

# 灌水处理对黄冠梨叶片结构和激素含量及 *PbDREB* 基因表达的影响

黄海娜<sup>1</sup>, 杨金字<sup>1</sup>, 李红旭<sup>2</sup>, 刘小勇<sup>2</sup>, 叶振风<sup>1</sup>, 朱立武<sup>1</sup>, 衡伟<sup>1</sup>

(1. 安徽农业大学园艺学院, 安徽 合肥 230036; 2. 甘肃省农业科学院果树研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 试验以9年生‘黄冠’梨为试验材料, 对6种不同灌溉处理的叶片组织结构、激素含量及抗旱基因 *PbDREB* 表达量进行测定分析。结果表明, 灌水量相同, 叶片厚度、角质层厚度、栅栏组织厚度、叶片结构紧密度与灌水次数或灌水深度呈正相关。灌水量与抗旱基因 *PbDREB* 表达量呈显著正相关。覆膜滴灌-灌水9次-下渗60 cm、年灌水总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  (T5) 时, 叶片结构紧密度较大, 达32.90%; 叶片结构疏松度最小, 为43.62%; ABA含量最高, 达  $118.87 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  (鲜重), GA、IAA、ZR含量均最低; 且抗旱基因 *PbDREB* 表达量最高, 达2.75。从而表明覆膜滴灌-灌水9次、下渗60 cm、年灌水总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  的灌水方式能够提高叶片结构紧密度、促进ABA合成、提高抗旱基因 *PbDREB* 表达量, 从而提高叶片的抗旱能力, 是甘肃景泰地区梨园的适宜节水灌溉方式。

**关键词:** 黄冠梨; 节水灌溉; 叶片组织结构; 激素; *DREB*

**中图分类号:** Q945.78; S275.6 **文献标志码:** A

## Effects of different irrigation mode on leaf structure, hormone content, and the gene *PbDREB* expression of Huangguan pear

HUANG Hai-na<sup>1</sup>, YANG Jin-yu<sup>1</sup>, LI Hong-xu<sup>2</sup>, LIU Xiao-yong<sup>2</sup>, YE Zhen-feng<sup>1</sup>, ZHU Li-wu<sup>1</sup>, HENG Wei<sup>1</sup>

(1. School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China; 2. Pomology Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** The experiment of six irrigation models had been conducted in an orchard of 9 year-old ‘Huangguan’ pear. The profile structure, hormone content and the expression of drought resistant gene *DREB* of leaves were measured. The results showed that there was a positive correlation existed irrigated times or depth and the leaf thickness, cuticle thickness, stockade tissue thickness and CTR under the same irrigated water amount; There was a significant positive correlation between irrigation amount and the expression of the drought resistant gene *DREB*, T5 (drip irrigation under plastic mulch, irrigated 9 times and each time water move down to 60 cm depth of soil, annual irrigation water at  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ) had the high CTR and the lowest SSR. The CTR reached to 32.90% and the SSR reached to 43.62%. It also had high content of the ABA, relatively lowest content of GA, IAA, ZR, and the content of the ABA reached to  $118.87 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  (fresh weight). And it had high expression of the drought resistant gene *DREB*, the content of *DREB* expression reached to 2.75. In conclusion, T5 could improve the CTR, promote ABA synthesis, and increase the expression of the drought resistant gene *DREB*, thus improve the drought resistance of the leaves. There by it should be the suitable water-saving irrigation model for the pear orchard at Jingtai County in Gansu Province.

**Keywords:** Huangguan pear; water-saving irrigation; leaf tissue; hormone; *DREB*

梨 (*Pyrus* L.) 属于蔷薇科 (Rosaceae)、梨亚科 (Pomaceae)、落叶乔木<sup>[1]</sup>。黄冠梨 (*Pyrus bretschnei-*

