

DOI: 10.11686/cyxb2017504

http://cyxb.magtech.com.cn

李敏, 苏国霞, 熊沛枫, 等. 转多抗基因新疆大叶苜蓿光合生理特征对土壤水分变化的响应. 草业学报, 2018, 27(11): 95—105.

Li M, Su G X, Xiong P F, et al. Responses of photosynthetic physiological traits in transgenic alfalfa expressing multi-functional genes during soil moisture change. Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(11): 95—105.

## 转多抗基因新疆大叶苜蓿光合生理 特征对土壤水分变化的响应

李敏<sup>1</sup>, 苏国霞<sup>1</sup>, 熊沛枫<sup>1</sup>, 康继月<sup>2</sup>, 郭尚洙<sup>3</sup>, 王智<sup>1,2\*</sup>, 徐炳成<sup>1,2\*</sup>

(1. 西北农林科技大学黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100; 3. 韩国生命工学研究院植物系统工程研究中心, 韩国 大田 305-806)

**摘要:**以新疆大叶苜蓿及其为母本的 4 种转基因株系(SN:转 *AtNDPK2* 基因;SC:转 *codA* 基因;SOR:转 *IbOr* 基因;SAF:转 *AtABF3* 基因)为研究材料,通过盆栽控制试验,比较研究了不同土壤水分条件下始花期各株系苜蓿的光合和荧光参数特征。结果表明,随土壤含水量从 80% FC(田间持水量)降至 40% FC,各株系叶片净光合速率( $P_n$ )、蒸腾速率( $T_r$ )和气孔导度( $G_s$ )均呈下降趋势,叶片瞬时水分利用效率( $WUE_i$ )呈上升趋势。在 40% FC 时,各转基因株系  $P_n$  值(11.19~21.58  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )均显著( $P < 0.05$ )大于非转基因株系(6.06  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),各株系间  $WUE_i$  无差异但以转 *AtABF3* 基因株系最大(3.22  $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ )。土壤水分降低过程中,各株系叶片初始荧光( $F_o$ ),最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和光化学淬灭系数( $qP$ )值总体呈下降趋势,实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )和表观电子传递效率(ETR)值呈先上升后下降,而非光化学淬灭系数(NPQ)值整体呈上升趋势。转基因株系  $qP$  值出现显著下降时的土壤水分含量(50% FC)低于非转基因(70% FC)苜蓿。在 40% FC 时,转基因株系  $F_v/F_m$  (0.78~0.82)值显著高于非转基因苜蓿(0.58)。总体表明,转多抗基因均不同程度地提高水分胁迫条件下新疆大叶苜蓿的光合性能,其中转 *codA* 基因株系可维持较高光合速率,转 *IbOr* 基因株系能维持较高光能利用能力,转 *AtABF3* 基因株系能够高效利用水分,转 *AtNDPK2* 基因株系总生物量最高。

**关键词:**多抗基因;紫花苜蓿;干旱胁迫;光合特征;荧光参数

### \* Responses of photosynthetic physiological traits in transgenic alfalfa expressing multi-functional genes during soil moisture change

LI Min<sup>1</sup>, SU Guo-xia<sup>1</sup>, XIONG Pei-feng<sup>1</sup>, KANG Ji-yue<sup>2</sup>, KWAK Sang-soo<sup>3</sup>, WANG Zhi<sup>1,2\*</sup>, XU Bing-cheng<sup>1,2\*</sup>

1. State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling 712100, China; 3. Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Biotechnology and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

**Abstract:** The photosynthetic and fluorescence characteristics of alfalfa (cv. Xinjiang Daye) and four transgenic lines (SN: transgenic *AtNDPK2*, SC: transgenic *codA*, SOR: transgenic *IbOr*, SAF: transgenic *AtABF3*) at the early flowering stage were investigated and compared under different soil moisture conditions in a pot exper-

\* 收稿日期:2017-12-13;改回日期:2018-03-28

基金项目:国家自然科学基金(31700335),西北农林科技大学博士科研启动费(2452015341)和韩国生命工学研究院启动项目(KRIBB Initiative Program)资助。

