

doi: 103969/j. issn. 0490-6756. 2016. 03. 034

# 转 *BnTR1* 基因的烟草对多种逆境胁迫的抗性研究

曹昊昊, 王中浩, 范智勇, 樊丽娟, 陈彩丽, 朱旭辉, 王健美

(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

**摘要:** 将 *BnTR1* 基因转化到了本生烟中, 发现与非转基因对照相比, 转基因烟草对甘露醇和 PEG 模拟干旱表现出较强的抗性, 尤其是 PEG 胁迫时, 三个转基因株系在生物量的积累和整体长势方面都优于对照. 干旱处理 20d 后复水并培养 14d 后, 对照烟草全部枯死, 但是所有转基因烟草都恢复生长直至开花结果. 当把烟草叶片圆片浸泡在系列盐水中, 盐浓度超过 600mM 时, 对照烟草圆片受损白化, 而转基因烟草圆片能保持较大面积的绿色. 热激蛋白基因 *HSP90* 和 *HSP70* 在所有烟草中的表达量都有明显提高, 其表达量的增加在对照和转基因株系中并无差异, 但是在正常条件下不表达的 *HSF30* 和 *sHSP17.6* 基因在热激处理后都表达了, 而且 *HSF30* 的表达量增加了 50%, *sHSP17.6* 的表达量增加了 30%.

**关键词:** 转基因烟草; *BnTR1*; 盐胁迫; 干旱胁迫

**中图分类号:** Q945      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0490-6756(2016)02-0453-06

## Analysis of a variety of abiotic stresses in *Nicotiana benthamiana* transformed *BnTR1*

CAO Hao-Hao, WANG Zhong-Hao, FAN Zhi-Yong, FAN Li-Juan,  
CHEN Cai-Li, ZHU Xu-Hui, WANG Jian-Mei

(Key Laboratory of Bio-resources and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences,  
Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**Abstract:** *BnTR1* was transformed into *Nicotiana benthamiana*. Compared with the control, this transgenic plant shows a better resistance to mannitol and PEG, especially in growth status and accumulation of biomass under PEG stress. After 20 days under drought treatment, plants were rewatered and then cultivated for 2 weeks, and all transgenic *Nicotiana benthamiana* were recovered from wilting, and all wild type *Nicotiana benthamiana* died. These results indicated that *Nicotiana benthamiana* can be resistant to drought with *BnTR1*. When leaves were treated with hydrosaline solution, transgenic *Nicotiana benthamiana* could maintain green even as salt concentration was above 600mM, while control plants became albino. This result suggested that chloroplast and chlorophyll in transgenic *Nicotiana benthamiana* can be more stable under salt stress, and transgenic *Nicotiana benthamiana* can be more resistant to salt stress. After heat shock, the expression of *HSP90* and *HSP70* in transgenic *Nicotiana benthamiana* and controls were all up-regulated, and there were no significant difference in increment between transgenic plants and controls. The expression of *HSF30* and *sHSP17.6* were also induced which can't be detected in normal condition, *HSF30* increasing 50% and *sHSP17.6* increasing 30%.

**Key words:** transgenic *Nicotiana benthamiana*. ; *BnTR1*; salt stress; drought stress

收稿日期: 2015-02-08

基金项目: 国家自然科学基金(31271758)

作者简介: 曹昊昊(1991-), 男, 河南洛阳人, 硕士, 研究方向为分子遗传学与基因工程. E-mail: 773546642@qq.com.

通讯作者: 王健美, E-mail: wangjianmei@scu.edu.cn

## 1 引言

目前,土壤盐渍化和干旱问题日益突出,我国盐渍土地面积大,分布广,为世界之最<sup>[1]</sup>.全世界大约有 3.8 亿  $\text{hm}^2$ <sup>[2]</sup>土地存在不同程度的盐渍化,中国各类盐碱地面积总计约 9913 万  $\text{hm}^2$ ,而且每年土壤盐碱化和次生盐碱化不断加重,使农业生产的可持续发展受到威胁<sup>[3]</sup>.因此,在人口不断增加、耕地日趋减少的情况下,全面了解植物的耐盐机理、开发利用耐盐植物资源对农业发展、粮食安全、生态环境等具有重要意义<sup>[4]</sup>.国内外许多实验证明,筛选耐盐性品种,利用生物治盐、改盐是改善生态环境、提高盐碱化土地利用效率的一条有效途径<sup>[5]</sup>.

