

干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’ 叶片光合及叶绿素荧光特性的比较

刘 彧^①, 王 琳^①, 杨伊如, 何 淼, 周蕴薇^②

(东北林业大学园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 对干旱胁迫 0~15 d 露地菊 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) 品种‘纽 9717’ (‘Niu 9717’) 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系 (CINAC9-5、CINAC9-6 和 CINAC9-13 株系) 叶片的叶绿素含量、光合参数和叶绿素荧光参数进行了比较和分析。结果表明: 干旱胁迫 0~15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量总体上呈先升高后降低的变化趋势。与干旱胁迫 0 d 相比较, 除初始荧光 (F_o) 和非光化学淬灭系数 (qN) 外, 干旱胁迫 15 d 时 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片的叶绿素含量、净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs)、蒸腾速率 (Tr)、水分利用效率 (WUE)、最大荧光 (F_m)、可变荧光 (F_v)、PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m)、PS II 潜在光化学活性 (F_v/F_o) 和光化学淬灭系数 (qP) 的降幅均小于野生型。总体上看, 干旱胁迫 15 d, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片的叶绿素含量、Pn、Gs、Tr、WUE、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 、 qP 和 qN 值显著高于野生型, 而 F_o 值显著低于野生型。研究结果显示: 将 *CINAC9* 基因转入露地菊品种‘纽 9717’可以增强该品种对干旱胁迫的耐受性, 其中, CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系对干旱胁迫的耐受性较强, CINAC9-13 株系对干旱胁迫的耐受性较弱, 但均强于野生型。

关键词: 露地菊品种‘纽 9717’; *CINAC9* 基因; 干旱胁迫; 光合特性; 叶绿素荧光特性

中图分类号: Q945.11; Q945.78; S682.1+1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0041-08
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.06

Comparison on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) with *CINAC9* gene under drought stress LIU Yu^①, WANG Lin^①, YANG Yiru, HE Miao, ZHOU Yunwei^② (College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 41-48

Abstract: Chlorophyll content, photosynthetic parameters, and chlorophyll fluorescence parameters of leaves of wild type and three transgenic lines with *CINAC9* gene (line CINAC9-5, CINAC9-6, and CINAC9-13) of cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) under drought stress for 0-15 d were compared and analyzed. The results show that under drought stress for 0-15 d, chlorophyll content in leaves of wild type and three transgenic lines with *CINAC9* gene shows a tendency to first increase and then decrease in general. Compared with drought stress for 0 d, except initial fluorescence (F_o) and non-photochemical quenching coefficient (qN), the decreasing ranges of chlorophyll content, net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs), transpiration rate (Tr), water use efficiency (WUE), the maximum fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v), the maximum photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), potential photochemical activity of PS II (F_v/F_o), and photochemical quenching coefficient (qP) of leaves of three transgenic lines with *CINAC9* gene under drought stress for 15 d are all smaller than those of leaves of wild type. In

收稿日期: 2018-03-15

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(2572017BA08)

作者简介: 刘 彧(1991—),女,山东文登人,博士研究生,主要从事园林植物种质资源方面的研究。

王 琳(1993—),女,吉林长春人,硕士研究生,主要从事园林植物种质资源方面的研究。

①共同第一作者

②通信作者 E-mail: dlzhyw@nefu.edu.cn

general, under drought stress for 15 d, chlorophyll content, Pn, Gs, Tr, WUE, F_m , F_v , F_v/F_m , F_v/F_o , qP , and qN values of leaves of three transgenic lines with *CINAC9* gene are significantly higher than those of leaves of wild type, while their F_o value is significantly lower than that of leaves of wild type. It is suggested that introduction of *CINAC9* gene into cultivar 'Niu 9717' of ground-grow chrysanthemum can enhance tolerance of this cultivar to drought stress, in which, drought stress tolerance of line CINAC9-5 and CINAC9-6 is relatively strong, while that of line CINAC9-13 is relatively weak, but all of them are stronger than that of wild type.

Key words: cultivar 'Niu 9717' of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.); *CINAC9* gene; drought stress; photosynthetic characteristics; chlorophyll fluorescence characteristics

露地菊 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) 具有植株低矮、花期长、花色丰富、抗性强及管理粗放等特点,是华北和东北地区园林绿化建设中重要的地被植物材料^[1]。干旱对露地菊的生长和观赏价值有严重影响,因此,提高露地菊的适应性,拓宽其应用区域,尤其在土壤瘠薄和干旱地区的绿化具有重要意义。

