

转多基因草坪草的耐盐性鉴定

魏 睿¹, 麻冬梅², 许 兴²

(1. 渭南师范学院, 陕西 渭南 714000; 2. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以转基因草坪草植株高羊茅“红宝石”和黑麦草“玲珑”为试材, 通过对其超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)含量、类胡萝卜素(Car)含量等抗旱耐盐性生理生化指标的测定, 进行了耐盐性鉴定研究。结果表明: 在盐胁迫条件下, 转基因植株和对照株相比在 SOD、POD、MDA、Car 等方面均表现出显著性差异, 转基因植株的耐盐性得到了显著增强。

关键词:草坪草; 转基因; 耐盐性

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)07-0059-04

土壤盐渍化是全球性的问题, 在我国盐渍土约有 0.2 亿 hm^2 ^[1], 宁夏地区存在着不同类型的盐碱地。草

坪作为园林绿化的重要组成部分, 已经在城市绿化等多方面起到了关键作用。在盐碱地上种植, 不仅对环境起着保护、改善和美化的良好作用, 还可以起到抑制土壤返盐的作用^[2]。随着现代分子生物学技术的发展, 转基因植物的研究已经成为育种的主要技术手段和趋势。植物抗逆性是受多基因控制的数量性状, 而且有交叉适应现象, 抗逆基因的分离、克隆和转化一直是植物分子生物学的研究热点。目前, 草坪草转基因领域正在不断发展并已经取得了诸多成果。将基因导入草坪草进行抗逆育种是当前草坪草基因工程的研究热点和重点。

第一作者简介:魏睿(1985-), 男, 陕西渭南人, 硕士, 助教, 现主要从事生物化学与分子生物学等研究工作。E-mail: chinaweirui@163.com.

责任作者:许兴(1959-), 男, 宁夏银川人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事植物生理生态学的教学与研究工作。

基金项目:国家“973”资助项目(2006CB100106); 渭南师范学院资助项目(12YKZ063)。

收稿日期:2012-12-13

[14] 李春俭. 植物激素在顶端优势中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(6): 401-406.

[15] Fujita M, Fujita Y, Noutoshi, et al. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses; a current view from the points of convergence in the stress signaling networks[J]. Curr Opin Plant Biol, 2006, 9(4): 436-442.

[16] Li C J, Bangerth F. Stimulatory Effect of Cytokinins and Interaction

with IAA on the Release of Lateral Buds of *Pea* Plants from Apical Dominance [J]. Plant Physiol, 2003, 160(9): 1059-1063.

[17] 徐福乐, 罗立津. ABA 对作物种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 福建农业科技, 2007(6): 69-71.

[18] 刘红娟, 刘洋, 刘琳. 脱落酸对植物抗逆性影响的研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(6): 7-9.

Effects of Applying Exogenous Plant Hormone on Lateral Bud Growth of *Salvia splendens*

ZHI Li-ting¹, HONG Pei-pei², CHEN Hong-wei², WANG Hong-li¹, LIU Ke-feng²

(1. College of Landscape, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206; 2. College of Urban and Rural Development, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

Abstract: Taking *Salvia splendens* ‘Cailinghong’ and its wild type as test materials, the effects of applying exogenous auxin (IAA) and abscisic acid (ABA) on lateral bud growth of ‘Cailinghong’ and effects of exogenous trans-zeatin-riboside (ZR) and zeatin (ZT) on lateral bud growth of *Salvia splendens* wild type were studied. The objective was to explore ‘Cailinghong’ loss of apical dominance, and its low ball plant type formation mechanism. The results showed that ‘Cailinghong’ seedlings lateral bud growth would be inhibited when applying exogenous IAA and ABA before lateral bud sprouting. And lateral bud growth would be promoted when applying exogenous IAA and ABA after lateral bud sprouting. *Salvia splendens* wild type seedlings lateral bud growth would be promoted both when exogenous ZR and ZT applying on lateral bud before and after sprouting. So it could conclude that ‘Cailinghong’ plant formation was associated with plant hormone.

