

转 *CarNAC1* 基因可提高棉花的抗旱性

王淑君,曲延英,倪志勇,王莉萍,高文伟,陈全家

(新疆农业大学农学院,农业生物技术重点实验室,新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要:以 15 份稳定遗传的转 *CarNAC1* 基因棉花及受体材料 K62 进行田间和室内试验,通过加权隶属函数法、主成分分析法及聚类分析等方法比较棉花光合指标、农艺性状、产量性状、纤维品质和生理指标的变化情况。结果表明:干旱胁迫后,转基因棉花品系气孔导度下降趋势及净光合速率显著高于受体材料 K62;转基因棉花品系平均单铃重高于受体材料 0.363~0.657 g;除丙二醛含量为转基因棉花品系低于受体材料 K62 外,转基因棉花品系的脯氨酸、可溶性糖含量及过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶活力均高于受体材料。基于农艺性状和产量性状指标主成分分析结果,将 16 个品系的 9 个指标综合为 2 个相互独立的综合指标,结合 D 值及聚类分析结果筛选出干旱胁迫后仍能保持相对较高产量的品系:ZK62-10、ZK62-6、ZK62-1。基于纤维品质指标主成分分析结果,将 16 个品系的 7 个指标综合为 3 个相互独立的综合指标,结合 D 值及聚类分析结果筛选出干旱胁迫后仍能保持相对较高纤维品质水平的品系:ZK62-6、ZK62-12、ZK62-15。可以得出以下结论:干旱胁迫下,转 *CarNAC1* 基因棉花品系的产量及品质均优于受体材料 K62;转 *CarNAC1* 基因棉花品系可能通过降低气孔导度、增强渗透条件等方法提高棉花抗旱能力;筛选出综合抗旱能力最优的棉花品系 ZK62-6。

关键词:*CarNAC1*;转基因棉花;抗旱性;棉花产量;纤维品质

中图分类号:S562 **文献标志码:**A

Transgenic *CarNAC1* gene improves the drought resistance of cotton

WANG Shu-jun, QU Yan-ying, NI Zhi-yong, WANG Li-ping, GAO Wen-wei, CHEN Quan-jia

(College of Agronomy/Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052)

Abstract: In this paper, 15 stable genetically transgenic cotton plants with *CarNAC1* gene and the receptor materials K62 were used for field and laboratory tests, cotton photosynthesis index, agronomic traits, yield traits and fiber quality and physiological indicators were compared by weighted membership function method, principal component analysis and cluster analysis. The results showed that after drought stress, the stomatal conductance decreased and net photosynthetic rate of the transgenic cotton lines was significantly higher than that of the receptor material K62. the average boll weight of the transgenic cotton lines was higher than that of the receptor material 0.363~0.657 g; In addition the content of MDA was lower than the receptor material of K62 transgenic cotton lines, proline, soluble sugar content and catalase, peroxidase and superoxide dismutase activity in transgenic cotton lines were higher than that of the receptor material. Based on the results of principal components analysis of agronomic traits and yield traits indicators, the 9 indexes of 16 lines were integrated into 2 independent comprehensive indexes, which combined with D value and cluster analysis results can still maintain relatively high yield after drought stress. The lines: ZK62-10, ZK62-6, ZK62-1. Based on the results of principal components analysis of fiber quality index, the 7 indicators of 16 lines were integrated into 3 independent comprehensive indexes, combined with D value and cluster analysis results were used to screen out the relatively high fiber quality levels after drought stress. the lines: ZK62-6, ZK62-12, ZK62-15. After drought stress, the yield and quality of transgenic cotton lines carrying *CarNAC1* gene were better than that of receptor K62. *CarNAC1* transgenic cotton lines may im-

收稿日期:2017-04-10

修回日期:2017-06-13

基金项目:国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08005-004-009)

作者简介:王淑君(1992—),女,新疆阿克苏人,硕士研究生,主要从事棉花抗旱耐盐育种研究。E-mail:1486026185@qq.com

通信作者:陈全家(1972—),男,新疆乌鲁木齐人,教授,博士生导师,主要从事棉花遗传育种研究。E-mail:82818614@126.com

prove the drought resistance of cotton by reducing stomatal conductance and enhancing the osmotic conditions. The best cotton line with comprehensive drought resistance ability was screened out: ZK62-6.

Keywords: *CarNAC1*; transgenic cotton; drought resistance; cotton yield; fiber quality

非生物胁迫抑制棉花正常生长发育,制约产量,降低纤维品质,持续胁迫可能导致棉株死亡^[1]。干旱是当前面临的主要非生物胁迫^[2]。全球干旱地区耕地面积占总耕地面积的20%左右,约2.74亿公顷^[3]。棉花是世界性重要的经济作物,它虽然是较抗旱的作物^[4],但抗旱能力存在品种差异^[5]。结合当前严峻形势,培育高抗旱棉花品种,可提高农民经济效益,促进农业可持续发展^[6]。与传统育种相比,转基因技术可以通过导入目的基因,定向的改良棉花农艺性状,提高产量,加速棉花育种进程^[7]。然而,关于转基因提高棉花抗旱性的报道较少^[8]。

转录因子通过与目标基因启动子中特定的DNA序列即顺式作用元件结合,激活或抑制靶基因的转录表达,是基因表达中一类重要的调控因子^[9]。研究表明,DREB、MYB、Bzip、锌指结构等转录因子在提高植物胁迫耐受性方面发挥着重要作用^[10]。NAC转录因子家族被认为是植物所特有的一类转录因子,命名源于矮牵牛 *NAM* 和拟南芥 *AT-ATF1*、*ATAF2* 以及 *CUC2* 基因,广泛存在于各种植物中,而在其他的真核生物中还未发现^[11]。

NAC转录因子参与高等植物顶端分生组织的形成、细胞周期的调控、种子和胚的发育、花药的发育、次生根的形成、次生壁的形成、叶片的衰老、激素信号转导等生物学过程,同时还具有调控逆境胁迫应答的功能^[12]。关于NAC基因家族的研究主要集中在水稻^[13]、小麦^[14]、玉米^[15]、大豆^[16]、拟南芥^[17]、番茄^[18]、紫花苜蓿^[19]等植物上。

鹰嘴豆是世界第三大豆科作物,主要生长于干旱或者半干旱地区,其生育期短、抗逆性强、基因组小,在解析植物的抗旱分子机制和挖掘抗旱基因方面具有重要意义^[20]。前人从鹰嘴豆中克隆得到 *CarNAC1* 基因,并在拟南芥中证明该基因能提高植株抗旱耐盐能力^[21]。本研究对15个稳定遗传的转 *CarNAC1* 基因棉花品系以及受体材料 k62,通过室内、室外试验,比较转基因棉花品系与受体材料 k62 在干旱条件下光合指标、生理指标、纤维品质以及产量间的差异,筛选抗旱能力较强的棉花品系。