NAC 转录因子是一类家族庞大且广泛存在的植物特异性转录因子,是具有多种生物功能的调控蛋白。NAC 基因家族编码的蛋白质在 N 端均含有一段约 150 个氨基酸组成的保守区域, C 端是转录调控区,具有促进或抑制转录活性的功能^[2-3]。已有研究表明:一些 NAC 转录因子可以被至少 1 种非生物胁迫诱导并应答^[4]。从黄花蒿 (*Artemisia annua* Linn.) 中克隆的 *AaNAC1* 基因可能是应激信号通路的关键调节器,当 *AaNAC1* 基因在拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 中过表达时,转基因拟南芥对于干旱胁迫的耐受性增强,并且对灰葡萄孢的抗性增强^[5];过表达 *TaNAC2* 基因的转基因拟南芥对 NaCl 胁迫和干旱胁迫的抗性均有所提高^[6];过表达 *PtNAC72* 基因的转基因烟草 (*Nicotiana tabacum* Linn.) 也表现出对于干旱胁迫耐受性增强的特征^[7]。但目前尚未见有关转 NAC 基因露地菊抗旱性方面的评价研究。

植物中能量的转化和合成主要通过光合作用来完成,植株的生长情况与光合速率有直接关联。一方面,光合速率影响植物的能量转化和物质累积;另一方面,植物的生长情况,如生长环境是否适宜,是否受生物及非生物胁迫,也会在光合指标中得到体现。叶绿素荧光与光合作用关系密切,以叶绿素为探针,可以快速并更加敏感地探测植物的光合功能情况^[8]、生长和生理状况以及生物胁迫对植株内在的影响^[9-10]。水分变化对光合作用的影响十分明显,水分缺失情况下植物光合效率低,不能及时消耗吸收的光

能,从而损伤光合器官,致使光合电子传递链和 PS II 反应中心被破坏^[11-13]。

作者所在课题组的前期研究中将 *CINAC9* 基因转入露地菊品种 '纽 9717' ('Niu 9717')^[14],本研究对露地菊品种 '纽 9717' 的野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系进行干旱胁迫处理,并对不同干旱胁迫时间叶片的叶绿素含量以及光合和叶绿素荧光特性进行比较,研究 *CINAC9* 基因的转入对露地菊品种 '纽 9717' 抗旱性的影响,以期为扩大露地菊的园林应用范围提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为作者所在实验室保存的露地菊品种 '纽 9717' 的野生型 (WT) 和 3 个转 *CINAC9* 基因株系 (CINAC9-5、CINAC9-6 和 CINAC9-13 株系) 的组培苗。待组培苗根长约 1.5 cm 时,移至装有草炭土和蛭石 (体积比 1:1) 的混合培养基质中。人工气候培养室温度 21 °C ~ 25 °C,空气相对湿度 30% ~ 40%。经过 6 周培养,植株长出 6~7 对真叶后,将培养基质浇至水分饱和,然后采取自然失水的方法对野生型以及 CINAC9-5、CINAC9-6 和 CINAC9-13 株系进行干旱胁迫处理,其中,野生型为对照。对于干旱胁迫 0、5、10 和 15 d 4 种材料植株的形态进行拍照,同时进行取样,然后对叶片的叶绿素含量以及光合和叶绿素荧光参数进行测定。

1.2 方法

1.2.1 叶绿素含量的测定 每种材料随机选取 3 株,每株选择植株中部生长良好且无病虫害的叶片 5 枚,用铝箔包好,经液氮速冻后置于 -80 °C 超低温冰箱保存。叶片中叶绿素含量参考 Wang 等^[15] 的方法进行测定。重复测定 3 次。

1.2.2 光合参数的测定 于晴朗无云日的上午 9:00—11:00, 每种材料随机选取 3 株, 每株选择植株中上部生长良好且无病虫害的功能叶 1 枚并标记, 分别于干旱胁迫 0、5、10 和 15 d 使用 LI-6400XT 便携式光合仪(美国 LI-COR 公司)测定各植株叶片在光照强度 $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、蒸腾速率(Tr)和水分利用效率(WUE)。每次测定重复读数 3 次, 结果取平均值。

1.2.3 叶绿素荧光参数的测定 于晴朗无云日的上午 9:00—11:00, 每种材料随机选取 3 株, 每株选择植株中上部生长良好且无病虫害的功能叶 1 枚并标记, 分别于干旱胁迫 0、5、10 和 15 d 后暗处理约 12 h, 使用 LI-6400XT 便携式光合仪, 加载荧光 LCF 配置系统, 采用叶室荧光测定各植株叶片的初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、可变荧光(F_v)、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 潜在光化学活性(F_v/F_0)、光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(qN)。每次测定重复读数 3 次, 结果取平均值。