盐胁迫和干旱胁迫是影响植物生长、降低作物产量的不利因素,直接影响植物的种子萌发和幼苗生长,最终导致作物产量品质下降,种子萌发和幼苗生长是植物整个生命周期的关键<sup>[6]</sup>.最近的研究表明,植物在胁迫条件下进行很多机能的调控,包括活性氧的清除和提高抗氧化系统的能力<sup>[7]</sup>,积累甜菜碱和脯氨酸等可溶性大分子物质,从而维护内环境的稳定.植物所需的能量主要来源于光合作用和呼吸作用.在盐渍环境中,植物合成相溶性分子及排除积累过多的无机离子都会增加能耗.胁迫处理影响植物的生长,必然直接或间接影响植物的光合作用<sup>[8]</sup>.叶绿素的合成可以代表光合作用的强弱.Erik Alexandersson<sup>[9]</sup>,Jong Hum Kim<sup>[10]</sup>和奉斌<sup>[11]</sup>等人也在胁迫处理条件下研究了拟南芥和烟草等的生长和生理变化.

为了适应复杂多变的环境,植物进化了一系列的适应机制,包括形态结构和分子水平的适应<sup>[12]</sup>.*BnTR1*是在甘蓝型油菜中发现的定位于细胞膜上的 E3 连接酶.前期的研究表明过量表达 *BnTR1* 基因的油菜和转该基因的拟南芥、水稻都表现出对高温的耐受性,而且 *BnTR1* 能够调节植物细胞钙离子通道活性<sup>[13]</sup>.

本研究以烟草作为研究材料,通过农杆菌介导的转基因技术将 *BnTR1* 基因转到本生烟中,获得了 12 个本生烟转基因独立株系.用甘露醇、PEG 模拟干旱条件,对转基因烟草和非转基因烟草(以下简称对照)进行了胁迫处理,同时,对多个转基因株系和对照进行干旱实验,以考察 *BnTR1* 基因是否赋予烟草抗旱能力.参考黄承健等<sup>[14]</sup>通过叶片叶绿素剩余量考察苎麻耐盐性的方法,我们也考察了转基因烟草的耐盐能力.最后,通过反转录

PCR 分析了解了转基因烟草和对照中几个重要的热激相关基因的转录水平表达情况.该研究以烟草为对象,设计多种逆境胁迫,探讨 *BnTR1* 基因赋予烟草的抗逆特性,为研究 *BnTR1* 基因的功能提供更多的理论基础.

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

植物材料:本生烟都是由中国科学院成都生物所马欣荣老师实验室提供.

Taq DNA Polymerase、植物总 RNA 提取试剂盒购于北京天根公司;反转录试剂盒购于 Takara 公司;引物由华大基因合成;其他化学试剂为国产分析纯.根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)EHA105 菌株(含链霉素和利福平抗性)和载体 pCAMBIA2301 由本实验室保存.

### 2.2 实验方法

2.2.1 转基因烟草的鉴定及 *BnTR1* 基因表达量检测 通过农杆菌介导法转化烟草<sup>[15]</sup>,获取转基因烟草,选取正常条件下(28℃,16h 光照,8h 黑暗,湿度 70%)培养的较健壮的转基因烟草和非转基因烟草(以下简称对照)植株,CTAB 法提取叶片基因组总 DNA,以质粒 pCAMBIA2301G-*BnTR1* 作为阳性对照,用 *BnTR1*-F 和 *BnTR1*-R 为引物进行 PCR 扩增,反应条件为:94℃ 预变性 5 min;然后进入循环:94℃ 变性 30 s、57℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 1 min,共 30 个循环.最后 72℃ 延伸 10 min 后,电泳检测扩增产物.同时,提取上述植物叶片总 RNA,反转录成 cDNA,用 *BnTR1*-F 和 *BnTR1*-R 为引物进行 PCR 扩增,以 18S rRNA 基因作为内参基因,反应条件为:94℃ 预变性 5 min;然后进入循环:94℃ 变性 30 s、57℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 1 min,共 30 个循环.最后 72℃ 延伸 10 min 后,电泳检测扩增产物.引物序列见表 1.