1 材料与方法

1.1 材料

受体材料 K62 及经检测能稳定遗传的 15 个转

基因棉花品系:ZK62-1、ZK62-2、ZK62-3、ZK62-4、ZK62-5、ZK62-6、ZK62-7、ZK62-8、ZK62-9、ZK62-10、ZK62-11、ZK62-12、ZK62-13、ZK62-14、ZK62-15。新疆农业大学农业生物技术重点实验室提供以上供试材料。

1.2 试验方案

1.2.1 田间试验 试验于2016年在石河子144团新疆农业大学试验田进行。该地区无霜期较长,气候条件适宜棉花种植。5月1日播种,每份材料一膜,株距为10 cm,种植5 m。同一膜相邻材料以50 cm的走道隔离开来。每个供试材料设两个处理,处理1正常灌水:全生育期正常浇水;处理2干旱胁迫:于7月5日至7月21日(花铃期)不浇水,后正常灌水;每个处理均重复3次,该试验用地面积 $1.32 \times 10^3 \text{ m}^2$ 。复水前一日测定不同处理下供试材料各项光合指标(均以倒2叶为准)。9月16日(吐絮期)测定农艺性状,在不同处理下收获20铃测定单铃重和衣分含量,每份材料保存一定量的皮棉样品送往乌鲁木齐棉花质量监督检验测试中心测定纤维品质。

1.2.2 室内试验 试验于2016年在新疆农业大学农业生物技术重点实验室进行。通过大田试验结果选择抗旱性具有差异的两个棉花品系:ZK-6、ZK-15以及受体材料 K62 进行室内试验。选用饱满且胚完整的种子,经消毒处理后播种于花盆中,待长出一片子叶后移入装有1/2Hoagland 营养液的塑料盆。水培试验在光照培养室进行,光周期为12 h/12 h,昼夜温度为:26~28℃/20~22℃,每2~3 d按时更换营养液保证幼苗健康生长。水培至4~5片真叶时,用15%PEG-6000 进行处理,分别在处理0、3、6、12、24 h后采取叶片并测定脯氨酸、丙二醛、可溶性糖、过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶的含量,每处理重复3次。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 光合生理生化指标 采用英国(汉莎) CIRAS-3 便携式光合测定系统,于7月13日以及7月21日10:30-12:30(此时间段为当地测量最佳时间,避免“光合午休”现象)进行光合测量。均以测定倒2叶为准,测定净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)。

1.3.2 农艺性状指标 每个品系不同处理下连续测定5株棉花的株高、第一果枝节位、始节高、果枝

数、有效果枝数、总铃数、有效铃数;收取 20 铃,计算单铃重、衣分含量、皮棉产量、籽棉产量。

1.3.3 纤维品质指标 考种后保存的皮棉样品送至乌鲁木齐农业部棉花质量监督检验测试中心,测定纤维上半部平均长度、整齐度、马克隆值、伸长率、短纤维率、纺稳参数和断裂比强度等指标。

1.3.4 生理指标的测定 脯氨酸用茚三酮比色法测定;可溶性糖用蒽酮比色法测定;丙二醛用硫代巴比妥比色法测定;总超氧化物歧化酶用羟胺法测定;过氧化物酶用可见光法测定;过氧化氢酶用分光光度法测定;以上各指标均使用南京建成生物工程研究所订购的试剂盒测定。

1.4 数据处理及统计方法

所有数据的统计和分析均在 SPSS 19.0 和 Excel 2013 上完成,Excel 2013 进行绘图。

数据处理时进行标准化处理,消除遗传背景对抗旱性研究的影响,参考王艳慧等^[22]方法,采用(干旱值/正常值)相对值进行综合评定。

$$DC = \frac{X_i}{CK_i}, \quad i = 1, 2, 3, \dots, n \tag{1}$$

$$CDC = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n DC, \quad i = 1, 2, 3, \dots, n \tag{2}$$

式中, X_i 、 CK_i 分别表示干旱、正常处理的性状测定值。

采用隶属函数法进行抗旱性综合评价。隶属函数值的计算如公式(3)所示。

$$X(u) = (x - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \tag{3}$$

$$X(u)_{\text{反}} = 1 - (x - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \tag{4}$$

式中, x 为各品种(系)的某一指标测定值, $x_{\max}$ 和 $x_{\min}$ 分别为所有品种(系)某一指标的最大值和最小值。如果某一指标与抗旱(耐盐)性呈负相关,则用反隶属函数进行转换,如公式(4)所示。

综合指标权重:

$$\omega_i = p_i \div \sum_{i=1}^n p_i, \quad i = 1, 2, 3, \dots, n \tag{5}$$

式中, w_i 为第 i 个综合指标在所有综合指标中的重要程度即权重; p_i 为各基因型第 i 个综合指标的贡献率。

综合抗旱能力:

$$D = \sum_{i=1}^n [\mu(xi) \times (P_i \div \sum_{i=1}^n P_i)] , \quad i = 1, 2, 3, \dots, n \tag{6}$$

式中, D 值为各棉花品系在干旱胁迫条件下用综合指标评价所得的抗旱性综合评价值。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对棉花光合指标的影响

由图 1 和图 2 可看出,干旱胁迫后,转基因棉花品系气孔导度显著降低,均低于受体材料 k62;转基因棉花品系净光合速率均高于受体材料 k62。由此结果说明转基因棉花品系可能通过降低气孔导度,来提高棉花品系的抗旱能力。