1.3 数据统计处理

采用 EXCEL 2007 和 SPSS 19.0 统计分析软件对实验数据进行处理和分析。

2 结果和分析

2.1 干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片中叶绿素含量的比较

不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片中叶绿素含量见表 1。由表 1 可见: 干旱胁迫 0、5、10 和 15 d, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量高于或显著 ($P < 0.05$) 高于野生型。干旱胁迫 0~15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量总体上呈先升高后降低的变化趋势, 其中, 野生型叶片中叶绿素含量于干旱胁迫 5 d 达到峰值, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量均于干旱胁迫 10 d 达到峰值。干旱胁迫 0 d, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量显著高于野生型; 干旱胁迫 5 d, 野生型以及 *CINAC9*-6 和 *CINAC9*-13 株系叶片中叶绿素含量较干旱胁迫 0 d 有所升高, 而 *CINAC9*-5 株系叶片中叶绿素含量略有降低; 干旱胁迫 10 d, 野生型叶片中叶绿素含量较干旱胁迫 5 d 降低, 而 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量略有升高; 干旱胁迫 15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基

表 1 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片中叶绿素含量的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Comparison on chlorophyll content in leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) with *CINAC9* gene at different drought stress times ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片中叶绿素含量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Chlorophyll content in leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	2.09±0.32c	2.15±0.20b	1.90±0.16c	1.55±0.22d
<i>CINAC9</i> -5	2.30±0.11a	2.25±0.27ab	2.33±0.16bc	1.98±0.15b
<i>CINAC9</i> -6	2.20±0.21b	2.30±0.33ab	2.48±0.19a	2.11±0.21a
<i>CINAC9</i> -13	2.23±0.24b	2.31±0.17a	2.40±0.15b	1.74±0.21c

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

²⁾ WT: 野生型 Wild type; *CINAC9*-5, *CINAC9*-6, *CINAC9*-13: 转 *CINAC9* 基因株系 Transgenic lines with *CINAC9* gene.

因株系叶片中叶绿素含量均较干旱胁迫 10 d 明显降低, 且 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片中叶绿素含量显著高于野生型。

2.2 干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片光合参数的比较

不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片的光合参数见表 2。由表 2 可见: 干旱胁迫 0~15 d, 野生型叶片净光合速率(Pn)持续降低, 而 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Pn 值均呈先升高后降低的变化趋势, 且均于干旱胁迫 5 d 达到最高值。干旱胁迫 15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Pn 值均降到最低, 其中, 野生型叶片 Pn 值显著 ($P < 0.05$) 低于 3 个转 *CINAC9* 基因株系。总体上看, 不同干旱胁迫时间 *CINAC9*-5 株系叶片 Pn 值最高, 野生型叶片 Pn 值最低, 二者间差异达到显著水平。

由表 2 还可见: 干旱胁迫 0~15 d, 野生型以及 *CINAC9*-5 和 *CINAC9*-13 株系叶片气孔导度(Gs)呈先升高后降低的变化趋势, *CINAC9*-6 株系叶片 Gs 值呈逐渐降低的变化趋势。干旱胁迫 0 d, *CINAC9*-6 株系叶片 Gs 值显著高于野生型以及 *CINAC9*-5 和 *CINAC9*-13 株系; 干旱胁迫 5 d, *CINAC9*-6 株系叶片 Gs 值较干旱胁迫 0 d 降低, 而野生型以及 *CINAC9*-5 和 *CINAC9*-13 株系叶片 Gs 值略有升高; 干旱胁迫 10 和 15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Gs 值均不同程度降低, 其中, 野生型叶片 Gs 值的降幅最大, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Gs 值显著高于野生型。

由表 2 还可见:干旱胁迫 0~15 d,野生型和 CINAC9-13 株系叶片蒸腾速率(Tr)呈逐渐降低的变化趋势,CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片 Tr 值呈波动降低的变化趋势。干旱胁迫 0 d,CINAC9-13 株系叶片 Tr 值最低,CINAC9-6 株系叶片 Tr 值最高,二者间差异显著;干旱胁迫 5 d,野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Tr 值较干旱胁迫 0 d 不同程度降低;干旱胁迫 10 d,CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片 Tr 值较干旱胁迫 5 d 略有回升,而野生型和 CINAC9-13 株系叶片 Tr 值继续降低;干旱胁迫 15 d,野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Tr 值较干旱胁迫 10 d 明显降低,其中,3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 Tr 值显著高于野生型。

由表 2 还可见:干旱胁迫 0~15 d,野生型叶片水分利用效率(WUE)呈逐渐降低的变化趋势,3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 WUE 值呈先升高后降低的变

化趋势。干旱胁迫 0 d,CINAC9-13 株系叶片 WUE 值最高,CINAC9-6 株系叶片 WUE 值最低,二者间差异显著;干旱胁迫 5 d,CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片 WUE 值较干旱胁迫 0 d 明显升高,CINAC9-13 株系叶片 WUE 值略有升高,野生型叶片 WUE 值略有降低;干旱胁迫 10 d,野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 WUE 值较干旱胁迫 5 d 不同程度降低,其中,CINAC9-5 株系的降幅最大;干旱胁迫 15 d,野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 WUE 值继续降低,其中,野生型叶片 WUE 值最低。

