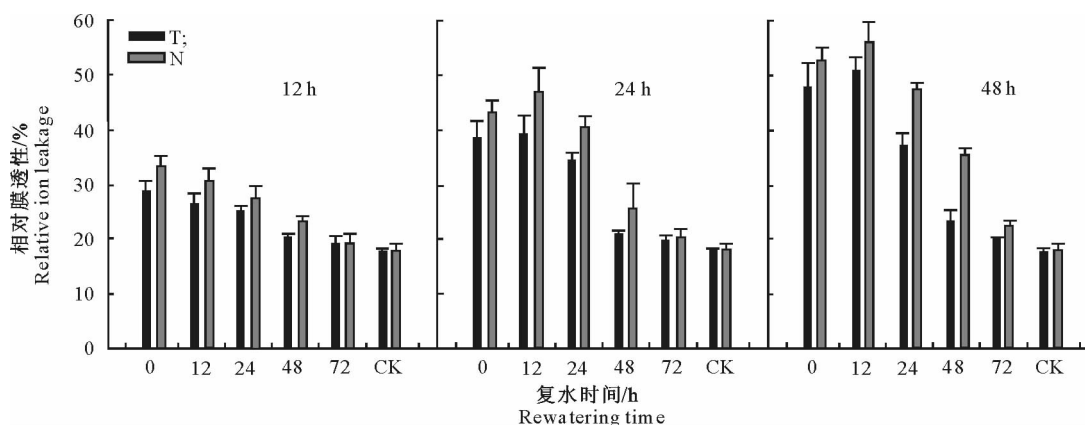


图 2 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片相对膜透性的变化

Fig. 2 Variety of relative ion leakage in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewatering

2.3 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片 RWC 的影响

受干旱胁迫的影响,植物的茎、叶会发生萎蔫,萎蔫程度可以用相对含水量(RWC)来表示。由图 3 可以看出,在正常生长条件(CK)下,转基因与非转基因甘薯植株叶片的 RWC 无明显差异,分别胁迫 12, 24 及 48 h 后, RWC 显著下降,尤其是胁迫 48 h 后, RWC 与对照达到极显著差异 ($P < 0.01$),但转基因甘薯植株 RWC 的下降幅度明显小于非转基因

甘薯植株。复水后,水分胁迫时间较短(12 h)的转基因和非转基因甘薯植株均在复水 24 h 后基本恢复。水分胁迫 24 h 后复水,转基因甘薯植株经过 24 h 基本恢复到对照水平,而非转基因甘薯植株则在复水 48 h 才完全恢复;水分胁迫 48 h 的植株也呈类似变化趋势;说明在一定的水分胁迫条件下,转基因甘薯植株叶片不仅表现出较强的保水能力,而且当逆境条件解除后,在修复时间上也表现出了优势。

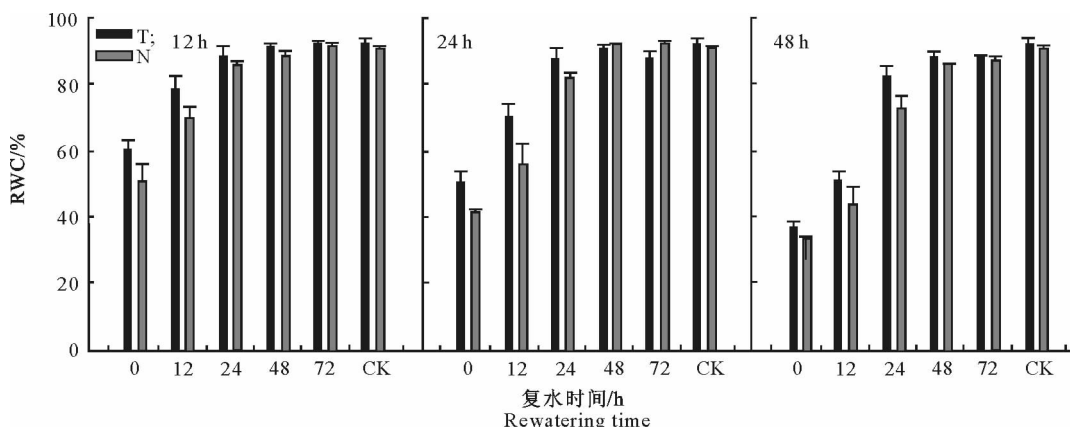


图 3 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片相对含水量(RWC)的变化

Fig. 3 Variety of relative water content in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewatering

2.4 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片 SOD 活性的影响

SOD 是抵御活性氧伤害的第一道防线,其可以将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 。图 4 表明,在正常的水分条件(CK)下,转基因和非转基因甘薯植株的 SOD 活性没有明显差异,但在各个处理中,转基因甘薯植株叶片中的 SOD 活性均显著高于非转基因植株。二者叶片 SOD 活性在复水过程中的变化与之前受到的水分胁迫时间有关,胁迫 12 h, SOD 活性升高,复水 24 h 内仍持续升高,而在复水 48 h 时稍有降低,但仍显著高于对照水平;复水 48 h 后,转基因甘薯植株 SOD 活性又稍有上升,而非转基因甘薯植株则继续降低。水分胁迫 24 h,转基因甘薯植株叶片的 SOD 活性显著升高,复水初期 24 h 内迅速下降,继

续复水后又显著升高;而非转基因甘薯植株只在复水前 24 h 内稍有上升,复水 48 和 72 h 时 SOD 活性与对照无显著差异。转基因与非转基因甘薯叶片 SOD 活性在水分胁迫 48 h 及复水过程中表现出与水分胁迫 24 h 类似的变化趋势,其中转基因植株 SOD 活性分别在复水 24 和 48 h 出现双峰值。

水分胁迫促使甘薯叶片 SOD 活性增加,但是胁迫时间与其活性并不呈正相关。从图 4 发现,转基因甘薯植株在水分胁迫 12 h 时叶片 SOD 活性上升,胁迫 24 h 时达到最大值,继续增加胁迫时间到 48 h, SOD 活性反而下降;非转基因甘薯植株叶片 SOD 活性在水分胁迫 12 h 时达到最大值,胁迫 24 h 时 SOD 活性反而最低,与转基因甘薯植株的表现恰好相反。

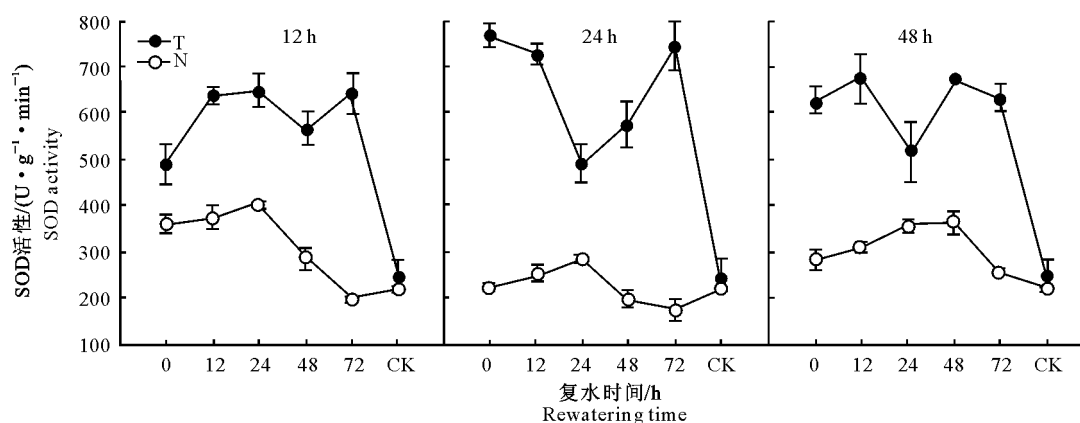


图 4 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片 SOD 活性的变化

Fig. 4 Variety of activity of SOD in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewetting

2.5 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片 APX 活性的影响

抗坏血酸过氧化物酶(APX)是叶绿体内专一清除过氧化氢(H_2O_2)的酶。已有研究表明,作为抗坏血酸-谷胱甘肽循环途径主要物质的 APX,在 H_2O_2 的清除过程中具有重要作用^[16-17],其可将 H_2O_2 转化为 H_2O 分子,从而达到清除或调节 H_2O_2 的作用。图 5 显示,水分胁迫 12 h 时,转基因与非转基因甘薯植株叶片 APX 活性较对照均略有上升,然后在复水 12 和 48 h 时出现双峰值;水分胁迫 24 h 时,非转基因甘薯植株的 APX 活性较对照小幅上升,而转基因甘薯植株则是极显著升高,并在复水初期(24 h 内)逐渐下降,中后期又缓慢增加;水分胁迫 48 h 后复水,转基因甘薯植株 APX 活性的变化趋势与水分胁迫 12 h 时类似,但变化幅度更大,与非转基因甘薯植株的差异更为显著。