2.2.2 甘露醇模拟干旱胁迫 将转基因烟草种子和对照播种在 MS 培养基上,等种子吸水膨胀刚刚露白时,转移到含有 400mM 甘露醇的 MS 培养基上继续萌发生长,10d 后观察萌发情况,并拍照,统计萌发率.萌发阶段和胁迫阶段的光温条件都是烟草正常的培养条件.

2.2.3 PEG20000 模拟干旱胁迫 将转基因烟草种子和对照播种在 MS 培养基上,萌发生长 30d 后,将烟草幼苗转移到含有 5% PEG20000 的 1/2MS 液体培养基中培养,30d 后观察表型变化,并

统计鲜重和株高. 培养条件同上.

2.2.4 干旱胁迫处理 将转基因烟草种子和对照直接播种在灭菌后营养土中, 正常条件下培养, 每隔 3d 浇一次水, 50d 后停止浇水, 干旱处理 20d, 期间观察记录烟草的变化情况. 干旱处理 20d 后恢复浇水, 复水后继续正常培养 14d.

2.2.5 NaCl 胁迫处理 选取健壮的转基因烟草和对照植株, 用打孔器从叶片上取圆片, 各取 8 个圆片放入不同浓度盐溶液中(0 mM, 200 mM, 400 mM, 600 mM, 800mM)浸泡, 处理 3d 后观察圆片的形态和颜色等.

2.2.6 热激相关基因的表达分析 将转基因烟草种子和对照直接播种在 MS 培养基上, 正常条件下(28℃, 16h 光照, 8h 黑暗, 湿度 70%)培养, 培养 10d 后将转基因烟草幼苗和对照烟草幼苗转移至 45℃ 的生长室里面热激处理 1h, 然后提取上述植物叶片总 RNA, 反转录成 cDNA, 用表 1 中所示 *HSP90*, *HSP70*, *HSP30*, *sHSP17.6* 基因引物, 进行 PCR 扩增, 以 *Nbl25* 作为内参基因. 电泳检测扩增产物.

表 1 引物名称及序列

引物名称	引物序列(5'→3')
<i>BnTR1</i> F	ATTTTCATTTGGAGAGAACACGG
<i>BnTR1</i> R	TCAGACTGGTGTGGGTTGGATATTG
18S F	AGCCGATGGAAGTTTGAG
18S R	CCCAGCACGACAGAGTTT
Nbhsp70F	GCTGAGGACAAGACCACAGGGC
Nbhsp70R	CTTAGGGCCTGCACCGCCAC
Nbhsp90F	CCTTGCTGCTTGGTTACCGGGG
Nbhsp90R	GGTGGCATGTCAGTTCGCCA
Nbshsp17.6F	CCTTATGGACGCCCGCGGTG
Nbshsp17.6R	TGGGCTCAGGAGGAGGCAACT
Nbhsf30F	GGGCTGCATGACGTGGGTCC
Nbhsf30R	ACGCCCCGGATCCTTGTTGG
NbL25F	CCTTATGGACGCCCGCGGTG
NbL25R	AGCCCGGGGACACATCCTC

### 3 结果

#### 3.1 转基因烟草的鉴定及 *BnTR1* 的表达量的分析

取健壮的烟草植株叶片, CTAB 法提取总 DNA, 以此为模板进行基因组 PCR 扩增, 检测结果如图 1A 所示, 6 个转基因株系中都检测到与阳性对照大小相同的目标条带, 说明目的基因已经成功转入受体植株基因组内. 同时, 提取健壮的植株

的叶片总 RNA, 进行反转录 PCR 扩增, 所有转基因株系都有 *BnTR1* 基因的转录水平的表达, 选取了其中表达量较高的几个株系进行进一步的研究.