3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 P_n 、 G_s 、 Tr 和 WUE 值的降幅均小于野生型。总体上看,CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片的 P_n 、 G_s 和 Tr 值显著高于野生型和 CINAC9-13 株系,且 CINAC9-5 株系叶片的 WUE 值较高。

表 2 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片光合参数的比较($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 2 Comparison on photosynthetic parameters of leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) with *CINAC9* gene at different drought stress times ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的净光合速率/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ Net photosynthetic rate of leaves at different drought stress times				不同干旱胁迫时间叶片的气孔导度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ Stomatal conductance of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	6.62±0.21c	5.91±0.21d	4.45±0.25c	2.47±0.16d	0.167±0.012b	0.169±0.003b	0.129±0.016c	0.067±0.010d
CINAC9-5	8.54±0.15a	8.92±0.12a	7.57±0.17a	4.67±0.24a	0.168±0.010b	0.172±0.017a	0.148±0.013a	0.115±0.014a
CINAC9-6	7.94±0.26b	8.05±0.15b	7.57±0.43a	4.37±0.21b	0.179±0.010a	0.157±0.006c	0.148±0.015a	0.107±0.012b
CINAC9-13	6.43±0.25cd	7.76±0.16c	5.57±0.36b	3.97±0.43c	0.163±0.009bc	0.169±0.011b	0.137±0.017b	0.087±0.010c

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的蒸腾速率/ $(\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ Transpiration rate of leaves at different drought stress times				不同干旱胁迫时间叶片的水分利用效率/ $(\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ Water use efficiency of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	2.34±0.16c	2.13±0.05b	1.86±0.11c	1.12±0.13d	2.82±0.21b	2.77±0.17c	2.39±0.15c	2.20±0.18ab
CINAC9-5	2.93±0.06b	2.22±0.09b	2.52±0.12b	1.88±0.04a	2.91±0.13ab	4.01±0.15a	3.01±0.30a	2.48±0.24a
CINAC9-6	3.09±0.09a	2.57±0.08a	2.99±0.04a	1.76±0.06b	2.57±0.17c	3.13±0.14b	2.53±0.32b	2.48±0.14a
CINAC9-13	2.17±0.12d	1.82±0.06c	1.56±0.17d	1.46±0.07c	2.97±0.26a	3.13±0.19b	2.53±0.15b	2.48±0.26a

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

²⁾ WT: 野生型 Wild type; CINAC9-5, CINAC9-6, CINAC9-13: 转 *CINAC9* 基因株系 Transgenic lines with *CINAC9* gene.

2.3 干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片叶绿素荧光参数的比较

2.3.1 叶片初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)和可变荧光(F_v)的比较 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片 F_0 、 F_m 和 F_v 值见表 3。由表 3 可见:干旱胁迫 0~15 d,野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_0 值均呈先降低后升高的变化趋势;野生型和 CINAC9-13 株系叶片 F_m 和 F_v 值呈逐渐降低的变化趋势,CINAC9-5 株系叶片 F_m 和 F_v 值基本呈先降低后升高的变化趋势,CINAC9-6 株

系叶片 F_m 和 F_v 值呈“降低—升高—降低”的变化趋势。干旱胁迫 15 d,野生型叶片 F_0 值显著($P < 0.05$) 高于 3 个转 *CINAC9* 基因株系,而其叶片 F_m 和 F_v 值显著低于 3 个转 *CINAC9* 基因株系。在整个干旱胁迫过程中,CINAC9-6 株系叶片 F_m 和 F_v 值总体上显著高于野生型以及 CINAC9-5 和 CINAC9-13 株系;其叶片 F_0 值在干旱胁迫 0~15 d 总体上显著高于 CINAC9-5 株系,而其叶片 F_0 值仅在干旱胁迫初期高于野生型和 CINAC9-13 株系,在干旱胁迫后期明显低于野生型和 CINAC9-13 株系。