*deri* × *pyrifolia*) 是中国培育的优质、丰产早中熟品种, 在中国已大量栽培<sup>[2]</sup>, 已成为许多省市的支柱产

业<sup>[3]</sup>。中国是一个水资源短缺的国家,尤其是西北大部分地区为干旱、半干旱气候,降雨量少,蒸发量大<sup>[4]</sup>。因此,研究一种最节水、最有效的灌溉方法对干旱、半干旱地区梨产业的发展具有极其重要作用。覆膜滴灌是地膜覆盖栽培与滴灌技术相结合的高效节水灌溉方式,能有效改善土壤水、热、气、肥条件,从而达到提高产量、改善品质的目的<sup>[5]</sup>。李昭楠等<sup>[6]</sup>的研究表明,在甘肃河西走廊干旱荒漠区,膜下滴灌葡萄产量和水分利用效率均高于未覆膜滴灌的产量。李敏敏等<sup>[7]</sup>对苹果研究发现,膜下滴灌可以提高苹果的产量和水分利用率。

多年来,国内外对果树抗旱机制的研究主要集中在叶片组织结构特征、生理生化以及抗旱基因表达等方面<sup>[8]</sup>。研究表明,植物的抗旱性与植物叶片的形态解剖结构呈一定的相关性<sup>[9-11]</sup>。在生理生化与抗旱性关系的研究方面,植物内源激素是对干旱胁迫最为敏感的生理活性物质<sup>[12]</sup>。随着生物技术的提高,人们对抗旱机制的研究更加深入,脱水反应元件结合蛋白(dehydration responsive element binding, DREB)是一类参与应答植物低温、高盐和干旱等非生物胁迫的主要调控蛋白,特异识别并结合 DRE 顺式作用元件,启动下游基因的表达<sup>[13]</sup>。DREB 受低温、高盐和干旱等逆境胁迫的诱导,通过在植物体内的调控表达,从而维持植物细胞的正常生理生化代谢活动,主要表现为细胞膜结构的稳定、细胞渗透压的调节、消除活性氧对细胞的毒害等,提高植物的抗逆性<sup>[14]</sup>。

本研究以不同的灌水方式浇灌梨园,针对不同灌溉处理对黄冠梨叶片组织结构、激素含量及 DREB 基因表达量的影响进行研究,以期找出可满足果树高产和提高水分利用率的最佳灌水方式,为该地区梨园节水滴灌提供理论依据和实践指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验在兰州市景泰县条山集团梨园内进行,供试品种为生长健壮、均匀一致的‘黄冠’梨,砧木为杜梨,树龄 9a。待果实采收后分别从各处理梨树冠外围东、南、西、北面及内膛当年生枝条上随机采取叶片各 30 个,置入冰盒带回实验室进行生理指标测定,随机挑取嫩叶进行 RNA 的提取。

### 1.2 试验处理

梨树行内覆盖黑色地膜,覆膜宽度 2.0 m,植株两边距离树干 1.5 m 处各设置一条“小孔回流”滴灌带。各处理选择正常植株 6 株,处理间留 2 株间隔

植株,组合小区,顺序排列,4 次重复灌溉水通过水泵抽取,灌水量由水表自动控制流量。覆膜滴灌下渗深度观测,均通过各处理行间预设的 100cm 壕沟固定观察点进行。实验设 6 个处理,其中以常规漫灌为对照,具体灌水方式如下:

CK:常规漫灌,分别于花后、果实迅速膨大期和果实膨大期进行灌水,共 3 次/年,每次灌水量相同,年灌水总量为  $10200 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ 。

T1:覆膜滴灌,分别于花前、花后、果实迅速膨大期和果实膨大期(2 次)进行灌水,共 5 次/年,每次下渗 60 cm,年灌水总量为  $4800 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

T2:覆膜滴灌,分别于花前、花后、幼果期、果实迅速膨大期和果实膨大期(2 次)进行灌水,共 6 次/年,每次下渗 60 cm,年灌水总量为  $5400 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

T3:覆膜滴灌,分别于花前、花后、幼果期、果实迅速膨大期和果实膨大期(4 次)进行灌水,共 8 次/年,每次下渗 40 cm,年灌水总量为  $5400 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

T4:覆膜滴灌,分别于花前、花后、幼果期、果实迅速膨大期和果实膨大期(4 次)进行灌水,共 8 次/年,每次下渗 60 cm,年灌水总量为  $6000 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

T5:覆膜滴灌,分别于花前、花后、幼果期、果实迅速膨大期和果实膨大期(5 次)进行灌水,共 9 次/年,每次下渗 60 cm,年灌水总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