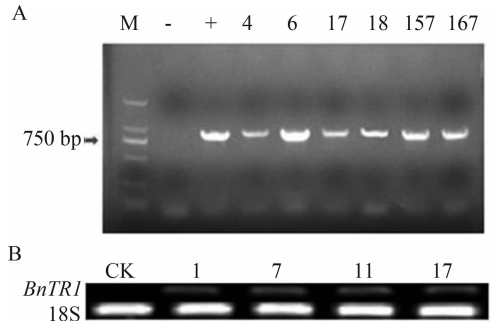


图 1 转 *BnTR1* 基因的烟草鉴定及烟草中 *BnTR1* 基因转录水平检测

A. 转 *BnTR1* 基因烟草基因组 PCR 鉴定结果 M: DL2000; -: 空白对照; +: 质粒; 4, 6, 17, 18, 157, 167: 不同的转基因株系; B. 转基因烟草中 *BnTR1* 基因转录水平检测结果 CK: 对照烟草 1, 7, 11, 17: 不同的转基因株系

Fig. 1 Identification of the transgenic *N. benthamiana* and detection of the *BnTR1* transcriptional level in *N. benthamiana*

#### 3.2 转基因烟草对甘露醇和 PEG 模拟干旱胁迫具有较强的抗性

将播种在 MS 培养基上, 刚刚萌发露白的烟草种子, 转移到含有 400mM 甘露醇的 MS 培养基上胁迫培养, 10d 后观察萌发情况. 结果发现露白的对照烟草种子基本上不再萌发, 但是, 转基因烟草有 80% 以上都继续萌发并生长, 尤其是 1, 4, 11 三个转基因株系全部萌发(如图 2A). 将在 MS 培养基中生长了 30d 的烟草幼苗转移到含有 5% PEG20000 的 1/2MS 液体培养基中生长, 30d 后观察不同材料的生长发育情况. 结果发现 3 个转基因株系烟草都比对照长得好(如图 2C 和 D). 将每个株系中生长表现最好的三株选出来进行比较, 转基因株系在生物量的积累、植株长势等多方面都优于对照株系(如图 2E 和 F).

#### 3.3 转基因烟草对干旱处理表现出很强的抗性

将烟草种子播种到营养土中, 正常条件下培养生长 50d, 停止浇水 20d, 然后复水, 正常培养 14d, 观察拍照. 干旱处理前, 在正常培养条件下, 转基因烟草和对照烟草长势一致(如图 3A). 停止浇水 12d 时, 对照烟草开始出现萎焉现象, 多数叶片失水下垂, 但是三个转基因烟草株系仅仅基部 1-2 片叶子出现轻度失水(如图 3B). 停止浇水 20d 时, 所