表3 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片初始荧光 (F_o)、最大荧光 (F_m) 和可变荧光 (F_v) 的比较 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 3 Comparison on initial fluorescence (F_o), the maximum fluorescence (F_m), and variable fluorescence (F_v) of leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) with *CINAC9* gene at different drought stress times ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的 F_o 值 F_o value of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	206.5±7.7b	194.1±5.5a	200.6±3.9ab	248.6±4.3a
CINAC9-5	210.8±5.7b	191.6±3.7b	167.7±13.4c	203.5±7.0c
CINAC9-6	214.9±8.4a	195.9±3.5a	180.4±10.4b	217.1±7.5bc
CINAC9-13	209.4±3.4b	190.0±2.0b	206.2±4.3a	224.3±6.6b
材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的 F_m 值 F_m value of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	1 029.2±55.3bc	975.1±22.4b	923.6±37.3c	794.6±69.6d
CINAC9-5	1 036.0±23.8b	960.9±27.8c	937.9±58.8bc	956.7±38.1b
CINAC9-6	1 054.1±46.3a	998.9±56.2a	1 076.3±26.9a	986.4±20.8a
CINAC9-13	1 013.7±10.4c	986.9±38.5ab	956.6±25.0b	841.5±45.6c
材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的 F_v 值 F_v value of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	822.7±58.2b	781.0±29.0b	723.0±19.8d	546.0±68.9d
CINAC9-5	825.3±69.5b	769.3±25.7c	770.2±69.8b	753.2±37.3b
CINAC9-6	839.2±28.7a	803.0±46.1a	895.9±57.5a	769.2±37.6a
CINAC9-13	804.4±39.8c	796.9±51.5ab	750.4±35.7c	617.2±28.6c

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

²⁾ WT: 野生型 Wild type; CINAC9-5, CINAC9-6, CINAC9-13: 转 *CINAC9* 基因株系 Transgenic lines with *CINAC9* gene.

2.3.2 叶片 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m) 和 PS II 潜在光化学活性 (F_v/F_o) 的比较 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值见表 4。由表 4 可见: 干旱胁迫 0~15 d,

野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值均呈先升高后降低的变化趋势。干旱胁迫 0 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 值在 0.79 左右, F_v/F_o 值在 3.9 左右; 干旱胁迫 5 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值较干旱胁迫 0 d 略有升高; 干旱胁迫 10 d, 野生型和 CINAC9-13 株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值较干旱胁迫 5 d 降低, 而 CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值继续升高; 干旱胁迫 15 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值均较干旱胁迫 10 d 降低。总体上看, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值的降幅小于野生型。
 2.3.3 叶片光化学淬灭系数 (qP) 和非光化学淬灭系数 (qN) 的比较 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片 qP 和 qN 值见表 5。由表 5 可见: 干旱胁迫 0~15 d, 野生型叶片 qP 值呈逐渐降低的变化趋势, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值呈先降低后升高的变化趋势。干旱胁迫 0 d, CINAC9-6 株系叶片 qP 值较高, CINAC9-5 株系叶片 qP 值较低, 野生型和 CINAC9-13 株系叶片 qP 值居中; 干旱胁迫 5 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值较干旱胁迫 0 d 不同程度降低, 其中, CINAC9-13 株系的降幅较大; 干旱胁迫 10 d 时, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值继续降低, 其中, 野生型的降幅最大; 干旱胁迫 15 d, 野生型叶片 qP 值继续降低, 而 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值有所升高, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值显著高于野生型。

由表 5 还可见: 干旱胁迫 0~15 d, 野生型叶片 qN 值呈先降低后升高的变化趋势, CINAC9-5 和 CINAC9-13

表4 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m) 和 PS II 潜在光化学活性 (F_v/F_o) 的比较 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 4 Comparison on the maximum photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m) and potential photochemical activity of PS II (F_v/F_o) of leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) with *CINAC9* gene at different drought stress times ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的 F_v/F_m 值 F_v/F_m value of leaves at different drought stress times				不同干旱胁迫时间叶片的 F_v/F_o 值 F_v/F_o value of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
WT	0.799±0.032a	0.801±0.045c	0.783±0.016c	0.687±0.007c	3.98±0.25a	4.02±0.13c	3.60±0.22c	2.20±0.19d
CINAC9-5	0.797±0.025b	0.801±0.027c	0.821±0.022b	0.787±0.015a	3.91±0.28b	4.01±0.17cd	4.59±0.24b	3.70±0.34a
CINAC9-6	0.796±0.048b	0.804±0.020b	0.832±0.034a	0.780±0.035ab	3.91±0.30b	4.10±0.26b	4.97±0.14a	3.54±0.23b
CINAC9-13	0.793±0.051c	0.808±0.009a	0.785±0.041c	0.733±0.036c	3.84±0.15c	4.19±0.11a	3.64±0.18c	2.75±0.26c

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

²⁾ WT: 野生型 Wild type; CINAC9-5, CINAC9-6, CINAC9-13: 转 *CINAC9* 基因株系 Transgenic lines with *CINAC9* gene.