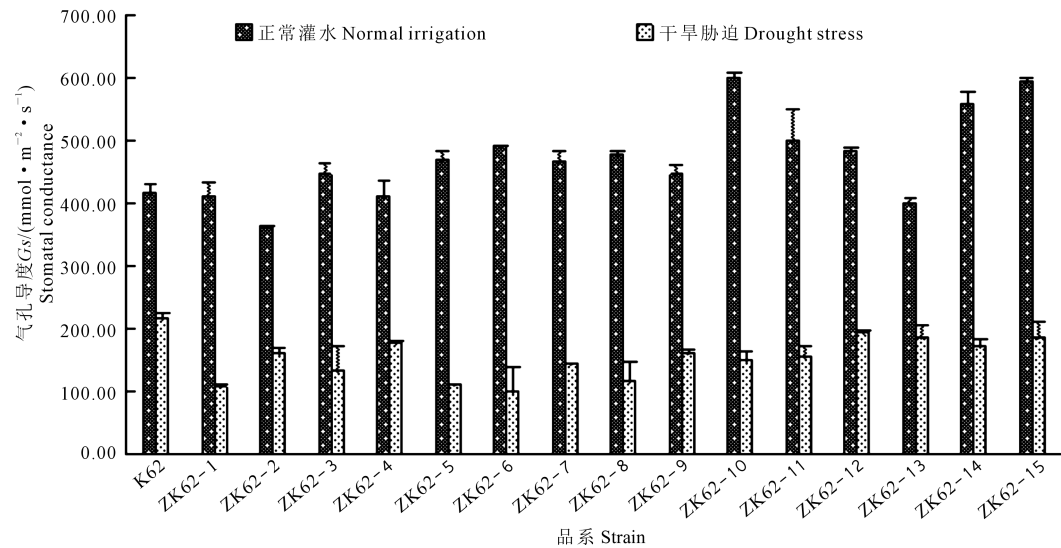


图 1 干旱胁迫下棉花叶片气孔导度的变化

Fig.1 Changes of stomatal conductance of cotton leaves under drought stress

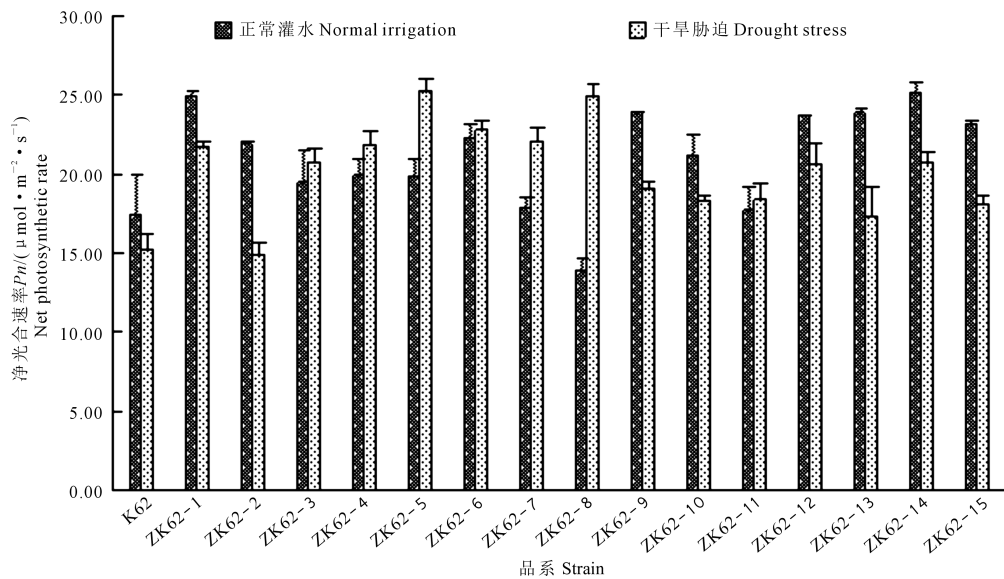


图 2 干旱胁迫下棉花叶片净光合速率的变化

Fig.2 Changes of net photosynthetic rate of cotton leaves under drought stress

由表 1 可知,干旱胁迫下,供试材料气孔导度在 98.8~284.2 mmol · m⁻² · s⁻¹之间,转基因棉花品系气孔导度显著低于受体材料 K62,其中转基因棉花品系 ZK62-6 的气孔导度与受体材料 K62 差异性最显著,低于受体材料 185.4 mmol · m⁻² · s⁻¹;光合速率在 14.93~25.29 mmol · m⁻² · s⁻¹之间,除 ZK62-2 外,转基因棉花品系的光合速率均显著高于受体材料 K62,其中转基因品系 ZK62-6 的净光合速率与受体材料 K62 差异性最显著,高于受体材料 10.067 μmol · m⁻² · s⁻¹;

表 1 干旱胁迫下转基因棉花与受体材料光合指标的比较
Table 1 Comparison of photosynthetic indexes of transgenic cotton and receptor materials drought stress

品系 Strain	气孔导度 <i>G</i> _s Stomatal conductance /(mmol · m ⁻² · s ⁻¹)	净光合速率 <i>P</i> _n Net photosynthetic rate /(μmol · m ⁻² · s ⁻¹)
K62	284.2±1.31	15.23±1.07
ZK62-1	106.67±0.66**	21.74±0.47**
ZK62-2	159±1.21**	14.93±0.8
ZK62-3	132.8±3.95**	20.8±0.95**
ZK62-4	175.5±0.61**	21.93±0.95**
ZK62-5	110.2±0.32**	21.29±0.84**
ZK62-6	98.8±4.21**	22.9±0.55**
ZK62-7	142.3±0.38**	22.15±0.95**
ZK62-8	114.7±3.33**	24.96±0.88**
ZK62-9	159.2±0.9**	19.08±0.55**
ZK62-10	147.5±1.66**	22.38±0.35**
ZK62-11	153.38±2.06**	18.44±1.07**
ZK62-12	191.88±6.81**	20.64±1.37**
ZK62-13	185±2.25**	17.4±1.87**
ZK62-14	170±1.47**	20.78±0.71**
ZK62-15	185.13±2.65**	18.18±0.61**

注: * 代表 0.05 显著水平; ** 代表 0.01 显著水平。下同。
Note: * represent 0.05 significant level; ** represent 0.01 significant level. The same below.

2.2 干旱胁迫对转基因棉花农艺性状和产量性状的影响

2.2.1 干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料农艺性状和产量性状比较 由表 2 可得,干旱胁迫下,各转基因棉花品系与受体材料 K62 性状差异达显著水平所占比例分别为:株高占 60%、第一果枝节位占 60%、果枝数占 53.3%、有效果枝数占 20%、总铃数占 20%、有效铃数占 40%、单铃重占 100%。由此可知,干旱胁迫下转基因棉花品系单铃重、株高、始节高、果枝数差异幅度较大。转基因棉花品系单铃重均高于受体材料 K62,ZK62-15 与 K62 差异最大,平均高于对照 0.657g;除 ZK62-10 外,其它转基因棉花品系株高均低于受体材料 K62,ZK62-5 与 K62 差异最大,平均低于对照 8.8 cm;转基因棉花品系第一果枝节位均低于受体材料 K62,ZK62-6 与 K62 差异最大,平均低于对照 7.5 cm;转基因棉花品系果枝数均多于受体材料 K62,ZK62-14 与 K62 差异最大,平均多于对照 3.5 个。

2.2.2 基于农艺性状和产量性状主成分分析 对 9 个单项指标的抗旱系数进行主成分分析(表 3),前 2 个综合评价指标 F1 和 F2 的累积贡献率为 76.619%,因此,F1 和 F2 基本能反映 9 个农艺性状及产量性状指标的变化。

2.2.3 基于农艺性状和产量性状指标抗旱性综合评价 由表 4 可知,CDC 值与 D 值结果基本一致。在干旱胁迫下,大部分转基因棉花品系综合抗旱能力均优于受体材料 k62。综合抗旱能力排在前三的品系分别为 ZK62-10、ZK62-6、ZK62-1。综合抗旱能力相对较差的品系为:ZK62-13、ZK62-9、ZK62-4。