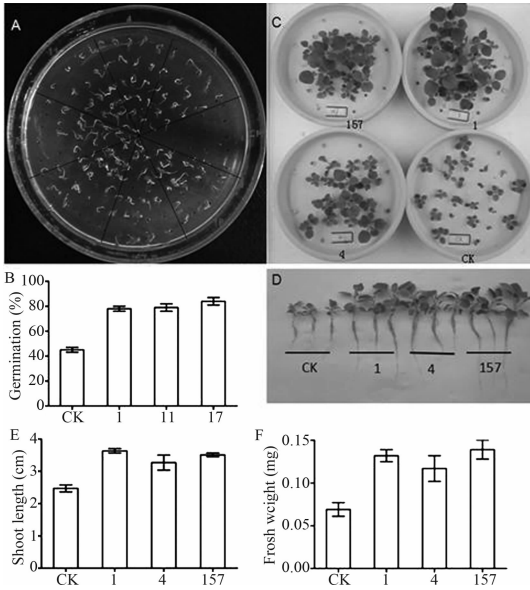


图 2 转 *BnTR1* 基因的烟草在甘露醇和 PEG20000 胁迫下的种子萌发及表型变化

A. 转 *BnTR1* 基因的烟草在 400mM 甘露醇胁迫下的种子萌发情况;B. 在含有 150mM 甘露醇的 MS 培养基中生长 7d 的烟草种子萌发率;C. 培养在含 5%PEG20000 水溶液中 30d 的烟草幼苗的生长发育情况;D. 每个株系中生长最好的三株;E. 培养在含 5%PEG20000 的水溶液中 30d 的不同烟草幼苗的株高;F. 培养在含 5%PEG20000 的水溶液中 30d 的不同烟草幼苗的鲜重 CK:对照烟草;1,4,11,17,18,157,167:不同的转基因株系

Fig. 2 The seed germination and the phenotype variation of transgenic *N. benthamiana* under the stress of Mannitol and PEG20000

有的烟草材料都严重失水,叶片萎焉下垂(如图 3C). 干旱处理 20d 后,复水,转基因烟草慢慢恢复生长,但是对照烟草无法恢复,继续正常培养 14d,转基因烟草部分叶片恢复,并长出一些新叶,直至开花结果,而对照烟草全部枯死(如图 3D).

### 3.4 转基因烟草叶绿体和叶绿素对 NaCl 胁迫更稳定

从对照烟草和三个转基因株系叶片上打孔取圆片,各取 8 个圆片放入系列盐浓度(0,200,400,600,800mM)水溶液中浸泡处理 3d,结果发现盐浓度在 400mM 以下时,对照烟草和转基因烟草的叶片圆片在形态和颜色上没有太大差异,但是,在 600mM 盐水中,对照烟草叶片圆片周围受胁迫损伤面积大,程度高,圆片绿色面积相对较小,而三个转基因株系受损伤面积小,程度低,圆片绿色面积相对较大. 盐浓度在 800mM 时,对照烟草叶片完全白化,圆片几乎没有绿色,而三个转基因株系一半以上圆片保持着绿色,只有少数圆片外观近似对

照,上述结果充分表明,*BnTR1* 基因赋予烟草叶片对 NaCl 胁迫的抗性,使得在盐胁迫条件下,转基因烟草叶片中叶绿体和叶绿素更加稳定,尤其是 1 号转基因株系,这种抗性和稳定性超过其它株系(如图 4).

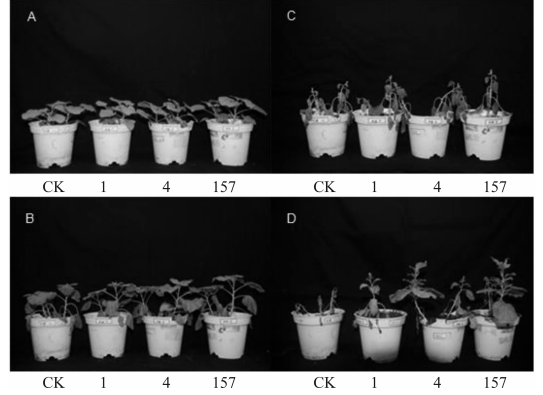


图 3 转 *BnTR1* 基因的烟草在干旱处理下的表型变化 1. 正常条件下生长 50d 的烟草;B. 干旱处理 12d 的烟草;C. 干旱处理 20d 的烟草;D. 复水后培养 14d 的烟草 CK:对照烟草;1,4,157:不同的转基因株系

Fig. 3 The phenotype variation of transgenic *N. benthamiana* under the stress of drought