株系叶片 qN 值呈逐渐升高的变化趋势, CINAC9-6 株系叶片 qN 值呈先升高后降低的变化趋势。干旱胁迫 0 d, CINAC9-6 和 CINAC9-13 株系叶片 qN 值较高; 干旱胁迫 5 d, 野生型叶片 qN 值较干旱胁迫 0 d 略有降低, 而 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qN 值略有升高; 干旱胁迫 10 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因

株系叶片 qN 值较干旱胁迫 5 d 不同程度升高, 其中, CINAC9-6 株系的升幅最大; 干旱胁迫 15 d, 野生型以及 CINAC9-5 和 CINAC9-13 株系叶片 qN 值较干旱胁迫 10 d 明显升高, 而 CINAC9-6 株系叶片 qN 值略有降低, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qN 值显著高于野生型。

表 5 不同干旱胁迫时间转 *CINAC9* 基因露地菊品种‘纽 9717’叶片光化学淬灭系数 (qP) 和非光化学淬灭系数 (qN) 的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 5 Comparison on photochemical quenching coefficient (qP) and non-photochemical quenching coefficient (qN) of leaves of transgenic cultivar ‘Niu 9717’ of ground-grow chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) with *CINAC9* gene at different drought stress times ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

材料 ²⁾ Material ²⁾	不同干旱胁迫时间叶片的 qP 值 qP value of leaves at different drought stress times				不同干旱胁迫时间叶片的 qN 值 qN value of leaves at different drought stress times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
	WT	0.657±0.042b	0.566±0.016bc	0.502±0.033d	0.488±0.036c	0.521±0.031c	0.476±0.014c	0.559±0.033c
CINAC9-5	0.644±0.035c	0.584±0.031b	0.554±0.037b	0.608±0.037ab	0.504±0.023d	0.536±0.033b	0.603±0.018b	0.723±0.066a
CINAC9-6	0.668±0.016a	0.603±0.023a	0.574±0.029a	0.631±0.038a	0.571±0.014a	0.583±0.022a	0.717±0.037a	0.681±0.016b
CINAC9-13	0.652±0.027b	0.555±0.019c	0.533±0.031c	0.600±0.028b	0.555±0.028b	0.571±0.045ab	0.591±0.012b	0.718±0.011ab

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

²⁾ WT: 野生型 Wild type; CINAC9-5, CINAC9-6, CINAC9-13: 转 *CINAC9* 基因株系 Transgenic lines with *CINAC9* gene.

3 讨 论

干旱胁迫影响植物的光合色素、光系统、电子传递系统以及 CO_2 还原途径等, 降低植物的整体光合能力^[16]。植物具有一系列调控机制以增强对干旱胁迫的耐受性, 主要包括增加扩散阻力、减少水分丧失、扩大根系吸收水分范围和效率以及降低叶片蒸腾损失^[17]。干旱胁迫过程中, 气孔导度 (G_s) 随叶片水势发生变化, 一定程度上限制 CO_2 进入叶片, 并降低蒸腾作用, 提高水分利用效率 (WUE), 进而影响净光合速率 (P_n)。已有研究表明: 当植株受到干旱胁迫时, 叶片的叶绿素含量、 G_s 值、 P_n 值、蒸腾速率 (Tr) 和干质量不同程度降低^[18-19], 其中, 叶绿素含量的降低导致叶片对光能的吸收能力下降, 光能损失严重^[20]。Tamirisa 等^[21]的研究结果表明: 胁迫条件下, 转基因植株表现出较高的光合速率。本研究结果显示: 干旱胁迫过程中, 露地菊品种‘纽 9717’的野生型以及 CINAC9-5 和 CINAC9-13 株系叶片 G_s 值呈先略有升高后逐渐降低的变化趋势, CINAC9-6 株系叶片 G_s 值呈逐渐降低的变化趋势, 表明植株受到干旱胁迫时对气孔进行了有效调节, 减少叶片水分散失; CINAC9-5 和 CINAC9-6 株系叶片 Tr 值呈波动降低的变化趋势, 野生型和 CINAC9-13 株系叶片 Tr 值持

续降低, 其中野生型的降幅最大; 野生型叶片 P_n 值持续降低, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 P_n 值均先升高后降低, 说明转基因植株在单位时间内同化有机物的能力更强; 野生型叶片 WUE 值也持续降低, 3 个转 *CINAC9* 基因株系叶片 WUE 值呈先升高后降低的变化趋势, 其中, CINAC9-6 株系叶片 WUE 值的变化幅度较小, 说明干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因株系叶片的保水能力和气体交换能力更强, 在水分缺失时能够更有效地调控植株的光合能力。