### 1.3 方法

1.3.1 叶片组织结构观察 9 月中旬采集自然状态下正常的 6 种不同灌溉处理梨树叶片,剪取中部成熟叶片主脉中间  $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$  的小块,用 FAA 固定液固定后用石蜡切片法<sup>[15]</sup>切片观察叶片组织结构。切片厚度  $8 \sim 10 \mu\text{m}$ ,番红-固绿染色,加拿大树胶封片。用显微测微尺测量其叶片总厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度,每片观察 3 个视野,重复 6 次,每种砧木观察视野总数 18 个。按以下公式计算叶片组织结构紧密度(CTR)和组织结构疏松度(SR)<sup>[11]</sup>。

$$CTR(\%) = \text{栅栏组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100$$

$$SR(\%) = \text{海绵组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100$$

1.3.2 激素含量测定 叶片中总赤霉素(GA)、玉米素核苷(ZR)、生长素(IAA)、脱落酸(ABA)等含量测定采用酶联免疫法<sup>[16]</sup>。

1.3.3 黄冠梨 *PbDREB* 基因克隆 利用艾德莱 RNA 试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)提取黄冠梨叶片的总 RNA,并用 1% 琼脂糖电泳检测其完整性。用 M-MLV 反转录酶(Promega 公司)合成第一链 cDNA,具体反应体系和操作步骤依据说明书进行。

根据其它物种 DREB 基因的保守序列设计特异性引物,以‘黄冠’梨叶片的 cDNA 为模板,经 PCR 扩增目的片段,PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖电泳分离后回收,连接到 pGEM-T 载体中,挑取单菌落进行测序。PCR 反应体系为 20  $\mu$ L,反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,50 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,共 30 个循环。参照 TaKaRa 公司的 3'-

Full RACE Kit 试剂盒,根据所获得的目的片段设计 3'端引物,经 PCR 扩增出 3'端的片段序列,测序后与目的片段拼接。将所得序列与我们构建的梨 EST 库比对,找出保守序列设计 5'端引物,经 PCR 扩增出 5'端序列,测序后与目的片段拼接。根据拼接序列,设计全长引物,验证拼接结果。试验中所用引物序列如表 1 所示。

表 1 梨 *PbDREB* 基因克隆和表达的相关引物

Table 1 Related primer of *PbDREB* gene cloning and expression in *Pyrus*

名称 Name	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
3'-RACE	<i>PbDREB</i> -F1	5'-GTCCTCAAGCCAGTGGTATG-3'
	<i>PbDREB</i> -F2	5'-CGAGTTGTTTGATATGGATGAG-3'
	UPMLong NUP	5'-CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT-3' 5'-AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT-3'
5'端扩增引物 5' end primers	<i>PbDREB</i> -F3 <i>PbDREB</i> -R3	5'-TCCAAGAGGAATGGGAGCCTATGA-3' 5'-GAGCAGCTTGGCCTCTGAAAAGT-3'
RT-PCR	<i>PbDREB</i> -FY <i>PbDREB</i> -RY	5'-GAGCAGCTTGGCCTCTGAAAAGT-3' 5'-CAACGCATCACCATTCAACA-3'
内参基因 Internal control primers	<i>PbDREB</i> -ActinF <i>PbDREB</i> -ActinR	5'-TGGTGTCATGTTGGTATGG-3' 5'-CAGGAGCAACACGAAGTTCA-3'

1.3.4 *PbDREB* 基因生物信息学分析 利用相关生物信息学网站对已得基因全长进行生物信息学分析。运用 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查找和翻译开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF); 运用 NCBI 数据库中的 BLASTX 对氨基酸序列进行同源性搜索和比对; 运用 ProtParam (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html>) 对蛋白质理化性质进行在线分析; 用 TMHMM-2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>) 对 *PbDREB* 氨基酸序列进行分析; 运用 Net Phos2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 进行磷酸化位点分析; 运用 Psort (<http://psort.hgc.jp/form.html>) 进行亚细胞定位分析; 氨基酸多重序列比较采用 Clustalw2 (<http://www.ebi.ac.uk/tools/msa/clustalw2/>)。