由图 5 还可以看出,转基因与非转基因甘薯叶片 APX 活性均在水分胁迫 48 h 又复水 48 h 时达到最大值,而水分胁迫 12 h 复水后 APX 活性的变化幅度最小。除正常供水条件外,在胁迫和复水过程中,转基因甘薯植株的 APX 活性均明显高于非转基因甘薯植株。

2.6 水分胁迫时间及复水对甘薯叶片光化学效率(Fv/Fm)的影响

Fv/Fm 是叶绿体 Ps II 最大光化学量子产量,其能反映 PS II 原初光能转化效率,该参数在非环境胁迫条件下极少变化,不受物种和生长条件的影响,但光抑制下叶片荧光参数会发生明显变化,是反映光抑制程度的良好指标和探针^[18-19]。图 6 显示,正常生长环境(CK)下,转基因与非转基因甘薯叶片的 Fv/Fm 值无明显差异,但短时间(12 h)水分胁迫均使该值较对照明显降低;进一步延长胁迫时间,二者 Fv/Fm 值降低的幅度进一步增大;在此过程中,转

基因甘薯植株 F_v/F_m 值降低的幅度小于非转基因甘薯植株。复水后,所有处理的 F_v/F_m 值均逐渐回升,其中 12 h 短时间水分胁迫下,转基因与非转基因甘薯植株的 F_v/F_m 值能很快恢复;而 48 h 水分

胁迫处理下,即使经过 72 h 的复水,二者 F_v/F_m 值仍然与对照具有明显差异。在复水恢复过程中,转基因甘薯植株在恢复时间及恢复程度上,均较非转基因甘薯植株表现出明显优势。

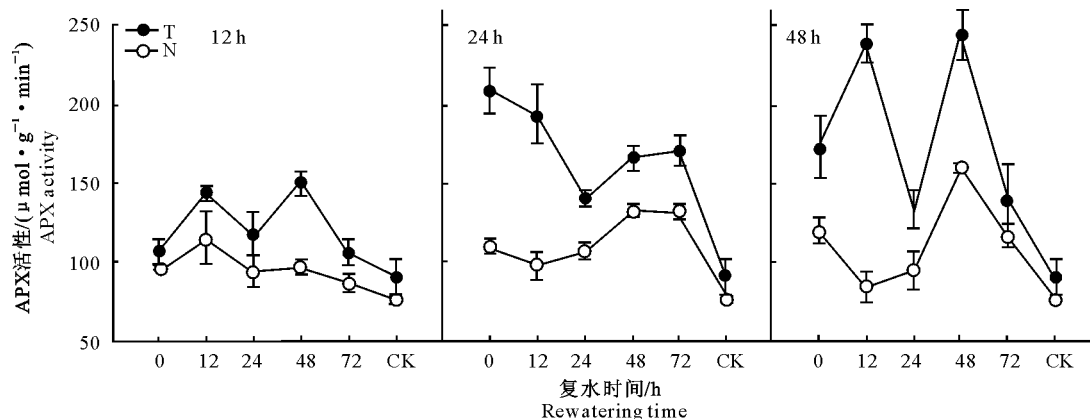


图 5 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片 APX 活性的变化

Fig. 5 Variety of activity of APX in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewatering

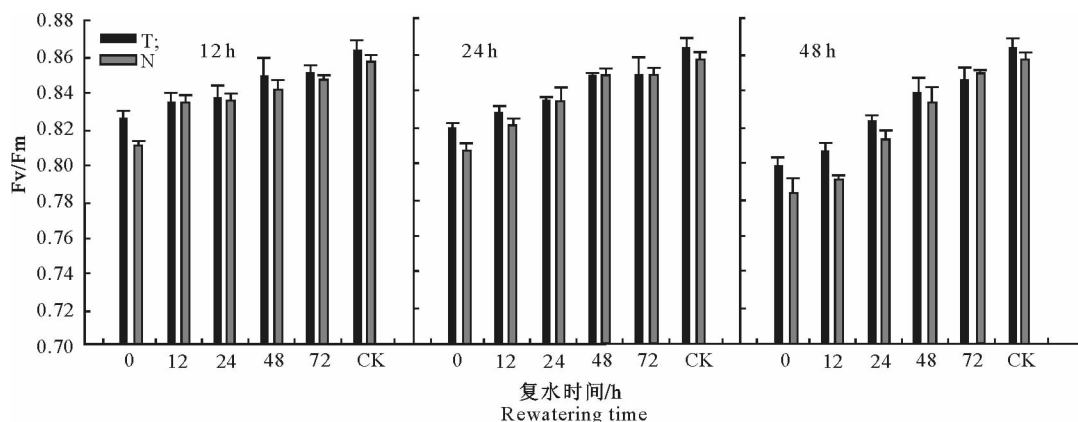


图 6 水分胁迫不同时间及复水后转基因与非转基因甘薯植株叶片 F_v/F_m 的变化

Fig. 6 Variety of F_v/F_m level in leaves of transgenic and non-transgenic sweet potato under different water stress levels and rewatering

3 结论与讨论

3.1 水分胁迫与复水时间对甘薯幼苗生理活动的影响

植物细胞膜对维持细胞微环境和正常代谢具有重要作用。但在干旱胁迫条件下,细胞膜的结构和功能首先遭到破坏,尤其当活性氧积累过多时,就会诱发膜脂过氧化反应,产生 MDA,对细胞造成不可逆的伤害,甚至引起细胞死亡^[20]。本试验发现,即使只进行短时间(12 h)的水分胁迫,植株的生物膜仍然受到了一定程度的伤害,这可以从相对膜透性和 MDA 含量的增加、叶片相对含水量的下降以及植株叶片发生的轻度萎蔫得到反映;并且随着胁迫

时间的延长,膜电解质外渗率及 MDA 含量持续升高,叶片发生了严重萎蔫,说明植株受到的伤害进一步加大。受到较短时间(12 h)水分胁迫的甘薯植株复水后,叶片 RWC 持续升高,MDA 含量和相对膜透性逐渐降低;而受到较长时间(24 h, 48 h)水分胁迫的甘薯植株,MDA 含量和相对膜透性均在复水初期先升高,然后降低。

大量研究表明,植物在逆境胁迫或衰老过程中,细胞内自由基代谢的平衡被破坏,导致自由基大量产生,过剩自由基的毒害作用之一是引发或加剧膜脂过氧化,造成细胞膜系统的损伤^[21],而质膜是细胞与环境之间的界面,各种逆境对细胞的影响首先作用于质膜。逆境胁迫对质膜结构和功能的影响通

常表现为选择透性的丧失,使电解质和某些小分子有机物大量渗漏,导致各细胞器的生理功能发生紊乱。因此受到水分胁迫时,植物叶片的 MDA 含量和电导率会升高,但植株同时也存在着完整的修复系统,如启动保护酶促清除系统、非酶促系统、DNA 损伤修复系统等干旱适应修复机制,以维持细胞的正常机能^[22]。植物体内存在的破坏-修复动态平衡关系,使植株在受到短时间水分胁迫时有一定程度的适应,一旦逆境条件解除,就立即得到修复;而较长时间或严重的水分胁迫,因对细胞功能的损坏比较严重,使破坏-修复动态平衡遭到了破坏,因此修复较慢,所以水分胁迫 24 和 48 h 的甘薯植株在复水初期,MDA 含量和相对膜透性仍然在增大,到复水 24 h 后才开始下降。

3.2 水分胁迫与复水时间对转 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因甘薯幼苗抗氧化酶系统的影响

时忠杰等^[23]指出,在水分胁迫条件下,抗旱性较强的植物能维持体内较高的活性氧清除酶活性。已有研究通过导入活性氧清除酶基因,来人为提高水分胁迫下植物体内自由基清除酶的活性,以此来提高植物的耐旱性。

本试验表明,转入 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因后,甘薯幼苗叶片的 SOD 和 APX 活性在受到水分胁迫诱导时显著提高,并且在复水初期(12 h)继续升高,中期稍有下降,在复水后期又升高。在相同的水分胁迫及复水条件下,转基因甘薯叶片 SOD 和 APX 活性均极显著高于非转基因甘薯。