作者简介:李敏(1991-),女,山西吕梁人,在读硕士。E-mail: 549024295@qq.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: wangzhi712@nwfu.edu.cn, Bexu@ms.iswc.ac.cn

iment. Results showed that the net photosynthetic rate ( $P_n$ ), transpiration rate ( $T_r$ ) and stomatal conductance ( $G_s$ ) of all lines showed a decreasing trend as soil moisture decreased from 80% FC (field capacity) to 40% FC, while instantaneous water use efficiency ( $WUE_i$ ) exhibited an increasing trend. At 40% FC,  $P_n$  values of transgenic lines were 11.19–21.58  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , significantly ( $P < 0.05$ ) higher than that of non-transgenic (NT) plants (6.06  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). There were no differences in  $WUE_i$  among all alfalfa lines and the SAF line had the highest value (3.22  $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ ). As soil moisture decreased, the initial fluorescence ( $F_o$ ), maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) and photochemical quenching coefficient ( $qP$ ) values exhibited declining trends, and actual photochemical efficiency ( $\Phi_{PSII}$ ) and apparent electron transfer efficiency (ETR) values initially increased and then declined, while non-photochemical quenching coefficient (NPQ) values showed an increasing trend. The  $qP$  values of transgenic lines decreased significantly at 50% FC, while that of NT was 70% FC. Under 40% FC,  $F_v/F_m$  values of transgenic lines were 0.78–0.82, and were significantly higher than that of NT (0.58). This suggests that the expression of multi-functional genes could improve photosynthetic properties of Xinjiang Daye to some extent and that transgenic *codA* is able to sustain a high photosynthetic rate, transgenic *IbOr* line can maintain higher light use ability, transgenic *AtABF3* is able to utilize water more efficiently, while transgenic *AtNDPK2* had the highest total biomass production with decreasing soil moisture.

**Key words:** multi-functional gene; alfalfa; drought stress; photosynthetic characteristics; fluorescence parameter

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 是一种优良的多年生豆科牧草, 具有营养价值高、适应能力强、产量高等特点, 有“牧草之王”的美称, 在全球范围内被广泛种植, 也是我国栽种面积最大的牧草种之一<sup>[1]</sup>。紫花苜蓿生物固氮和较高的生长速率能够显著改善土壤性状和提高地表盖度, 是一种优良的水土保持植物<sup>[2]</sup>。但苜蓿属于高耗水作物, 水分是影响其分布和产量的主要因子。在我国北方旱区, 降水量少且年季分布不均, 培育具有较强抗旱性的苜蓿品种, 对解决因水分亏缺造成的苜蓿品质差、产量低问题, 以及促进苜蓿产业的持续发展具有重要意义。

在优良苜蓿品种培育过程中, 采用杂交、回交、自然选择以及接种真菌等传统方法可以对苜蓿抗旱性进行改良<sup>[3]</sup>。相比传统育种方法, 转基因技术具有周期短、效率高、成本低且可以定向改良遗传性状等特点<sup>[4]</sup>。自 1986 年 Deak 等<sup>[5]</sup>首次培育出转 *pGA471* 基因苜蓿以来, 采用转基因技术已培育出了许多抗逆性强的苜蓿品种, 如通过对编码渗透调节物质合成基因<sup>[6]</sup>、功能性蛋白和有机分子合成酶基因<sup>[7]</sup>、信号分子与转录因子基因<sup>[8]</sup>、活性氧清除分子基因<sup>[9]</sup>等的克隆以及在植物体内的表达, 均能够提高苜蓿的抗逆性。