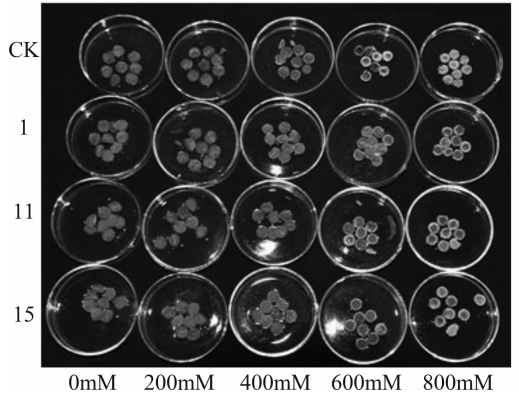


图 4 转 *BnTR1* 基因的烟草叶片在不同盐浓度处理下的变化情况

CK:对照烟草;1,11,15:不同的转基因株系

Fig. 4 The variation of transgenic *N. benthamiana* blade under the stress of NaCl

### 3.5 烟草中 Hsp 基因家族在热激处理后转录水平表达量大幅升高

将对照烟草和三个转基因烟草株系在 45℃ 热激处理 1h,然后取样提取总 RNA,反转录 PCR 分析烟草中四个热激相关蛋白基因的转录水平的表达情况,同时,以 *Nbl25* 作为内参基因调整模板量. 结果发现,热激处理前,所有烟草中热激蛋白 *HSP90* 和 *HSP70* 有一定量的表达,但是,这两个基因的表达量在对照和转基因烟草之间并无差异,

而转录因子 *HSF30* 和小的热激蛋白 *sHSP17.6* 在正常培养条件下, 没有 mRNA 的表达. 但是, 在热激处理 1h 后, 热激蛋白 *HSP90* 和 *HSP70* 在所有烟草中的表达量都提高了, 增加的量在对照材料和转基因株系中并无差异. 但是, 热激前后, 变化最大的是 *HSF30* 和 *sHSP17.6*. 一方面, 热激后对照和三个转基因株系中, *HSF30* 和 *sHSP17.6* 都有了表达, 另一方面, 热激后转基因株系中这两个基因的表达量的增加比对照多, 阴影积分显示 *HSF30* 大概增加了 50% 以上, *sHSP17.6* 的增加了 30% 以上(如图 5).

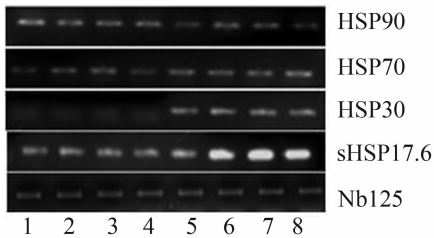


图 5 反转录 PCR 分析几个重要的热激相关基因的表达量  
1, 2, 3, 4: 热激前的 CK, 1, 11, 17; 5, 6, 7, 8: 热激后的 CK, 1,  
11, 17 CK: 对照烟草; 1, 11, 17: 不同的转基因株系

Fig. 5 Transcriptional analysis on several heat shock related genes

## 4 讨论

通过农杆菌介导的转基因技术, 我们将来源于油菜的 *BnTR1* 基因转到了本生烟中, 并成功获得了 12 个表达 *BnTR1* 基因的转基因独立株系. 经过连续两代自交, 获得了纯合的转 *BnTR1* 基因的烟草. 选取其中 *BnTR1* 基因表达量较高的几个株系进行逆境抗性实验.

在 MS 培养基上, 转基因烟草和对照种子都能正常萌发, 但是将刚刚萌发露白的烟草种子转移到含有 400mM 甘露醇的 MS 培养基上胁迫时, 对照烟草种子基本上不再萌发生长, 而转基因烟草有 80% 以上都能够继续萌发并生长. 若将在 MS 培养基中生长了 30d 的烟草幼苗转移到含有 5% PEG20000 的 1/2MS 液体培养基中生长 30d 后, 3 个转基因株系烟草都比对照长势好. 甘露醇和 PEG 常常被用来模拟干旱条件, 主要是造成培养环境中水势的增加, 造成渗透胁迫, 用此来考察研究对象对渗透胁迫的抗性水平<sup>[16, 17]</sup>. 上述结果充分说明来源于油菜的 *BnTR1* 基因在烟草中的表达, 促使转基因烟草对渗透胁迫产生了抗性. 将转基因烟草和对照种子播种到营养土中, 正常条件下

培养生长 50d 后停止浇水, 12d 后对照烟草多数叶片失水萎焉, 但是三个转基因烟草株系仅仅基部 1-2 片叶子出现轻度失水, 20d 后, 所有的烟草材料都严重失水, 叶片萎焉下垂. 停止浇水 20d 后, 恢复浇水 14d, 转基因烟草部分叶片恢复, 并长出一些新叶, 直至开花结果, 而对照烟草全部枯死, 该实验充分证明 *BnTR1* 基因使转基因烟草获得了对干旱胁迫的抗性.