表 2 干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料农艺性状和产量性状比较

表 2 Comparison of agronomic and yield traits of transgenic cotton lines and acceptor materials under drought stress							
品系 Strain	株高/cm Plant height	第一果枝节位/cm The first branch node	果枝数/台 Number of fruit branches	有效果枝数/个 Effective branch number	总铃数/个 Total boll number	有效铃数/个 Effective boll number	单铃重/g Boll weight
K62	53.5±1.732	21.3±0.882	4.1±0.333	3.2±0.577	3.5±0.577	2.9±0.577	2.042±0.038
ZK62-1	49.5±0.882	18.4±0.882	5.9±0.577	4±0.577	4.3±0.577	4±0.577	2.664±0.051 **
ZK62-2	50.5±1.202	18.7±0.577	6.7±0.577 *	4.8±0.577	5.4±0.333	5.3±0.333 *	2.579±0.059 **
ZK62-3	39.66±0.333 **	15.67±0.882 **	5.3±0.577	3.3±0.333	3.4±0.577	3±0.577	2.637±0.701 **
ZK62-4	36.9±1.202 **	16.7±0.577	5±0.577	3.9±0.577	4.2±0.577	4.1±0.577	2.439±0.119 **
ZK62-5	34.7±2.333 **	16.4±0.577 *	5.2±0.577	4.7±0.577	5.6±0.577	4.2±0.577	2.587±0.054 **
ZK62-6	40.1±0.882 **	13.8±0.882 **	6.1±0.577 *	5.5±0.882	6.8±0.577 **	6.6±1.155 **	2.415±0.075 **
ZK62-7	44.4±0.882 *	17±0.577 *	6.4±0.577 *	5.5±0.577 *	6.1±0.577	5.2±0.333 *	2.578±0.059 **
ZK62-8	47±1.202 *	16.7±0.577 **	6.7±0.577 **	5.4±0.577	5.9±0.577	5.2±0.577	2.467±0.035 **
ZK62-9	50.4±1.756	18.5±1.155	6.1±0.577 *	5.4±0.577	6.5±0.577	6.3±0.577 **	2.496±0.151 **
ZK62-10	55.4±1.664	18.1±1.667	7.2±0.577 **	6±0.577 **	9.1±0.577 **	8.8±0.882 **	2.488±0.044 **
ZK62-11	43.2±0.577 **	19.1±0.882	5.2±0.577	4.6±0.577	5.8±0.882	5.4±0.577	2.583±0.025 **
ZK62-12	48.4±0.882	15.3±1.186 **	6.4±0.882 *	4.7±0.577	5.6±0.577	5.1±0.577	2.677±0.018 **
ZK62-13	44.5±0.882 *	17.9±0.882 *	5.1±0.577	4.8±0.577	5.8±0.577	4.8±0.577	2.405±0.017 **
ZK62-14	48.7±1.186	14.6±0.577 **	7.6±0.577 **	6.8±0.577 **	10.6±0.577 **	9.5±0.577 **	2.568±0.017 **
ZK62-15	39.4±0.882 **	15.9±1.155 *	5.2±0.577	3.6±0.577	4.3±0.577	4±0.577	2.699±0.036 **

表 3 干旱胁迫下转基因棉花品系农艺性状和产量性状指标因子载荷矩阵及方差贡献率

Table 3 The factor loading matrix and the variance contribution rate of agronomic characters and yield traits of transgenic cotton strains under drought stress		
性状 Trait	因子载荷 Factor pattern	
	F1	F2
株高 Plant height/cm	0.437	-0.606
第一果枝节位 The first branch node/cm	0.101	0.394
果枝数 Number of fruit branches	0.569	-0.677
有效果枝数 Effective branch number	0.873	-0.139
总铃数 Total boll number	0.968	-0.036
有效铃数 Effective boll number/个	0.975	-0.046
单铃重 Boll weight/(g·铃 ⁻¹)	0.205	0.865
籽棉产量 Seed cotton yield/(kg·hm ⁻²)	0.911	0.377
皮棉产量 Lint yield/(kg·hm ⁻²)	0.925	0.315
特征根 Characteristic root(λ ₁)	4.902	1.993
贡献率 Contribution rate/%	54.471	22.147
累计贡献率 Cumulative contribution rate/%	54.471	76.619
因子权重 Fator weight(ω)	0.711	0.289

表 4 干旱胁迫下转基因棉花品系农艺性状和产量性状的 D 值、CDC 值及排序

Table 4 D value, CDC value and the rank of agronomic characters and yield traits of transgenic cotton strains under drought stress						
品系 Strain	隶属函数值		D 值 D value	排序 Rank	CDC 值 CDC value	排序 Rank
	Subordinative function value					
	$\mu(x_1)$	$\mu(x_2)$				
K62	1.766	0.079	1.278	13	0.731	16
ZK62-1	3.203	-0.406	2.160	3	0.768	15
ZK62-2	2.492	-0.494	1.629	7	0.840	10
ZK62-3	2.918	0.185	2.128	4	0.800	11
ZK62-4	1.425	0.169	1.062	14	0.786	13
ZK62-5	2.589	0.298	1.927	6	0.846	9
ZK62-6	3.877	-0.277	2.676	2	1.107	3
ZK62-7	3.057	-0.505	2.027	5	1.103	4
ZK62-8	2.076	0.075	1.498	8	1.020	5
ZK62-9	1.186	0.557	1.004	15	1.013	6
ZK62-10	5.438	0.871	4.118	1	1.417	1
ZK62-11	1.988	0.005	1.415	11	0.927	8
ZK62-12	2.172	-0.525	1.393	12	0.978	7
ZK62-13	0.409	0.216	0.353	16	0.789	12
ZK62-14	1.825	0.526	1.450	10	1.140	2
ZK62-15	1.892	0.505	1.491	9	0.776	14

2.2.4 基于农艺性状和产量性状指标聚类分析
通过最近邻元素法进行聚类分析,结果如图 3 所示,干旱胁迫下,将 16 个棉花品系分为三类,第一类为极抗旱材料 1 份:ZK62-10;第二类为中抗旱材料 5 份:ZK62-1、ZK62-7、ZK62-5、ZK62-3、ZK62-6;第三类为敏感材料 10 份:ZK62-8、ZK62-11、k62 等。

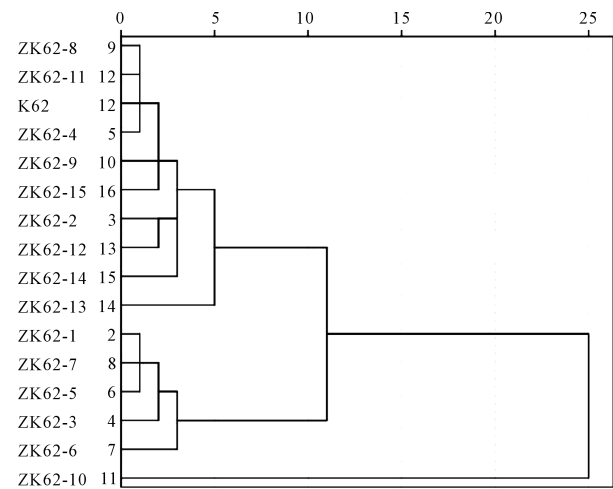


图 3 基于农艺性状和产量性状指标 D 值的聚类

Fig.3 Clusters based on D value of agronomic traits and yield

2.3 干旱胁迫对棉花纤维品质的影响

2.3.1 干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料纤维品质比较
由表 5 可知,干旱胁迫下,各转基因棉