本试验中,水分胁迫初期便引起了甘薯植株体内活性氧自由基的过度积累,使植物体细胞的机能遭到破坏,于是抗氧化酶系统被启动,促使 SOD 和 APX 等抗氧化酶大量表达,而且采用氧化诱导型启动子 *SWPA2* 调控下的外源基因 *SOD* 和 *APX*,在逆境胁迫时被特异性表达,所以可以看到转基因甘薯植株中 SOD 和 APX 抗氧化酶的表达量远远高于非转基因植株(如图 4 和图 5),因此大大增强了转基因植株的抗逆效果。复水初期甘薯植株抗氧化酶活性的继续增加,可能是原先受到胁迫时积累的伤害尚未消除,因此还在继续诱导新的抗氧化酶合成;复水中期抗氧化酶活性降低,则可能是在清除活性氧的过程中消耗了部分酶;而复水后期抗氧化酶活性又升高,则是因为诱导的过量抗氧化酶还未及时分解,所以仍显示出较高的活性。另一方面,抗氧化酶活性的表达,并不与胁迫时间成正比关系。一定程度的胁迫,可以迅速而有效地提高酶活性;但是过

于严重的胁迫,反而会抑制酶活性,这可能是由于细胞膜被损坏,导致与膜结合的酶系统遭到破坏而不能及时响应,所以水分胁迫 48 h 的酶活性反而较胁迫 24 h 时降低(如图 4 和图 5)。

3.3 水分胁迫与复水时间对甘薯幼苗光化学效率 (*Fv/Fm*) 的影响

本研究结果表明,短期水分胁迫条件下,甘薯幼苗 *Fv/Fm* 值与对照之间的差异并不显著,尤其是转基因植株,只有轻微下降。但随着水分胁迫时间的延长(48 h),该值急剧下降,与对照和短时间水分胁迫处理均呈显著差异,这表明在水分胁迫下,甘薯叶片 PSⅡ 原初光能转化率降低,PSⅡ 潜在活性中心受损,抑制了光合作用的原初反应,使光合电子传递受阻。研究结果同时还表明,甘薯叶片的 PSⅡ 对短时间水分胁迫具有一定的适应性,但随着干旱胁迫的加剧,光合结构遭到了一定程度的破坏,因而严重抑制了光合作用的原初反应^[24]。复水之后,甘薯幼苗的 *Fv/Fm* 值会逐渐得到恢复。转基因与非转基因甘薯植株相比,*Fv/Fm* 值在各水分胁迫处理期间降低的幅度均较小,说明转基因植株光合结构受破坏的程度较小;而复水之后,转基因植株 *Fv/Fm* 值较非转基因植株恢复快,说明转入的 *Cu/Zn SOD* 和 *APX* 基因有利于甘薯幼苗的修复。

本研究结果表明,在甘薯体内同时转入 *SOD* 和 *APX* 基因,可以有效减轻甘薯在水分胁迫条件下受损害的程度,提高甘薯的抗氧化能力。在水分胁迫的逆境解除后,也可以更快、更强地进行自我修复。

【参考文献】

- [1] Chen T H, Murata N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5(3): 250-257.
- [2] Sander Mann H. Molecular ecotoxicology of plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(8): 406-413.
- [3] Van der Mescht A, De Ronde J A, Slabbert M M, et al. Enhanced drought tolerance in transgenic potato expressing the *Arabidopsis thaliana* Cu/Zn superoxide dismutase gene: research letter [J]. *South African Journal of Science*, 2007, 103(3/4): 169-173.
- [4] Kwon S Y, Lee H S, Kwak S S. Development of environmental stress-tolerant plants by gene manipulation of antioxidant enzymes [J]. *The Plant Pathology Journal*, 2001, 17(2): 88-93.
- [5] Lee Y P, Kim S H, Bang J W, et al. Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts [J]. *Plant Cell Reports*, 2007, 26(5): 591-598.