Key words: plant hormone; *Salvia splendens*; lateral bud growth

在草坪草转基因方面也在朝着多基因整合效应的方向进行发展。另外,结合当地的实际情况,对转基因草坪草进行耐盐性鉴定也具有很重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为转基因高羊茅“红宝石”、转多基因黑麦草“玲珑”。

转多基因高羊茅“红宝石”转入基因为:SOS1,SOS2,SOS3,CBL10。转多基因黑麦草“玲珑”转入基因为:ICE1,LOS5,CBF3,ABAR,NCED3。多基因植物表达载体由中国农业大学生物学院王学臣老师实验室惠赠。

1.2 试验方法

材料采集于宁夏西大滩(盐碱地)试验基地,试验土壤的盐碱化度为 32%、土壤盐分为 0.4%。

随机选取独立来源的草坪草品种“红宝石”3 个株系和“玲珑”4 个株系的叶片,对照和转基因材料各做 3 次重复,应用相关生理生化试验进行检测。分别测定了细胞膜的透性,丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、类胡萝卜素(Car)含量。主要参照植物生理学实验指导^[3]和植物生理生化实验原理和技术^[4]。

1.3 数据分析

利用 SPSS 19.0 软件对试验数据进行方差分析,用 LSD 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 转多基因草坪草相对电导率的变化

相对电导率反映细胞膜在渗透胁迫下受到伤害的程度,是判断细胞膜在逆境胁迫下是否具有生理活性的重要生理指标之一。相对电导率越低,表明细胞质电解液外渗的越少,细胞膜受到破坏的程度越低,细胞受到的伤害越小。

由图 1 可知,在逆境条件下高羊茅植株当中,转基因植株和对照植株的差异不显著。这可能是由于高羊茅植株本身就具有较强的耐盐抗旱能力,因此所表现出的差异不显著。由图 2 可知,在逆境条件下黑麦草转基因植株和对照植株存在显著差异,说明黑麦草“玲珑”转基因株系在逆境胁迫条件下其细胞膜能保持比对照植株更强的稳定性。

2.2 转多基因草坪草丙二醛(MDA)含量的变化

在逆境胁迫下,植物体内活性氧会大量增加,这将会引发膜脂过氧化作用^[5]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的主要产物之一,它可与细胞膜上的蛋白质、酶等结合、交联使之失活,从而破坏生物膜的结构与功能,对许多生物大分子均有破坏作用^[6]。一般情况下,MDA 的含量与植物的抗逆性呈负相关,抗性强的品种 MDA 含

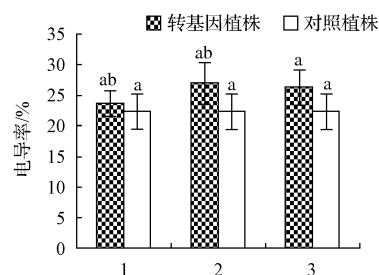


图 1 高羊茅相对电导率的变化

Fig. 1 The changes of relative conductivity of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi'

注:小写字母为表示在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$); $F(0.05) = 4.07$ 。下同。

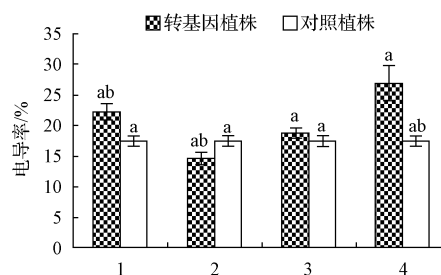


图 2 黑麦草相对电导率的变化

Fig. 2 The changes of relative conductivity of *Lolium perenne* 'Linglong'

量低,反之则高。MDA 含量可作为判断植物在逆境下抗性强弱的指标。

由图 3 可知,在逆境条件下转基因高羊茅植株所含的 MDA 要比对照植株少,存在显著差异,其中 1、2 转基因株系与对照植株存在显著差异,第 3 植株与对照植株差异不明显,这可能是由于株系间差异造成的。由图 4 可知,在逆境条件下黑麦草转基因植株体内的 MDA 的含量明显少于对照植株,因此其与对照植株存在显著差异,这充分表明了黑麦草转基因植株的抗旱耐盐性得到了显著增强。

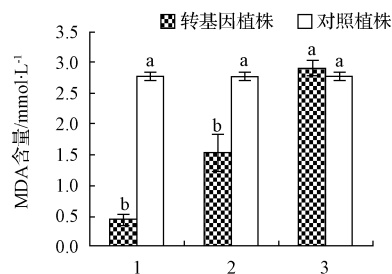


图 3 高羊茅 MDA 含量的变化

Fig. 3 The changes of MDA content of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi'

2.3 转多基因草坪草超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

SOD 是植物体内活性氧自由基的清除酶,主要清除

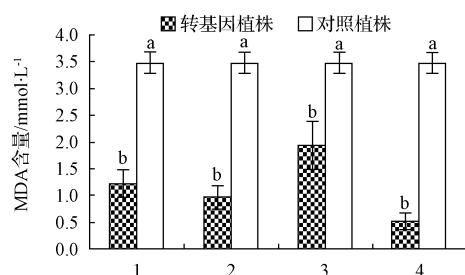


图4 黑麦草MDA含量的变化

Fig. 4 The changes of MDA content of *Lolium perenne* 'Linglong'