花品系与受体材料 K62 性状差异达显著水平所占比例分别为:纺纱系数占 80%、马克隆值占 100%、上半部长度占 100%、长度整齐度占 73.3%、短纤维率占 86.7%、断裂比强度占 80%、断裂伸长率占 93.3%。由此可知,干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料 K62 在马克隆值、上半部长度、断裂伸长率的差异幅度较大。马克隆值在 3.12~5.69 之间,其中 K62-4 与受体材料 K62 差异性最大,差值为 1.79;上半部长度在 27.2~30.46 mm 之间,其中 K62-4 与受体材料 K62 差异性最大,差值为 2.0 mm;断裂伸长率在 3.17~6.68 CN·tex⁻¹之间,其中 K62-5 与受体材料 K62 差异性最大,差值为 2.62 CN·tex⁻¹。

2.3.2 基于纤维品质指标主成分分析
由表 6 可知,对 7 个单项纤维品质指标的抗旱系数进行主成分分析,前 3 个综合评价指标 F1、F2、F3 的累积贡献率为 91.395%。因此,前 3 个综合评价指标基本能反映纤维品质状况。

2.3.3 基于纤维品质指标抗旱性综合评价
由表 7 可知,CDC 值与 D 值结果基本一致。在干旱胁迫下,大多数转基因棉花品系综合抗旱能力均优于受体材料 K62。干旱胁迫下纤维品质依然能保持较高水平的品系分别为 ZK62-6、ZK62-12、ZK62-15。纤维品质受干旱胁迫影响较大的品系为:ZK62-10、ZK62-1、K62。

表 5 干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料纤维品质比较

表 5 Comparison of fiber quality between transgenic cotton and receptor materials under drought stress

品系 Strain	纺纱系数 Spinning coefficient	马克隆值 Micronaire	上半部长度/mm Length	长度整齐度/% Uniformity	短纤维率/% Short fiber	断裂比强度 Strength/(CN·tex ⁻¹)	断裂伸长率/% Elongation
K62	139±0.5	3.9±0.12	29.7±0.231	84.54±0.115	9.25±0.115	29.03±0.115	4.06±0.577
K62-1	126.6±1.844 **	3.5±0.115 **	27.2±0.882 **	83.8±0.057 **	12.13±0.115 **	25.860.115 **	3.69±0.62 **
K62-2	139.2±1.512	3.12±0.145 **	27.97±0.115 **	84.51±0.057	11.07±0.577 **	27.640.115 **	4.84±0.115 **
K62-3	126.6±1.509 **	3.8±0.06 **	27.86±0.577 **	83.92±0 **	11.25±0.577 **	26.33±0.577 **	3.17±0.882 **
K62-4	114.7±1.702 **	5.69±0.02 **	27.71±0.577 **	83.89±0.115 **	11.07±0.882 **	28.23±0.115 **	4.67±0.115 **
K62-5	139.9±1.506 **	3.62±0.882 **	27.9±0.115 **	85.04±0.057 **	9.59±0.115 **	28.67±0.115	6.68±0.577 **
K62-6	129.1±1.372	5.52±0.577 **	28.16±0.115 **	84.79±0.115	9.13±0.115	31.09±0.577 **	5.72±0.577 **
K62-7	121.1±1.18 **	5.28±0.062 **	28.5±0.577 **	83.93±0.115 **	9.81±0.577 **	28.64±0.882	4.74±0.115 **
K62-8	131.2±1.041 **	4.89±0.577 **	28.52±0.115 **	85.05±0.057 **	9.64±0.333 **	29.25±0.115	4.18±0.333
K62-9	115.5±2.033 *	5.07±0.115 **	28.35±0.577 **	83.99±0.115 **	10.67±0.577 **	26.04±0.577 **	4.69±0.577 **
K62-10	119.2±0.577 *	4.51±0.06 **	28.02±0.333 **	83.51±0.173 **	11.37±0.115 **	26.49±0.115 **	5.490.115 **
K62-11	138.7±2.028	3.71±0.022 **	28.86±0.577 **	84.95±0.115 **	9.8±0.115 **	28.13±0.882 **	5.04±0.577 **
K62-12	149.6±0.848 **	4.49±0.115 **	29.83±0.333 **	86.32±0.115 **	7.65±0.577 **	31.73±0.115 **	5.73±0.577 **
K62-13	125.6±2.876 **	4.46±0.577 **	27.82±0.577 **	84.19±0.057	9.33±0.882	27.67±0.12 **	4.97±0.115 **
K62-14	132±0.882 **	4.51±0.577 **	30.46±0.577 **	84.54±0.115	10.78±0.577 **	27.97±0.06 **	3.43±0.882 **
K62-15	152.6±1.206 **	3.65±0.577 **	29.07±0.577 **	84.95±0.115 **	8.76±0.577 **	32.6±0.06 **	6.14±0.577 **

表 6 干旱胁迫下转基因棉花品系纤维品质指标因子载荷矩阵及方差贡献率

性状 Trait	因子载荷 Factor pattern		
	F1	F2	F3
纺织一致性指数 Textile consistency	0.861	−0.496	−0.032
马克隆值 Micronaire	−0.124	0.968	0.198
纤维长度 Fiber length/mm	0.613	−0.027	0.717
整齐度指数 Uniformity/%	0.919	−0.059	0.064
短纤维率 Short fiber content/%	−0.908	−0.275	−0.001
断裂比强度 Specific breaking strength/(CN · tex ^{−1})	0.901	0.253	−0.042
断裂伸长率 Specific elongation/%	0.576	0.244	−0.712
特征根 Characteristic root(λ ₁)	3.945	1.386	1.067
贡献率 Contribution rate/%	56.351	19.799	15.245
累计贡献率 Cumulative contribution rate/%	56.351	76.150	91.395
因子权重 Fator weight(ω)	0.617	0.217	0.167