当植物受到生物或非生物胁迫时光合作用过程中受到的影响及发生的变化都能够通过叶绿素荧光参数反映^[22]。PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m) 表示 PS II 反应中心的最大量子产量, 可体现光反应电子的传递情况, F_v/F_m 值在植物受到逆境胁迫的情况下变化较大^[23]; PS II 潜在光化学活性 (F_v/F_o) 与有活性的 PS II 反应中心数量成正比, 植物在不适宜的环境下生长或受到逆境胁迫时 F_v/F_o 值降低, 说明潜在有活性的 PS II 反应中心被破坏, 影响电子传递过程。 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值直接反映 PS II 反应中心能量产出和捕捉的效率。卢广超等^[24]和 Pavlović 等^[25]的研究结果显示: 干旱胁迫处理下植株的 F_v/F_m 值等叶绿素荧光参数均持续降低。本研究中, 干旱胁迫 0 d, 野生型和 3 个转 *CINAC9* 基因株系间叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值的差异相对较小, 干旱胁迫过程中野生型和

3个转 *CINAC9* 基因株系叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值均表现出先升高后降低的变化趋势, 其中, 野生型叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值总体上较低, 降幅较大, 说明其受到的光抑制较强, 导致光化学效率降低, 光合电子传递效率下降。

光化学淬灭系数 (qP) 表示 PS II 反应中心的开放程度, 且直接体现捕获光子能量用于光化学反应能力。野生型叶片 qP 值在整个干旱胁迫过程中持续降低, 表明 PS II 反应中心大幅度关闭, 3个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qP 值在干旱胁迫 0~10 d 持续降低后在干旱胁迫 15 d 升高, 说明转 *CINAC9* 基因株系在干旱胁迫 15 d 有效调控了能量传递^[26]。非光化学淬灭系数 (qN) 升高, 表明叶片以热耗散的方式消耗过剩激发能, 从而保护光合机构免遭光破坏^[27]。Zhou 等^[28] 认为, 干旱胁迫下番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 叶片 qN 值降低。Mathobo 等^[29] 研究认为, 干旱胁迫下菜豆 (*Phaseolus vulgaris* Linn.) 叶片 qP 和 qN 值总体上呈升高的趋势。本研究中, 野生型叶片 qN 值呈先降低后升高的变化趋势, 3个转 *CINAC9* 基因株系叶片 qN 值总体上呈升高的变化趋势, 表明在干旱胁迫过程中转 *CINAC9* 基因株系能通过热耗散的方式来保护光合器官的能力较佳。

综合研究结果显示: 干旱胁迫下转 *CINAC9* 基因使露地菊品种‘纽 9717’叶片的 P_n 和 WUE 值升高, PS II 反应中心的开放程度和最大光化学效率增大, PS II 反应中心的受损程度减小, 光系统的保护机制增强, 从而增强了露地菊的抗旱性。其中, *CINAC9-5* 和 *CINAC9-6* 株系对于干旱胁迫的耐受性较强, *CINAC9-13* 株系对于干旱胁迫的耐受性较弱, 但均强于野生型。

参考文献:

- [1] 陈发棣, 房伟民, 赵宏波, 等. 菊花新品种: 地被菊系列[J]. 园艺学报, 2005, 32(6): 1167, 1181.
- [2] 李 伟, 韩 蕾, 钱永强, 等. 植物 NAC 转录因子的种类、特征及功能[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(4): 596-606.
- [3] WANG Z, DANE F. NAC (NAM/ATAF/CUC) transcription factors in different stresses and their signaling pathway [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2013, 35: 1397-1408.
- [4] 李小兰, 胡玉鑫, 杨 星, 等. 非生物胁迫相关 NAC 转录因子的结构及功能[J]. 植物生理学报, 2013, 49(10): 1009-1017.
- [5] LV Z, WANG S, ZHANG F, et al. Overexpression of a novel NAC domain-containing transcription factor gene (*AaNAC1*) enhances the content of artemisinin and increases tolerance to drought and *Botrytis cinerea* in *Artemisia annua* [J]. Plant and Cell Physiology, 2016, 57: 1961-1971.
- [6] MAO X, ZHANG H, QIAN X, et al. *TaNAC2*, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63: 2933-2946.
- [7] WU H, FU B, SUN P, et al. A NAC transcription factor represses putrescine biosynthesis and affects drought tolerance [J]. Plant Physiology, 2016, 172: 1532-1547.
- [8] GENTY B, BRIANTAIS J-M, BAKER N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1989, 990: 87-92.
- [9] 冯建灿, 胡秀丽, 毛训甲. 叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用[J]. 经济林研究, 2002, 20(4): 14-18.
- [10] 孙海锋, 战 勇, 魏凌基, 等. 开花期干旱对大豆叶绿素荧光参数的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(2): 61-64.
- [11] 张金政, 张起源, 孙国峰, 等. 干旱胁迫及复水对玉簪生长和光合作用的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(1): 167-176.
- [12] 周 珺, 魏 虹, 吕 茜, 等. 土壤水分对湿地松幼苗光合特征的影响[J]. 生态学杂志, 2012, 31(1): 30-37.
- [13] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(5): 1303-1311.
- [14] 董凤丽. 甘菊 NAC 基因的功能研究及对露地菊花的遗传转化 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学园林学院, 2014: 62-72.
- [15] WANG Y C, GU W R, YE L F, et al. Physiological mechanisms of delaying leaf senescence in maize treated with compound mixtures of DCPTA and CCC [J]. Journal of Northeast Agricultural University (English edition), 2015, 22: 1-15.
- [16] CHAVES M M, FLEXAS J, PINHEIRO C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell [J]. Annals of Botany, 2009, 103: 551-560.
- [17] ASHRAF M, HARRIS P J C. Photosynthesis under stressful environments: an overview [J]. Photosynthetica, 2013, 51: 163-190.
- [18] ORS S, EKINCI M, YILDIRIM E, et al. Changes in gas exchange capacity and selected physiological properties of squash seedlings (*Cucurbita pepo* L.) under well-watered and drought stress conditions [J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2016, 62: 1700-1710.
- [19] GUIDA G, SELLAMI M H, MISTRETTA C, et al. Agronomical, physiological and fruit quality responses of two Italian long-storage tomato landraces under rain-fed and full irrigation conditions [J]. Agricultural Water Management, 2017, 180: 126-135.
- [20] 周传明, 覃德文, 秦武明, 等. 不同干旱条件下香木莲的光合特性[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(7): 47-50.
- [21] TAMIRISA S, VUDEM D R, KHAREEDU V R. A cyclin dependent kinase regulatory subunit (CKS) gene of pigeonpea imparts abiotic stress tolerance and regulates plant growth and