- [6] Kwon S Y, Jeong Y J, Lee H S, et al. Enhanced tolerances of transgenic tobacco plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against methyl viologen-mediated oxidative stress [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2002, 25(7): 873-882.
- [7] Tang L, Kwon S Y, Kim S H, et al. Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against oxidative stress and high temperature [J]. *Plant Cell Reports*, 2006, 25(12): 1380-1386.
- [8] Lee S H, Ahsan N, Lee K W, et al. Simultaneous overexpression of both Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(12): 1626-1638.
- [9] 李建梅, 邓西平. 干旱和复水条件下转基因甘薯的光合特性 [J]. *水土保持学报*, 2007, 4(4): 193-196.
Li J M, Deng X P. Photosynthetic system characteristics of transgenic sweet potato under water stress and rewatering [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 4(4): 193-196. (in Chinese)
- [10] 李 筠, 邓西平, 郭尚洙, 等. 转铜/锌超氧化物歧化酶和抗坏血酸过氧化物酶基因甘薯的耐旱性 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2006, 32(4): 451-457.
Li Y, Deng X P, Guo S S, et al. Drought tolerance of transgenic sweet potato expressing both Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(4): 451-457. (in Chinese)
- [11] 李建梅, 邓西平. 干旱及复水条件下转基因甘薯抗氧化防御系统特性 [J]. *中国农学通报*, 2007, 23(6): 616-621.
Li J M, Deng X P. Antioxidative system characteristics of sweet potato transferred both Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase gene under water stress and rewatering [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(6): 616-621. (in Chinese)
- [12] Kim K Y, Kwon S Y, Lee H S, et al. A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweetpotato: molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 51(6): 831-838.
- [13] Li T, Kwon S Y, Kwak S S, et al. Selection of transgenic potato plants expressing both Cu/Zn SOD and APX in chloroplasts with enhanced tolerance to oxidative stress [J]. *Korean J Plant Biology Technology*, 2004, 31(3): 1-5.
- [14] 高俊凤. 植物生理实验指导 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 137-202.
Gao J F. *Plant physiological experiment technology* [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000: 137-202. (in Chinese)
- [15] 沈文彪, 徐良莱. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨 [J]. *植物生理学通讯*, 1996, 32(3): 203-205.
- Shen W B, Xu L L. Study on determination of ASP activity [J]. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(3): 203-205. (in Chinese)
- [16] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [17] Foyer C H, Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context [J]. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 1056-1071.
- [18] 赵丽英, 邓西平, 山 仑. 不同水分处理下冬小麦旗叶叶绿素荧光参数的变化研究 [J]. *中国生态农业学报*, 2007, 15(1): 63-66.
Zhao L Y, Deng X P, Shan L. Effects of altered water condition on some chlorophyll fluorescence parameters of flag leaves of winter wheat [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2007, 15(1): 63-66. (in Chinese)
- [19] 柯世省, 金则新. 干旱胁迫和复水对夏蜡梅幼苗光合生理特性的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13(6): 1166-1172.
Ke S X, Jin Z X. Effect of drought stress and water recovering on physiological characteristics of *Sinocalycanthus chinensis* seedlings [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2007, 13(6): 1166-1172. (in Chinese)
- [20] Wang W B, Kim Y H, Lee H S, et al. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses [J]. *Plant Physiology et Biochemistry*, 2009, 47(7): 570-577.
- [21] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害 [J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(2): 84-90.
Chen S Y. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell [J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, 27(2): 84-90. (in Chinese)
- [22] 葛伟达, 隋方功, 白莉萍. 长期水分胁迫对夏玉米根叶保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响 [J]. *干旱地区农业研究*, 2005, 23(3): 18-23.
Ge T D, Sui F G, Bai L P. Effects of long-term water stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in summer maize roots and leaves [J]. *Research in the Arid Area*, 2005, 23(3): 18-23. (in Chinese)
- [23] 时忠杰, 胡哲森. 水分胁迫与活性氧代谢 [J]. *贵州大学学报: 农业与生物科学版*, 2002, 21(2): 140-145.
Shi Z J, Hu Z S. Water stress and active oxygen metabolism [J]. *Journal of Guizhou University Agriculture and Biological Science*, 2002, 21(2): 140-145. (in Chinese)
- [24] 郭相平, 刘展鹏, 王青梅, 等. 采用 PEG 模拟干旱胁迫及复水玉米光合补偿效应 [J]. *河海大学学报: 自然科学版*, 2007, 35(3): 286-290.
Guo X P, Liu Z P, Wang Q M, et al. Study on photosynthetic compensatory effects of PEG osmotic stress and rewatering on maize [J]. *Journal of Hehai University: Natural Sciences Edition*, 2007, 35(3): 286-290. (in Chinese)