胆碱氧化酶基因 (*codA*) 的表达产物甜菜碱是一种重要的渗透调节物质, 能够有效地稳定生物大分子的结构和功能, 维持酶活性以及膜的高度有序性, 从而提高植物的耐逆性<sup>[10]</sup>。*NDPK2* 基因是与核苷二磷酸激酶 (NDPKs) 合成密切相关的基因之一, 该酶可维持细胞二磷酸核苷 (NDP) 和三磷酸核苷 (NTP) 的代谢平衡, 与细胞的生长和分化、信号转导密切相关, 并参与干旱、热胁迫等响应过程<sup>[11–12]</sup>。*ABF3* 是编码 ABF/AREB 转录因子的基因, ABF/AREB 转录因子参与脱落酸 (abscisic acid, ABA) 或胁迫诱导的信号传递过程进而提高植物对环境胁迫的耐受性<sup>[13]</sup>。*Orange* 基因 (*Or*) 能够通过诱导无色质体分化为有色体的代谢途径来促进类胡萝卜素积累, 类胡萝卜素为一种光合色素和非酶促抗氧化系统的重要组成部分, 在植物的抗逆生理中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。

目前, 已对上述 4 种基因的转基因新疆大叶株系在干旱等胁迫下的生理生化特性进行了研究, 但有关光合生理的变化特征还未涉及<sup>[15–18]</sup>。光合作用作为植物生长发育的基础, 能直接反映外界环境因子对植物生理过程的影响。植物对外界环境特征的响应可以通过光合生理特征予以展现, 并可通过叶绿素荧光参数的变化来反映<sup>[19]</sup>。因此, 本研究通过设置不同水分条件, 模拟土壤水分降低过程中干旱加剧, 对比研究了 4 种转多抗基因株系及其母本新疆大叶苜蓿的光合及荧光参数特征的响应过程和差异, 以期明确 4 种多抗基因的表达对苜蓿抗性生理状况的影响, 为苜蓿抗旱新品种的培育提供依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以新疆大叶苜蓿(NT)及其为母本的 4 种转基因株系[SN:转拟南芥 *NDPK2* 基因(*AtNDPK2*);SC:转球形节杆菌 *codA* 基因(*codA*);SOR:转甘薯 *IbOr* 基因(*IbOr*);SAF:转拟南芥 *ABF3* 基因(*AtABF3*)]为研究材料。转基因植株由韩国生命工学研究院提供。试验土壤为陕北天然草地耕层(0~30 cm)黄绵土,土壤养分含量分别为:全氮  $0.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,全磷  $0.67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,有机质  $19.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。土壤 pH 值 8.21,田间最大持水量(field capacity, FC)为 20%,萎蔫系数(wilting point)为 4%。

### 1.2 试验处理

采用盆栽控制试验,规格为  $10 \text{ cm} \times 56 \text{ cm}$ (内径 $\times$ 高度)底部封堵的 PVC 管,每桶装 4.5 kg 干土,装桶时桶底铺碎石子,沿内壁放一根内径为 2 cm 的 PVC 管作为灌水管。

2016 年 3 月中旬,将培养于 1/2 MS 培养基的各转基因苜蓿幼苗转移到基质[有机质含量 $>20\%$ 、 $\text{N}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{K}_2\text{O}$  总养分 $>1.5\%$ (富含多种矿物质成分)、通气孔隙度 $>20\%$ 、pH 8.12]中于培养箱(光照时间 6:00~20:00,温度  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ )内进行扩繁,待其生长至分枝期(4 月末)后剪取长势一致的枝条在 1/4 Hoagland(pH 6.5~7.0)溶液中水培生根,温室光照时间 14 h(6:00~20:00),昼温  $25\sim 28 \text{ }^\circ\text{C}$ ,夜温  $18\sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。培育 2 周后,当枝条新生根达到 10 cm 左右,挑选地上和地下部分长势一致的枝条移栽于试验桶中在室外防雨棚下进行土培,每桶 1 株。苗期充分供水(土壤含水量保持 80% FC 左右),并在各桶覆盖 2 cm 珍珠岩,以减少土壤表面水分蒸发。

当植株处于始花期时开始水分处理(8月1日),土壤含水量由 80% FC 逐渐降至 70% FC 后维持 3 d,随机选取 3 株进行指标测定(8 月 4 日),继续降至 60% FC、50% FC、40% FC 后分别于各土壤含水量水平下控水 3 d 后(8 月 7 日、8 月 10 日、8 月 13 日)测定各项指标(图 1),并保留 3 桶植株至试验结束用于收取生物量。处理总数=5(株系) $\times$ 18(重复)=90(桶)。土壤含水量采用称重法控制,控水于每日 18:00 进行。