植物通过关闭气孔, 减少叶蒸发面积, 减少水分丧失, 生成渗透物质等一系列应激措施来保证其在干旱条件下能够生长并在严重脱水的情况下保证其主要器官伤害很轻或基本不受到伤害<sup>[18]</sup>. 在干旱条件下 *BnTR1* 基因有可能通过调节气孔的关闭从而减少水分的丧失速率, 通过生成渗透物质使植物在束缚更多的水分, 防止渗透胁迫条件下细胞脱水变性.

参考黄承健等<sup>[14]</sup>通过叶片叶绿素剩余量考察苧麻耐盐性的方法, 我们考察了转基因烟草的耐盐能力. 从对照烟草和三个转基因株系叶片上打孔取圆片, 各取 8 个圆片放入系列盐浓度水溶液中浸泡处理 3d, 在盐浓度在 400mM 以下时, 对照烟草和转基因烟草的叶片圆片在形态和颜色上没有太大差异, 当盐浓度超过 600mM 时, 对照烟草叶片圆片周围受胁迫损伤面积大, 程度高, 圆片绿色面积小, 而三个转基因株系受损伤面积小, 程度低, 圆片绿色面积相对较大. 盐浓度在 800mM 时, 对照烟草叶片完全白化, 圆片几乎没有绿色, 而三个转基因株系一半以上圆片保持着绿色, 只有少数圆片外观近似对照. 这些结果充分显示 *BnTR1* 基因赋予烟草叶片对 NaCl 胁迫的抗性, 使转基因烟草叶片中叶绿体和叶绿素更加稳定.

植物在盐渍环境中通过积累渗透物质, 调节离子的吸收和区域化, 维护膜系统的完整性, 增加大分子蛋白的积累等几个方面来抵抗或减轻盐胁迫<sup>[19]</sup>. 植物对盐渍适应的同时在细胞中积累一定数量的可溶性有机物质, 作为渗透调节剂进行渗透调节, 以适应外界的低水势. 植物细胞中积累的大部分  $\text{Na}^+$  被运输并贮藏在液泡中, 使得植物因为渗透势降低而吸收水分, 同时避免了过量的无机离子对代谢造成的伤害.

将对照烟草和三个转基因株系 45℃ 热激处理后, 结果所有烟草材料中热激蛋白 *HSP90* 和 *HSP70* 都有一定的转录水平的表达, 并且表达量在对照和转基因烟草之间并无差异, 而转录因子

HSF30 和小的热激蛋白 sHSP17.6 在正常培养条件下 mRNA 的表达量很低,基本上检测不到.热激处理后,HSP90 和 HSP70 在所有烟草中的表达量都增加了,增加的量在对照材料和转基因株系中并无差异.热激后,HSF30 和 sHSP17.6 在对照和三个转基因株系中都有表达,而且转基因株系中的表达量比对照多.刘志斌<sup>[13]</sup>等发现油菜中 *BnTR1* 基因的 mRNA 受热诱导表达,而且 *BnTR1* 基因在油菜中过量表达后,油菜增加了对热的耐受性,其中的多个热相关基因包括一些热激蛋白和热激转录因子在过量表达 *BnTR1* 基因的油菜中的表达量要高很多,转 *BnTR1* 基因的水稻在高温胁迫以后,产量明显增加.植物在干旱和盐胁迫条件下可以使得植物体内的钙离子通道活性增强,从而通过钙离子的相关途径来达到对于胁迫条件的耐受性<sup>[20]</sup>.由于过量表达 *BnTR1* 基因后,拟南芥  $Ca^{2+}$  信号通道活性增加,推测 *BnTR1* 基因可能通过  $Ca^{2+}$  信号来激活热激转录因子来调控热应答反应.本研究结果以不同的研究材料进一步支持了该结论,但是具体的机制有待深入研究.