1.3.5 *PbDREB* 基因表达分析 分别以黄冠梨叶片的 cDNA 为模板,以黄冠梨的 *Actin* 片段为内参,采用 RT-PCR 对其进行组织特异性表达分析。根据 RACE 获得的 *PbDREB* 全长序列,使用 primer premier 5.0 设计荧光定量 PCR 引物 (表 1)。使用 ABI STEPONE 荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 分析,采用 20  $\mu$ L 反应体系:SYBRTM Premix Ex Taq 10  $\mu$ L,正、反向引物 (10  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$ ) 各 0.8  $\mu$ L,ROX Reference Dye 50X 0.4  $\mu$ L,cDNA 模板 2.0  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 6.0  $\mu$ L。反应程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 90 s;PCR 反应:95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 40 s,总共 40 个循环,每个样品进行 4 次重复检测,使用 2 $^{-\Delta\Delta Ct}$  法,求得待测样品相对表达量。

## 1.4 数据分析

采用 Excel 2003 整理实验数据,运用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶片解剖结构特征比较

从叶片的横切解剖结构看 (见图 1),上下表皮细胞均为单层。5 个处理和对照叶片的栅栏组织细胞均为长柱型,排列整齐而紧密,厚度在 65.28~82.72  $\mu$ m 之间。海绵组织位于栅栏组织与下表皮之间,形状不规整,排列疏松,多空腔,厚度在 101.91~125.41  $\mu$ m 之间,不同处理之间厚度有较大的差异。

由表 2 可知,与对照相比,5 种处理的叶片厚度均显著增大。其中 T3 的叶片厚度最大,达到 257.13  $\mu$ m;T3、T4 和 T5 的角质层厚度高于对照,T1 和 T2 低于对照;除 T2 的栅栏组织厚度小于对照外,其它处理均大于对照;除 T5 的海绵组织厚度与对照差异不显著外,其它处理均显著高于对照;T2 的 CTR 值低于对照,其它处理均高于对照,其中 T1 最高,T5 次之;T1、T2 和 T4 的 SR 值显著高于对照,T3 和 T5 低于对照,其中 T5 的 SR 值最小,但未达到差异显著水平。同时,年灌水量相同 (年灌水总量为 5400 m<sup>3</sup>  $\cdot$  hm<sup>-2</sup>)、灌水次数与下渗深度不同的 T2 与 T3 比较,T3 处理叶片厚度、角质层厚度、栅栏组织厚度、栅栏组织/海绵组织与叶片结构紧密度均明显高于 T2,且差异达到显著水平。

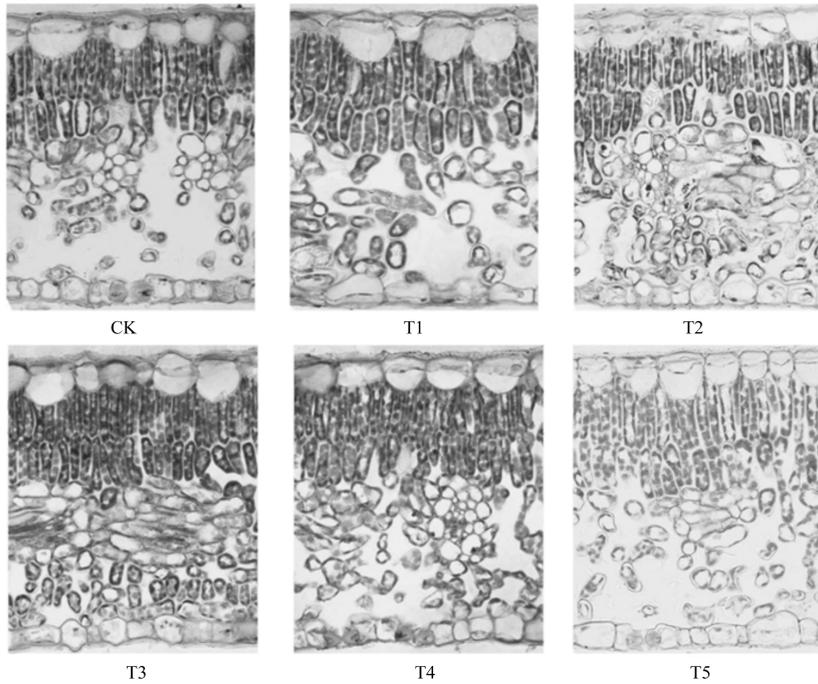


图 1 不同灌溉处理的黄冠梨叶片横切解剖结构图

Fig. 1 Leaves crosscutting anatomical structure pictures of 'Huangguan' pear of different irrigation treatments