表 7 干旱胁迫下转基因棉花品系纤维品质指标的 D 值、CDC 值及排序

品系 Strain	隶属函数值 Subordinative function value			D 值 D value	排序 Rank	CDC 值 CDC value	排序 Rank
	μ(x ₁)	μ(x ₂)	μ(x ₃)				
K62	0.47	0.28	0.25	0.392	14	0.970	15
K62-1	0.22	0.69	0.17	0.313	15	0.971	14
K62-2	1.24	0.79	0.06	0.946	8	0.996	10
K62-3	0.49	0.52	0.41	0.481	13	0.991	12
K62-4	1.36	0.20	−0.16	0.858	9	1.041	2
K62-5	1.08	0.49	0.15	0.796	10	1.003	8
K62-6	2.86	0.23	−0.02	1.813	1	1.059	1
K62-7	1.12	0.21	−0.28	0.686	11	1.039	3
K62-8	0.85	−0.18	0.25	0.522	12	1.010	7
K62-9	1.39	0.30	0.20	0.957	7	0.974	13
K62-10	0.16	0.30	0.15	0.189	16	0.998	9
K62-11	1.72	0.26	0.24	1.155	5	0.995	11
K62-12	2.70	0.23	0.30	1.766	2	1.034	4
K62-13	1.61	0.25	0.34	1.106	6	0.963	16
K62-14	1.76	0.05	0.36	1.158	4	1.012	6
K62-15	2.25	0.27	0.30	1.495	3	1.022	5

2.3.4 基于纤维品质指标聚类分析 通过最近邻元素法进行聚类分析,结果如图 4 所示,干旱胁迫下,将 16 个棉花品系分为三类,第一类为极抗旱材料 3 份:ZK62-6、ZK62-12、ZK62-15;第二类为中抗旱材料 8 份:ZK62-9、ZK62-13、ZK62-11 等;第三类为敏感材料 5 份:K62、ZK62-10、ZK62-3、ZK62-1、ZK62-8。

2.4 室内模拟苗期干旱胁迫对棉花生理指标的影响

由图 5 可知,棉花在受到干旱胁迫后,丙二醛含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、总超氧化物歧化酶活力随着胁迫时间的增长均呈上升趋势,过氧化氢酶活力、过氧化物酶酶活力呈现先升高后降低的趋势。除丙二醛含量为转基因棉花品系低于受体材料 K62 外,其余各指标均为转基因棉花品系高于受体材料 K62。

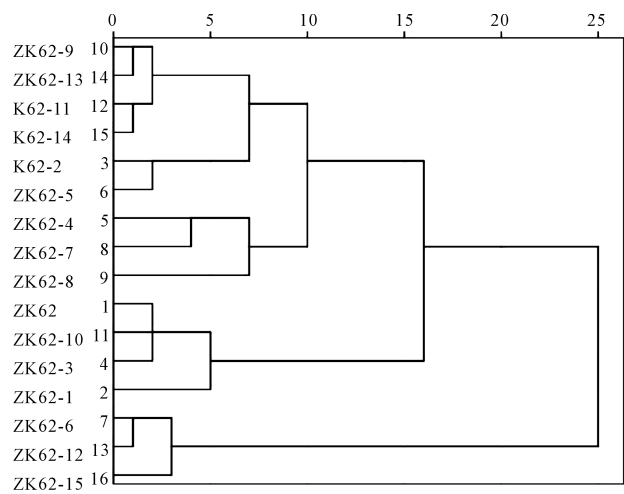


图 4 基于纤维品质指标 D 值的聚类

Fig.4 Clusters based on D value of fiber quality index

由表 8 可知,棉花苗期在室内进行模拟干旱,转基因棉花品系与受体材料 K62 在胁迫 24 h 时,丙二

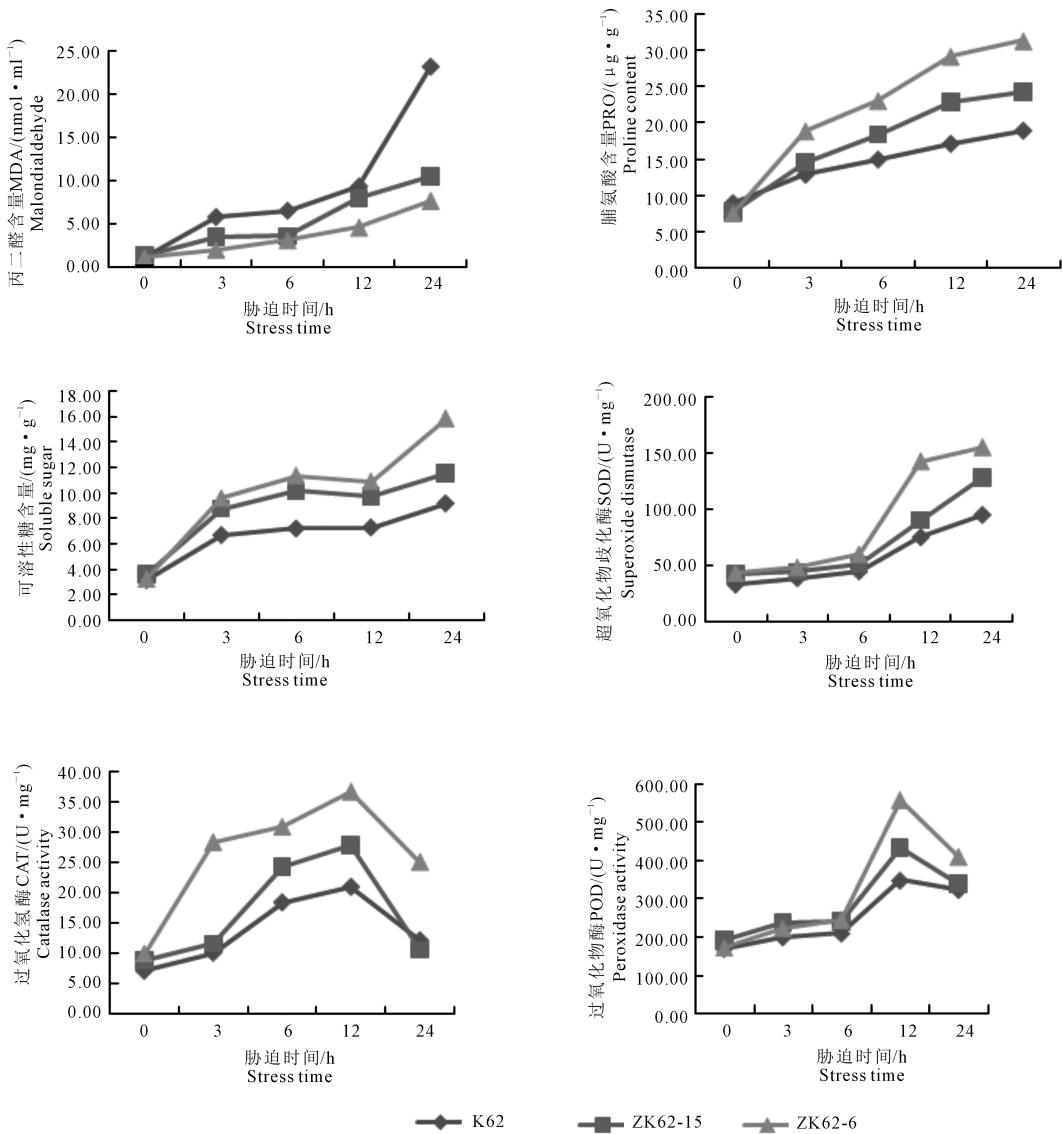


图 5 干旱胁迫下棉花生理指标随胁迫时间的变化

Fig.5 Changes of physiological indexes of cotton with stress time under drought stress