超氧自由基,在植物遭受干旱胁迫时,通常依靠其活性的增强来清除积累的超氧自由基,维持活性氧的代谢平衡,从而减缓自由基对细胞膜系统造成的伤害,进而使植物在一定程度上忍受、抵抗干旱胁迫^[7-8]。因此,SOD是植物重要的抗旱保护酶,可作为抗旱的生理指标。

由图5可知,在逆境条件下高羊茅的转基因植株和对照植株的差异有一定区别,对照植株与第1、2转基因株系存在显著差异,第3株系与对照植株差异不显著。由图6可知,而在逆境条件下的黑麦草转基因植株前3株与对照植株相比存在显著差异,但是第4植株与对照植株呈负相关,这与理论不符,可能是由于在试验过程中由于一些不确定因素所造成的,总体上讲,转基因植株抗旱耐盐能力要强于对照植株。

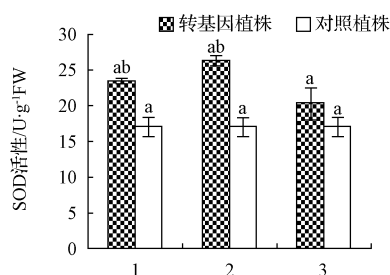


图5 高羊茅SOD活性的变化

Fig. 5 The changes of SOD content of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi'

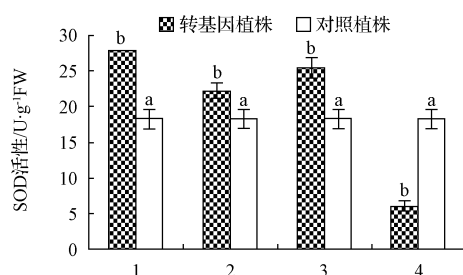


图6 黑麦草SOD活性的变化

Fig. 6 The changes of SOD content of *Lolium perenne* 'Linglong'

2.4 转多基因草坪草过氧化物酶(POD)活性的变化

过氧化物酶(POD)是植物体内保护酶系统的三大保护酶之一,它是清除活性氧自由基的第2步,催化 H_2O_2 生成无害的 H_2O 和 O_2 ,协同SOD清除活性氧,减轻质膜的伤害。一般认为,水分胁迫下,POD活性越高,植物抗旱耐盐性越强。

由图7可知,在逆境条件下高羊茅转基因3个植株与对照植株相比都存在显著差异,说明在这3个株系中POD保护酶能在干旱、盐碱的环境中保持较高的活性,对植株起到保护作用。由图8可知,在逆境条件下黑麦草转基因4个植株和对照植株在不同植株之间的差异也有一定区别,1、2转基因植株与对照植株相比存在显著差异,说明这2个植株在保护膜系统方面的能力比对照植株较强,而3、4转基因植株与对照植株差异不显著。

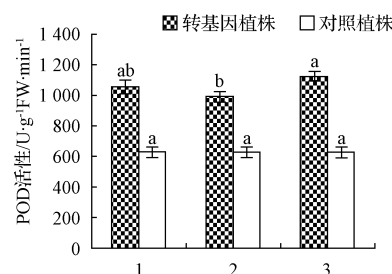


图7 高羊茅POD活性的变化

Fig. 7 The changes of POD content of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi'

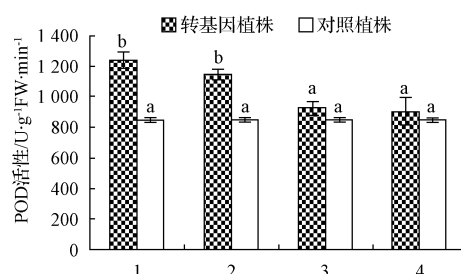


图8 黑麦草POD活性的变化

Fig. 8 The changes of POD content of *Lolium perenne* 'Linglong'

2.5 转多基因草坪草类胡萝卜素(Car)的变化

在植物体内,除了抗氧化酶系统外,还有其它一些抗氧化物质,它们一样能有效的清除活性氧,这些物质均以相当高的浓度存在于叶绿体中^[9],而类胡萝卜素(Car)就是其中重要的一种。多数研究表明,在逆境中,高浓度的Car能协助抗氧化酶系统,维持植物体内活性氧平衡,保护细胞膜结构,使植物免遭逆境损伤。一般情况下,抗性较强的品种其体内Car的含量较高。

由图9可知,在逆境条件下高羊茅转基因植株的Car浓度高于对照植株,说明干旱、盐胁迫条件下有利于Car的积累。由图10可知,在逆境条件下的黑麦草转基因

因植株的 Car 浓度高于对照植株,但是转基因植株中的第 4 株与对照植株呈负相关,这与理论不符,可能是由于在试验过程中由于一些不确定因素所造成的,总体上讲,转基因植株的 Car 浓度高于对照植株,说明转基因植株对于细胞膜的保护强于对照植株。