表 2 不同灌溉处理叶片组织结构参数比较

Table 2 Comparison of parameters of leaf tissue structure of different irrigation treatments

处理 Treatment	叶片厚度 Leaf thickness/ $\mu\text{m}$	角质层厚度 Thickness of cuticle/ $\mu\text{m}$	栅栏组织厚度 Thickness of palisade tissue/ $\mu\text{m}$	海绵组织厚度 Thickness of spongy tissue/ $\mu\text{m}$	CTR/%	SR/%
CK	224.57c	3.30bc	72.33bc	101.91c	32.20ab	45.38b
T1	245.21b	2.42d	82.22a	118.81ab	33.45a	48.45a
T2	235.80b	2.84cd	65.28c	115.24b	27.72c	48.84a
T3	257.13a	4.55a	82.72a	113.00b	31.99ab	44.10b
T4	256.03a	3.66b	76.21ab	125.41a	29.68bc	49.10a
T5	237.91b	3.39b	78.29ab	103.82c	32.90a	43.62b

注: CTR 表示叶片组织结构紧密度; SR 表示叶片组织结构疏松度; 同列不同小写字母表示不同处理  $P < 0.05$  水平差异显著。以下图表同上。

Note: CTR means the leaf tissue structure tense ratio; SR means the leaf tissue structure spongy ratio; Different small letters in one column mean significant difference among treatments at  $P < 0.05$ . The same as below.

## 2.2 叶片激素含量变化

由表 3 可知, 与对照相比, 5 种处理均显著提高叶片中的 ABA 含量, 其中 T5 含量最高, 达到  $118.87 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ ; 除 T5 的 IAA 和 GA 含量显著低于对照外, 其它处理均高于对照; T3 和 T4 的 ZR 含量均显著高于对照, 其它处理均显著低于对照, 其中 T5 的 ZR 含量最低, 仅  $7.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。年灌水量相同 (年灌水总量为  $5400 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ )、灌水次数与下渗深度不同的 T2 与 T3 相比, T2 的 ABA、IAA 和 GA 含量均显著高于 T3, 但 T2 的 ZR 含量显著低于对照, 说明年灌水量相同, 灌水次数和灌水深度对叶片中激素含量影响显著。

## 2.3 基因克隆及表达分析

### 2.3.1 *PbDREB* 基因全长 cDNA 克隆及序列分析

通过 ORF Finder 分析, *PbDREB* 基因全长 cDNA 为

1551 bp, 其中包含 5' 非编码区 10 bp, 3' 非编码区 346 bp 和开放阅读框 1197 bp, 编码 398 个氨基酸, 起始密码子为 ATG, 终止密码子为 TGA。

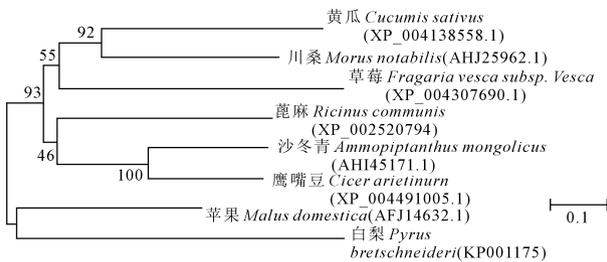
表 3 不同灌溉处理对黄冠梨叶片 ABA、IAA、GA 和 ZR 含量 (鲜重) 的影响

Table 3 Effect of different irrigation treatments on leaf ABA, IAA, GA and ZR content of Huangguan pear/ $(\text{ng} \cdot \text{g}^{-1})$

不同处理 Treatment	ABA	IAA	GA	ZR
CK	51.65f	52.64c	8.15c	10.03c
T1	85.91b	75.46a	8.29c	8.18e
T2	71.21d	75.14a	10.54a	9.04d
T3	66.83e	61.94b	8.38c	12.47b
T4	80.60c	75.80a	9.51b	14.41a
T5	118.87a	27.59d	6.72d	7.30f