表 8 干旱胁迫下转基因棉花品系与受体材料生理指标的比较

Table 8 Comparison of physiological indexes of transgenic cotton and receptor materials under drought stress		干旱胁迫时间 Drought stress time/h				
指标 Index	品系 Strain	0	3	6	12	24
丙二醛/(nmol · ml ⁻¹) Malondialdehyde	K62	1.17	5.837	6.559	9.368	23.169
	ZK62-15	1.347	3.493	3.595	8.054	10.504
	ZK62-6	1.2	2.074	3.162	4.583	7.635
脯氨酸/(μg · g ⁻¹) Proline	K62	8.95	12.86	14.94	17.1	18.89
	ZK62-15	7.81	14.5	18.37	22.81	24.22
	ZK62-6	7.58	18.91	23.06	29.17	31.31
可溶性糖/(mg · g ⁻¹) Soluble sugar	K62	3.13	6.66	7.17	7.25	9.14
	ZK62-15	3.62	8.74	10.1	9.72	11.5
	ZK62-6	3.29	9.59	11.35	10.9	15.83
过氧化氢酶/(U · mg ⁻¹) Catalase	K62	7.1	10.05	18.33	20.88	12.12
	ZK62-15	8.8	11.57	24.26	27.79	10.58
	ZK62-6	9.83	28.32	30.91	36.73	25.08
超氧化物歧化酶 /(U · mg ⁻¹) Superoxide dismutase	K62	33.27	38.99	45.18	75.5	95.31
	ZK62-15	41.78	43.75	50.52	90.3	128.49
	ZK62-6	43.02	47.92	59.46	142.16	154.6
过氧化物酶/(U · mg ⁻¹) Peroxidase	K62	168.65	199.31	209.13	347.35	322.94
	ZK62-15	188.98	234.88	239.47	433.22	337.71
	ZK62-6	172.24	222.38	244.17	556.3	408.07

醛含量差异最大,ZK62-6 丙二醛含量比 K62 低 $15.534 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$,ZK62-15 丙二醛含量比 K62 低 $2.869 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$;转基因棉花品系 ZK62-15 脯氨酸含量在 12 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $5.71 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,转基因棉花品系 ZK62-6 脯氨酸含量在 24 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $12.42 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;转基因棉花品系 ZK62-15 可溶性糖含量在 6 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $2.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,转基因棉花品系 ZK62-6 可溶性糖含量在 24 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $6.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;转基因棉花品系 ZK62-15 过氧化氢酶活性在 12 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $6.91 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,转基因棉花品系 ZK62-6 过氧化氢酶活性在干旱胁迫 3 h 时,与受体材料 K62 差异最大,高于受体材料 $18.27 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$;转基因棉花品系 ZK62-15 超氧化物歧化酶活性在干旱胁迫 24 h 时,与受体材料 K62 差异最显著,比受体材料高 $33.17 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,转基因棉花品系 ZK62-6 超氧化物歧化酶活性在干旱胁迫 12 h 时,与受体材料 K62 差异最显著,比受体材料高 $65.65 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$;转基因棉花品系过氧化物酶活性在干旱胁迫 24 h 时,与受体材料 K62 差异最显著,ZK62-15 比受体材料高 $85.88 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,ZK62-6 比受体材料高 $208.95 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

3 讨 论

干旱是影响植物生长发育的重要逆境因子。研究发现^[23],NAC 转录因子直接参与或通过调节参与干旱、高盐、冷害应答基因的表达,在植物非生物逆境胁迫中起重要作用。本研究通过多角度实验证明,在棉花生长关键期——花铃期遭遇干旱时,转 *CarNAC1* 基因棉花抗旱能力在产量和纤维品质上均高于受体植株。有研究表明^[24],*OsNAC10* 基因过量表达,显著提高水稻抗旱耐盐性,且正常情况下,转 *OsNAC10* 基因使水稻产量增加 5%~14%,干旱条件下相对于对照增产 25%~42%,该结果与本试验结果一致。

棉花纤维的长度、强度、马克隆值等品质是评价棉花品质的重要指标。培育纤维品质较好的棉花品种是当前棉花育种工作重点之一^[25]。目前,NAC 基因的研究集中在拟南芥^[26]、水稻^[27]等植物上,在棉花中的研究较少。Zhong^[28] 研究报道了 NAC 转录因子 SND1 参与调控拟南芥纤维次生壁合成,在木质部纤维和茎维管束纤维特异表达,SND1

过表达或抑制造成纤维次生壁的加厚或缺失。本研究表明,在干旱胁迫后,转 *CarNAC1* 基因棉花在提高其抗旱性的同时,与受体材料相比,增加棉花产量并保持相对较高的纤维品质水平。由此推测,转 *CarNAC1* 基因棉花的纤维品质受干旱胁迫影响较小。有研究表明^[29]NAC 基因参与调节棉纤维细胞次生壁的合成。*CarNAC1* 基因是否参与调控棉花纤维细胞的合成有待于进一步研究。

光合作用是植物生长和产量形成的生理基础^[30],气孔作为水分和 CO_2 进出叶片的通道,通常在干旱、高温等逆境胁迫下,叶片气孔都有不同程度的关闭^[31]。研究表明^[32],水稻 *SNAC1* 基因在干旱胁迫下,气孔保卫细胞特异表达,促进气孔关闭,降低水分蒸腾速率,但不影响光合速率,因而植株抗旱性大为提高。本试验结果显示,转 *CarNAC1* 基因棉花在受到干旱胁迫后,气孔导度迅速下降,可能是由于 *CarNAC1* 在干旱胁迫下,气孔保卫细胞特异性表达,保持了相对较高的光合能力。通过隶属函数法对 16 个棉花品系进行综合评价,发现大多数转 *CarNAC1* 棉花品系在干旱胁迫下的综合抗旱能力均高于非转基因棉花,并一定程度上提高了植株的生物量和籽棉产量,但少数转 *CarNAC1* 棉花品系在干旱胁迫下的综合抗旱能力低于非转基因棉花。该现象可能是由于响应干旱胁迫时,NAC 转录因子除了被诱导表达外,也可能存在表达受抑制的情况。如 Han^[33] 研究结果表明,番茄 *SlNAC3* 基因在盐、干旱和 ABA 胁迫处理下其转录表达受抑制。

渗透调节是植物耐受干旱环境的重要生理机制^[34]。丙二醛(MDA)、脯氨酸(PRO)、可溶性糖、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、总超氧化物歧化酶(SOD)都是与旱胁迫密切相关的理化指标。本实验研究表明,室内培养条件下,在棉花苗期用 15%的 PEG 干旱模拟胁迫后,供试材料的丙二醛含量随胁迫时间增加均呈现上升趋势,但转基因棉花的丙二醛含量显著低于受体材料 K62。转基因棉花品系的脯氨酸、可溶性糖、过氧化氢酶、过氧化物酶以及总超氧化物歧化酶活力均显著高于受体材料 K62。由以上结果可以推测外源 *CarNAC1* 基因可能提高了棉花抗旱性,增强了棉花自我渗透调节能力。

综上所述,本文通过室内试验和田间试验多方面证明,转 *CarNAC1* 基因提高了棉花抗旱能力,并筛选出综合抗旱能力较强的品系 ZK62-6,将有助于推动

干旱区棉花转基因育种工作。

参 考 文 献:

[1] 孟超敏,蔡彩平,郭旺珍. 棉花抗逆育种研究进展[J]. 南京农业大学学报,2012,35(5):25-34.