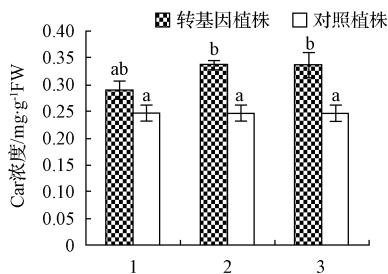


图 9 高羊茅 Car 含量的变化

Fig. 9 The changes of Car content of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi'

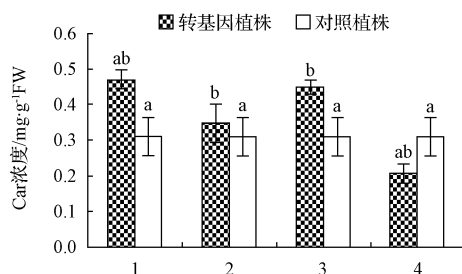


图 10 黑麦草 Car 含量的变化

Fig. 10 The changes of Car content of *Lolium perenne* 'Linglong'

3 结论与讨论

该试验结果表明,在干旱盐碱胁迫条件下,转基因植株与对照植株相比具有更强的抗旱、耐盐能力,证明了所导入的基因已表达,并且显著提高了草坪草的抗盐性。

由于野生型高羊茅本身具有一定的耐盐性,因此有些生理生化指标差异不显著。但是在其它的研究中发

现,高羊茅的转基因生理生化指标差异显著^[10]。分析原因可能是:一方面,导入的基因不同以及和前人所选用的逆境条件不同所导致的;另一方面,可能存在草坪草转化过程中部分基因片段在个别转基因植株中错配导致基因无法表达,使得基因表达调控受到一定程度的影响,表现结果明显。黑麦草的野生型本身不具有耐盐性,其转基因型与对照相比均存在差异。另外,在黑麦草转基因的个别植株的部分生理指标也出现了与实际不符的现象,排除人为因素的影响,可能是由于个体之间差异引起的。但是分析是否跟基因的导入过程中发生丢失、基因沉默等现象有关还有待于进一步的研究证明。在试验中,也发现了高羊茅“红宝石”1、2 植株和黑麦草“玲珑”1、2 植株的各项生理指标均与对照有显著差异。今后可以对这几个植株进行进一步的筛选。

该研究初步建立了转基因草坪草的耐盐性鉴定体系,筛选了耐盐性较好的转基因株系,为后续草坪草的育种工作奠定了一定的基础。

参考文献

- [1] 石元春. 盐碱土改良[M]. 北京:农业出版社,1986.
- [2] 汤巧香,蒋桂香. 高羊茅草坪草的耐盐性鉴定研究[J]. 山东林业科技,2009(3):37-38.
- [3] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [4] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [5] 朱诚,曾广文. 4PU230 对水稻叶片衰老与活性氧代谢的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(5):483-488.
- [6] 蒋明义,郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J]. 植物生理学通讯,1996,32(2):144-150.
- [7] 黎裕. 作物抗旱鉴定方法与指标[J]. 干旱地区农业研究,1993,11(1):91-99.
- [8] 曾福礼,张明风,李玉峰. 干旱胁迫下小麦叶片微粒体活性氧自由基的产生及其对膜的伤害[J]. 植物学报,1997,39(12):1105-1109.
- [9] Iturbe-Ormaetxe I, Escuredo P R, Arrese-Igor C, et al. Oxidative damage in pea plants exposed water deficit or paraquat[J]. Plant Physiol, 1998, 116: 173-181.
- [10] 吴关庭,陈锦清,胡张华,等. 根瘤农杆菌介导转化获得耐逆性增强的高羊茅转基因植株[J]. 中国农业科学,2005,38(12):2395-2402.

Identification on the Salt Tolerance of Transgenic Turfgrass

WEI Rui¹, MA Dong-mei², XU Xing²

(1. Weinan Normal University, Weinan, Shaanxi 714000; 2. College of Agricultural, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Taking transgenic turfgrass of *Festuca arundinacea* 'Hongbaoshi' and *Lolium perenne* 'Linglong' as test materials, the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), malondialdehyde (MDA), carotenoid (Car), drought and salt resistance physiological and biochemical indexes were measured, the salt tolerance identification was researched. The results showed that in the salt stress conditions, there were significant difference on the activities of SOD and POD, MDA and Car content etc. between transgenic plantlet and control ones. The conclusion indicated that the salt tolerance of the transgenic plant was obviously enhanced.

Key words: turfgrass; transgenic; salt tolerance