通过 ProtParam 分析其理化性质, 推测 *PbDREB* 蛋白分子式  $C_{1858}H_{2863}N_{531}O_{630}S_{23}$ , 其相对分子量为 43456.7, 等电点 4.8。其理论半衰期约为 30 h, 不稳定参数为 44.58, 蛋白质性质不稳定 (40 以下为稳定蛋白)。该蛋白中相对含量较多的氨基酸是甘氨酸 Gly (11.3 %, 45 个)、丝氨酸 Ser (10.1 %, 40 个) 和谷氨酸 Glu (8.5 %, 34 个), 预测该蛋白为亲水性蛋白。TMHMM-2.0 分析 *PbDREB* 氨基酸序列没有跨膜结构域, 没有信号肽。NetPhos2.0 预测结果显示, *PbDREB* 蛋白有 18 个 Ser、7 个 Thr 和 3 个 Tyr, 可能成为蛋白激酶的磷酸化位点。推断 *PbDREB* 蛋白可能定位于细胞核。

将 *PbDREB* 基因编码的氨基酸序列进行同源分析, 结果发现, 该氨基酸序列与很多植物 DREB 氨基酸序列具有较高的一致性 (图 2)。*PbDREB* 编码的氨基酸序列与苹果 *MdDREB2-1* 编码的氨基酸序列一致性最高, 为 59.8%, 其它依次是沙冬青 *AmDREB2C* 38.8%、草莓 *FvDREB2C-like* 36.4%、蓖麻 *ReDREB2C* 34.2%、黄瓜 *CsDREB2C-like* 33.8%、鹰嘴豆 *CaDREB2C-like* 31.3%、川桑 *MnDREB2A* 30.7%。



注: 图中分支点的数字表示 Bootstrap 验证中基于 1000 次重复该节点可信度的百分比; 标尺代表遗传距离。

Note: The number on the branches indicate the reliability percent of Bootstrap values based on 1000 replications; the scale bar represents genetic distance.

图 2 不同植物 DREB 氨基酸序列的系统进化树分析

Fig. 2 Phylogenetic tree of DREB amino acid sequences from different plants

2.3.2 *PbDREB* 在不同灌溉处理下的表达 由图 3 可知, *PbDREB* 在 6 种处理的叶片中均有表达, 除 T1 与对照差异不显著外, 其它处理均显著高于对照, 其中在 T5 中的表达量最高, 达到 2.75, 是对照的 2.89 倍; 当灌水下渗深度同为 60 cm 时 (T1、T2、T4 和 T5), 各处理叶片 *PbDREB* 基因表达量随年灌水量的增加而上升, 且达到差异显著水平。年灌水量相同 (年灌水量总量为  $5400 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ )、灌水次数与下渗深度不同的 T2 与 T3 相比, *PbDREB* 在 T2 中的表达量略低于 T3, 但未达到差异显著水平, 说明灌水量相同时, 灌水次数和下渗深度对 *PbDREB* 基因

表达量的影响不显著。

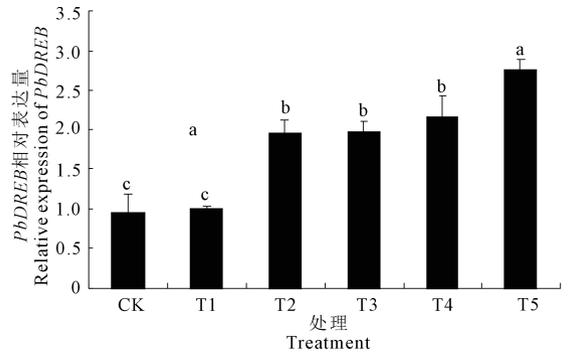


图 3 不同灌溉处理下叶片中 *PbDREB* 的表达水平

Fig. 3 Expression pattern of *PbDREB* in the leaves of six different irrigation treatments