[2] 杜磊,王长彪. 棉花主要逆境及研究方法[J]. 生物技术通报,2012,(5):9-14.

[3] 刘全义,张裕繁,严根土. 棉花抗旱盐育种途径探讨[J]. 中国棉花,2000,27(4):2-6.

[4] 刘国强,鲁黎明. 棉花品种资源耐盐性鉴定研究[J]. 中国种业,1993,(2):21-22.

[5] 李忠旺,陈玉梁,罗俊杰,等. 棉花抗旱品种筛选鉴定及抗旱性综合评价方法[J]. 干旱地区农业研究,2017,35(1):240-247.

[6] 胡兴旺,金杭霞,朱丹华. 植物抗旱耐盐机理的研究进展[J]. 中国农学通报,2015,31(24):137-142.

[7] 赵彦平,赵春海. 植物转基因育种的分析与研究[J]. 生物技术通报,2011,(3):72-77.

[8] 蔡永智,祝建波,郝晓云,等. 转过氧化氢酶基因 *KatG* 棉花的抗旱性[J]. 西北农业学报,2013,22(12):56-61.

[9] 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.

[10] 李伟,韩蕾,钱永强,等. 非生物逆境胁迫相关 NAC 转录因子的生物信息学分析[J]. 西北植物学报,2012,32(3):454-464.

[11] 史红飞,高翔,陈其皎,等. 小麦 NAC 转录因子的基因克隆与序列分析[J]. 麦类作物学报,2011,31(03):395-401.

[12] 申玉华,徐振军,杨晓坡,等.紫花苜蓿 NAC 转录因子 *MsNAC1* 基因的克隆、生物信息学分析及非生物逆境胁迫下的表达分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(6):1312-1319.

[13] 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.

[14] 罗莉琼,吕波,陈旭,等. *OsNAC2* 通过 ABA 依赖途径负调控水稻的多种非生物胁迫反应[J]. 复旦学报(自然科学版),2016,55(1):89-96.

[15] 葛姗姗,唐桂英,毕玉平,等. 玉米全基因组中 NAC 基因家族的鉴定与分析[J]. 山东农业科学,2015(2):1-6.

[16] 倪志勇,于月华,陈全家,等. 大豆 *GmNAC115* 基因克隆及特征分析[J]. 大豆科学,2016,35(5):754-759.

[17] Shahnejatbushehri S, Muelleroeber B, Balazadeh S. Arabidopsis NAC transcription factor JUNGBRUNNEN1 affects thermomemory-associated genes and enhances heat stress tolerance in primed and unprimed conditions[J]. Plant Signaling & Behavior,2012,7(12):11518.

[18] 张亚莉,张铖,陈晓旭,等. 番茄 NAC 家族基因的鉴定及其功能预测[J]. 安徽农业科学,2014,42(20):6549-6552.

[19] 申玉华,徐振军,唐立红,等. 紫花苜蓿 NAC 类转录因子基因 *MsNAC2* 的克隆及其功能分析[J]. 中国农业科学,2015,48(15):2925-2938.

[20] Movahedi A, Zhang J, Yin T, et al. Functional Analysis of Two Orthologous NAC, Genes, *CarNAC3*, and *CarNAC6*, from *Cicer arietinum*, Involved in Abiotic Stresses in Poplar[J]. Plant Molecular Biology Reporter,2015,33(5):1539-1551.

[21] 彭辉. 七个鹰嘴豆逆境相关基因(*CarNAC1~6* 和 *CarPRP1*)的克隆及功能初步分析[D]. 南京:南京农业大学,2010.

[22] 王艳慧,高洪文,王赞,等. 胶质苜蓿种质资源苗期抗旱性综合评价[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(3):443-447.

[23] 王瑞芳,胡银松,高文蕊,等. 植物 NAC 转录因子家族在逆境响应中的功能[J]. 植物生理学报,2014(10):1494-1500.

[24] Jinseo J, YOUNSHIC K, KWANGHUN B, et al. Root-specific expression of *OsNAC10* improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. [J]. Plant Physiology,2010,153(1):185-97.

[25] 乔艳艳,夏侯维,杨兆光,等. 转优质基因对棉花产量及纤维品质的影响[J]. 安徽农业科学,2015,43(33):54-55.

[26] 郭光艳,柏峰,刘伟,等. 转录因子对木质素生物合成调控的研究进展[J]. 中国农业科学,2015,48(7):1277-1287.

[27] 王晓静,孙林静,马忠友,等. 水稻 α -NAC 基因家族的克隆及生物信息学分析[J]. 山东农业科学,2016,48(4):8-13.

[28] Zhong R, Richardson E A, Ye Z H. Two NAC domain transcription factors, SND1 and NST1, function redundantly in regulation of secondary wall synthesis in fibers of Arabidopsis[J]. Planta,2007,225(6):1603.

[29] 王中娜,商海红,陈婷婷,等. 亚洲棉(*Gossypium arboreum* L.) 纤维次生壁加厚期 NAC 基因的鉴定与表达分析[J]. 棉花学报,2016,28(1):52-64.

[30] 刘瑞显,王友华,陈兵林,等. 花铃期干旱胁迫下氮素水平对棉花光合作用与叶绿素荧光特性的影响[J]. 作物学报,2008,34(4):675-683.

[31] 戴茂华,岳秀琴,刘丽英,等. 花铃期干旱胁迫对棉花光合特性的影响[J]. 安徽农业科学,2015,43(19):4-5.

[32] Khamdok, Songyikhangsuthor, Zilong, et al. Natural Variation in the Sequence of SNAC1 and Its Expression Level Polymorphism in Rice Germplasms under Drought Stress[J]. Journal of Genetics and Genomics,2014,41(11):609-612.

[33] Han Q, Zhang J, Li H, et al. Identification and expression pattern of one stress-responsive NAC gene from *Solanum lycopersicum* [J]. Molecular Biology Reports,2012,39(2):1713-20.

[34] 赵璞,李梦,及增发,等. 植物干旱响应生理对策研究进展[J]. 中国农学通报,2016,32(15):86-92.