#### 参考文献:

- [1] 范智勇,王亭亭,柴靓,等.盐胁迫和干旱胁迫对蓝花子种子萌发和幼苗生长的影响[J].北方园艺,2011(02):7.
- [2] 马建华,郑海雷.植物耐盐的分子生物学基础[J].生物学杂志,2007,24(1):5.
- [3] 杨小环,马金虎,郭数进,等.种子引发对盐胁迫下高粱种子萌发及幼苗生长的影响[J].中国生态农业学报,2011,19(1):103.
- [4] 孙建昌,王兴盛,杨生龙,等.植物耐盐性研究进展[J].干旱地区农业研究,2008,26(1):226.
- [5] 郇树乾,刘国道,张旭元,等. NaCl 胁迫对刚果臂形草种子萌发及幼苗生理效应的研究[J].中国草地,2004,26(6):45.
- [6] 金美芳,朱晓清. NaCl 胁迫对油菜种子萌发和幼苗生长的影响[J].种子,2009,28(9):76.
- [7] 代其林,奉斌,刘婷婷,等.甘蓝型油菜幼苗对 NaCl 胁迫的抗氧化应答[J].基因组学与应用生物学,2009,28(4):725.
- [8] 赵昕,吴雨霞,赵敏桂,等. NaCl 胁迫对盐芥和拟南芥光合作用的影响[J].植物学通报,2007,24(2):154.
- [9] Alexandersson E, Danielson J ÅH, R Johan, *et al.* Transcriptional regulation of aquaporins in accessions of Arabidopsis in response to drought stress [J]. The Plant Journal,2010,61(4):650.
- [10] Kim J H, Kim W T. The Arabidopsis RING E3 Ubiquitin Ligase AtAIRP3/LOG2 Participates in Positive Regulation of High-Salt and Drought Stress Responses [J]. Plant Physiology,2013,162, pp. 1733.
- [11] 奉斌,代其林,刘婷,等.转 *IrrE* 基因甘蓝型油菜对 NaCl 胁迫的耐受性应答[J].四川大学学报:自然科学版,2011,48(03):708.
- [12] Catala R, Ouyang J, Abreu I A, *et al.* The Arabidopsis E3 SUMO Ligase SIZ1 Regulates Plant Growth and Drought Responses [J]. The Plant Cell,2007,19: 2952.
- [13] Liu Z B, Wang J M, Yang Y, *et al.* A novel membrane-bound E3 ubiquitin ligase enhances the thermal resistance in plants [J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(1): 93.
- [14] 黄承建,赵思毅,王龙昌,等.干旱胁迫对苧麻叶绿素含量的影响[J].中国麻业科学,2012,34(5):208.
- [15] 赵莉,钟鸣,马慧,等.农杆菌介导的烟草高效遗传转化体系的建立[J].江苏农业科学,2011,39(3):67.
- [16] Tarczynski M C, Jensen R G, Bohnert H J, *et al.* Stress Protection of Transgenic Tobacco by Production of the Osmolyte Mannitol [J]. Science,1993, 259(5094):508.
- [17] Bolen D W. Effects of naturally occurring osmolytes on protein stability and solubility: issues important in protein crystallization [J]. Methods, 2004, 34(3):312.
- [18] 李吉跃.植物耐寒性及其机理[J].北京林业大学学报,1991,13(3):92.
- [19] 孙建昌,王兴盛,杨生龙,等.植物耐盐性研究[J].干旱地区农业研究,2008,26(1):226.
- [20] Xu F, Zhang D W, Zhu F, *et al.* A novel role for cyanide in the control of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings response to environmental stress [J]. Plant, cell & environment, 2012, 35(11): 1983.