- development in *Arabidopsis* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 165.
- [22] MAXWELL K, JOHNSON G N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 659-668.
- [23] 井大炜, 邢尚军, 杜振宇, 等. 干旱胁迫对杨树幼苗生长、光合特性及活性氧代谢的影响 [J]. *应用生态学报*, 2013, 24(7): 1809-1816.
- [24] 卢广超, 许建新, 薛立, 等. 干旱胁迫下 4 种常用植物幼苗的光合和荧光特性综合评价 [J]. *生态学报*, 2013, 33(24): 7872-7881.
- [25] PAVLOVIĆ P, MITROVIĆ M, DJURDJEVIĆ L. An ecophysiological study of plants growing on the fly ash deposits from the “Nikola Tesla-A” thermal power station in Serbia [J]. *Environmental Management*, 2004, 33: 654-663.
- [26] 苏秀荣, 王秀峰, 杨凤娟, 等. 硝酸根胁迫对黄瓜幼苗叶片光合速率、PS II 光化学效率及光能分配的影响 [J]. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1441-1446.
- [27] 罗明华, 胡进耀, 吴庆贵, 等. 干旱胁迫对丹参叶片气体交换和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *应用生态学报*, 2010, 21(3): 619-623.
- [28] ZHOU R, YU X, OTTOSEN C-O, et al. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress [J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17: 24.
- [29] MATHOBO R, MARAIS D, STEYN J M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. *Agricultural Water Management*, 2017, 180: 118-125.

(责任编辑: 张明霞)

欢迎订阅 2019 年《植物资源与环境学报》

全国中文核心期刊 中国科技核心期刊
中国科学引文数据库核心期刊 RCCSE 中国核心学术期刊(A⁻)

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物,国内外公开发行。本刊为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊和 RCCSE 中国核心学术期刊(A⁻),并为 BA、CA、CAB、Elsevier's、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)、超星期刊域出版平台和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“首届江苏省新闻出版政府奖期刊奖”及江苏省精品科技期刊项目;2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖·精品期刊奖”及江苏省精品科技期刊Ⅲ类项目;2016 年和 2017 年均荣获江苏省精品科技期刊 I 类项目。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题,报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护,自然保护区与植物园的建设和管理,植物在保护和美化环境中的作用,环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原

始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊为季刊,大 16 开本,每期 120 页。全国各地邮局均可订阅,每期定价 20 元,全年 80 元。若错过征订时间或需补齐 1992 年至 2017 年各期,请直接与编辑部联系邮购。1992 年至 1993 年每年 8 元;1994 年至 2000 年每年 16 元;2001 年至 2005 年每年 24 元;2006 年至 2008 年每年 40 元;2009 年至 2011 年每年 60 元;2012 年至 2018 年每年 80 元(均含邮资,如需挂号另付挂号费 3 元)。

编辑部地址:江苏省南京市中山门外 江苏省中国科学院植物研究所内(邮编:210014);电话:025-84347014;QQ:2219161478;E-mail:zwzybjb@163.com。本刊仅接收在线投稿,投稿网址: <http://zwzy.cnbg.net>。

欢迎订阅! 欢迎投稿!