### 3 讨论

果树的抗旱能力是一种复合性状<sup>[17]</sup>, 指标的合理选择是抗旱性鉴定的关键。在叶片结构上, CTR 和 SR 等指标与果树的抗旱性密切相关, 这在葡萄<sup>[18]</sup>、核桃<sup>[19]</sup>、桃<sup>[11]</sup>、酸枣<sup>[20]</sup>、苹果<sup>[21]</sup>等果树上已得到证实。郑国琦等<sup>[22]</sup>研究发现, 月灌水定额小于  $900 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  时, 随着灌水量的增加, 叶片厚度、栅栏组织厚度和叶片结构紧密度显著增加。有关不同灌水处理对梨叶片解剖结构的影响尚未见研究报道。本研究结果发现, 叶片厚度、栅栏组织厚度和叶片结构紧密度并没有随着灌水量的增加而增加, 但灌水量最大的 T5 (灌水 9 次、下渗 60 cm、年灌水量总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  的覆膜滴灌) 处理的叶片栅栏组织厚度/海绵组织的比值最大、CTR 较大、SR 最小。栅栏组织厚度/海绵组织的比值和 CTR 增大是植物对水分短缺的一种响应, 该特征有助于  $\text{CO}_2$  气体从气孔下室到光合作用场所的传导, 又可抵消因气孔关闭和叶肉结构的变化所引起的  $\text{CO}_2$  传导率的降低, 从而提高植物对水分的利用率, 表现出植物的抗旱适应性<sup>[23]</sup>。

内源激素是植物体生命活动的调节者, 在逆境胁迫下, 植物通过内源激素的变化如 IAA、ZR 和 CTK 浓度的减少和 ABA 浓度的升高来调节某些生理过程以达到适应逆境的效果, 已经在许多果树等植物上得到证明<sup>[24]</sup>。本研究发现, T5 (灌水 9 次、下渗 60 cm、年灌水量总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  的覆膜滴灌) 处理的叶片中 ABA 增加的同时, IAA、ZR 和 CTK 均减少, 从而可以改变膜的特性, 使气孔关闭, 改变代谢氧的容量与膜相结合的酶的活性, 促进降解过程并抑制合成过程<sup>[25]</sup>。但关于灌水量对植物内源激素的影响, 目前报道较少。王永平<sup>[26]</sup>研究发

现,玉米籽粒的 ABA、Z+ZR、GAs 和 IAA 含量受水分影响明显,随着灌水量提高内源激素含量显著提高。但本研究发现,随着灌水量的增多,内源激素含量并没有规律性地增多,引起相关差异的原因,有待进一步试验研究。

周永斌<sup>[27]</sup>等研究表明,在不同的干旱胁迫条件下,转基因(一种 *DREB* 类基因)植株的抗旱能力明显高于受体对照。周伟<sup>[28]</sup>等研究发现,重组酵母菌株与表达 *VaDREB* 基因的转基因拟南芥株系均表现出明显增强的盐、干旱、低温和高温胁迫耐受性表现,基因表达分析结果表明,转基因拟南芥株系中抗逆相关功能基因的表达量出现了明显上调。施肖堃<sup>[29]</sup>证明对甘蔗转入 *EaDREB2B* 基因可以提高其耐旱性。综上结果证明 *VaDREB* 转录因子在植物抗逆调控过程中起着重要作用。本研究结果表明, *DREB* 在 6 个不同灌溉处理的黄冠梨叶片中都有表达,并且与灌水次数和灌水量呈正相关,说明 6 种不同灌溉处理的黄冠梨都具有一定的抗逆性,其中在 T5(灌水 9 次、下渗 60cm、年灌水总量为  $6750 \text{ m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$  的覆膜滴灌)处理的叶片表达量最高。然而, *DREB* 类转录因子超表达在提高植株耐逆性的同时还会产生生长迟缓、植株矮化、产量下降等不良影响,这种负效应可以通过用胁迫诱导启动子或其它条件性启动子启动 *DREB* 基因的表达来加以克服<sup>[30]</sup>。这一步骤在今后有待于进一步的研究。

#### 参考文献:

- [1] 滕元文,柴明良,李秀根.梨属植物分类的历史回顾及新进展[J].果树学报,2004,21(3):252-257.
- [2] 王迎涛,李晓,李勇,等.套袋黄冠梨果实花斑病发生与其组织结构变化的关系[J].西北植物学报,2011,31(06):1180-1187.
- [3] 王杰.梨历史与产业发展研究[D].福州:福建农林大学,2011.
- [4] 王恩鹏.西北地区水资源现状与可持续利用对策的探讨[J].云南地理环境研究,2006,18(1):92-96.
- [5] 张治,田富强,钟瑞森,等.新疆膜下滴灌棉田生育期地温变化规律[J].农业工程学报,2011,27(1):44-51.
- [6] 李昭楠,李唯,刘继亮,等.不同滴灌水量对干旱荒漠区酿酒葡萄光合及产量的影响[J].中国生态农业学报,2011,19(6):1324-1329.
- [7] 李敏敏,安贵阳,郭燕,等.不同灌溉方式对渭北果园土壤水分及水分利用的影响[J].干旱地区农业研究,2011,29(4):174-179.
- [8] 赵昌杰,刘松忠,张强.果树对干旱胁迫的响应研究进展[J].中国果树,2011,(4):60-62.
- [9] 赵延霞,骆有庆,宗世祥,等.不同沙棘品种雌雄株叶片解剖结构及抗旱性比较[J].北京林业大学学报,2012,34(6):31-41.
- [10] 孟庆杰,王光全,董绍锋,等.桃叶片组织解部结构特征与其抗旱性关系的研究[J].西北林学院学报,2005,20(1):65-67.
- [11] 孟庆杰,王光全,董绍锋,等.桃叶片组织解部结构特征与其抗旱性关系的研究[J].干旱地区农业研究,2004,22(3):123-126.
- [12] 刘长海,周莎莎,邹养军,等.桃叶片组织解部结构特征与其抗旱性关系的研究[J].干旱地区农业研究,2012,30(5):94-98.
- [13] Sun J W, Peng X J, Fan W H, et al. Functional analysis of Bp-DREB2 gene involved in salt and drought response from a woody plant *Broussonetia papyrifera* [J]. *Gene*, 2014, 535(2):140-149.
- [14] Se-jun O, Ik S S, Shic K Y, et al. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(1):341-351.
- [15] 樊卫国,李迎春.部分梨砧木的叶片组织结构与抗旱性的关系[J].果树学报,2007,25(1):17-21.
- [16] 李宗霖,周燮.植物激素及其免疫检测技术[M].南京:江苏科学技术出版社,1996.
- [17] James A S, Sarah J G, William R G. Resistance to water stress of *alnus maritima*: intraspecific variation and comparisons to other alders [J]. *Environ Exp Bot*, 2005, 53(3):281-298.
- [18] 潘学军,张文娥,杨秀永,等.喀斯特山区野生葡萄实生苗叶片解剖结构与抗旱性的关系[J].贵州农业科学,2010,38(9):176-182.
- [19] 李军,卫发兴,陈风顺,等.从六个核桃无性系(种)叶的形态解剖比较其抗旱性[J].河南林业科技,1997,17(3):9-11.
- [20] 刘学师,任永信,任小林.酸枣叶片组织结构与抗旱性的研究[J].河南职业技术学院学报,2004,32(1):45-47.
- [21] 马兰青,王丽雪,王有年,等.干旱对苹果叶片形态解剖结构的影响[J].北京农学院学报,1996,11(2):27-31.
- [22] 郑国琦,张磊,郑国保,等.不同灌水量对干旱区枸杞叶片结构、光合生理参数和产量的影响[J].应用生态学报,2010,21(11):2806-2813.
- [23] Vaia L, Artemios M B, Angelos P, et al. Effects of chilling stress on leaf morphology, anatomy, ultrastructure, gas exchange, and essential oils in the seasonally dimorphic plant *Teucrium polium* (Lamiaceae) [J]. *Acta Physiol Plant*, 2014, 36(8):2271-2281.
- [24] Yang D L, Yang Y N, He Z H. Roles of plant hormones and their interplay in rice immunity [J]. *Mol plant*, 2013, 6(3):675-685.
- [25] 张明生,谢波,谈锋.水分胁迫下甘薯内源激素的变化与品种抗旱性的关系[J].中国农业科学,2002,35(5):498-501.
- [26] 王永平.灌溉和地膜覆盖对玉米籽粒灌浆的影响及其与激素的关系[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [27] 周永斌,闵东红,徐兆师,等.不同水分胁迫下转 W16 小麦回交株系基因表达特性及其抗旱机制[J].农业生物技术学报,2012,20(11):1271-1281.
- [28] 周伟,吴亮,贾承国,等.山葡萄转录因子基因 *VaDREB* 的克隆及其抗逆功能分析[J].农业生物技术学报,2014,50(10):1563-1573.
- [29] 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.
- [30] 阳文龙,刘敬梅,刘强,等.高羊茅 *DREB* 类转录因子基因的分离及鉴定分析[J].核农学报,2006,20(3):187-192.