### 1.3 测定项目与方法

**1.3.1 光合气体交换参数** 采用 Li-6400 便携式光合仪(LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA)测定。在测定当日 9:00~11:30 选取植株第 3 茎节充分展开叶进行测定,重复 3 次。测定时光强设定为  $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。项目包括:净光合速率( $P_n$ ,  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),蒸腾速率( $T_r$ ,  $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),气孔导度( $G_s$ ,  $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),叶片瞬时水分利用效率( $\text{WUE}_i$ ,  $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ )= $P_n/T_r$ 。

**1.3.2 叶绿素荧光参数** 采用 Imaging-PAM 荧光仪(imaging PAM, WALZ, effeltrich, germany)测定。测定当日清晨,植株经暗适应 30 min 后,选取植株第 3 茎节充分展开叶测定,重复 3 次。项目包括:初始荧光( $F_0$ )、最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )、光化学淬灭系数( $qP$ )、非光化学淬灭系数(NPQ)、表观光合量子传递速率(ETR)。

**1.3.3 生物量** 试验结束后,分别收集每桶植株地上和地下生物量。地上生物量在  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  杀青 15 min,  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  烘干至恒重,最后称其干重(g)。植株根系经水冲洗后装入信封袋在  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  烘干至恒重称其干重(g)。总生物量(g)=地上生物量+地下生物量。

### 1.4 数据分析

采用 SPSS 21.0 软件对试验数据进行统计分析,用平均值和标准误表示测定结果,分别对同一水分条件下不同株系间以及同一株系不同水分处理下进行单因素方差分析,用 LSD 进行显著性检验( $P \leq 0.05$ ),采用 Sigma-Plot 10.0 进行绘图。

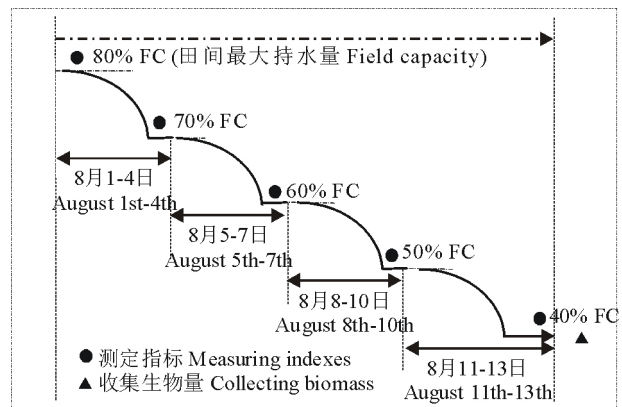


图 1 土壤水分处理示意图

Fig. 1 Diagram of soil water treatment

## 2 结果与分析

### 2.1 转多抗基因新疆大叶苜蓿的光合气体交换参数

在 80% FC 时,SAF 和 SOR 的  $P_n$  值显著高于 NT、SC 和 SN( $P < 0.05$ ),SN 的  $P_n$  值显著最低( $P < 0.05$ )。当土壤水分降低至 70% FC 时,各转基因株系的  $P_n$  值间无显著差异但均显著大于 NT( $P < 0.05$ ),在 60% FC 时,株系间  $P_n$  值无显著差异,50% FC 时,SC 与 SOR 无显著差异,但均显著大于其他各株系( $P < 0.05$ )。当土壤水分为 40% FC 左右时,SN、SAF 和 SOR 的  $P_n$  相对 80% FC 分别显著下降了 61.0%、75.6% 和 69.4% ( $P < 0.05$ ),而 NT( $6.06 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )降低幅度最大,显著降低了 84.3% ( $P < 0.05$ )。此时 SC 的  $P_n$  值为  $21.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,显著下降了 43.8% ( $P < 0.05$ ),但仍显著高于其余各株系( $P < 0.05$ )(图 2A)。

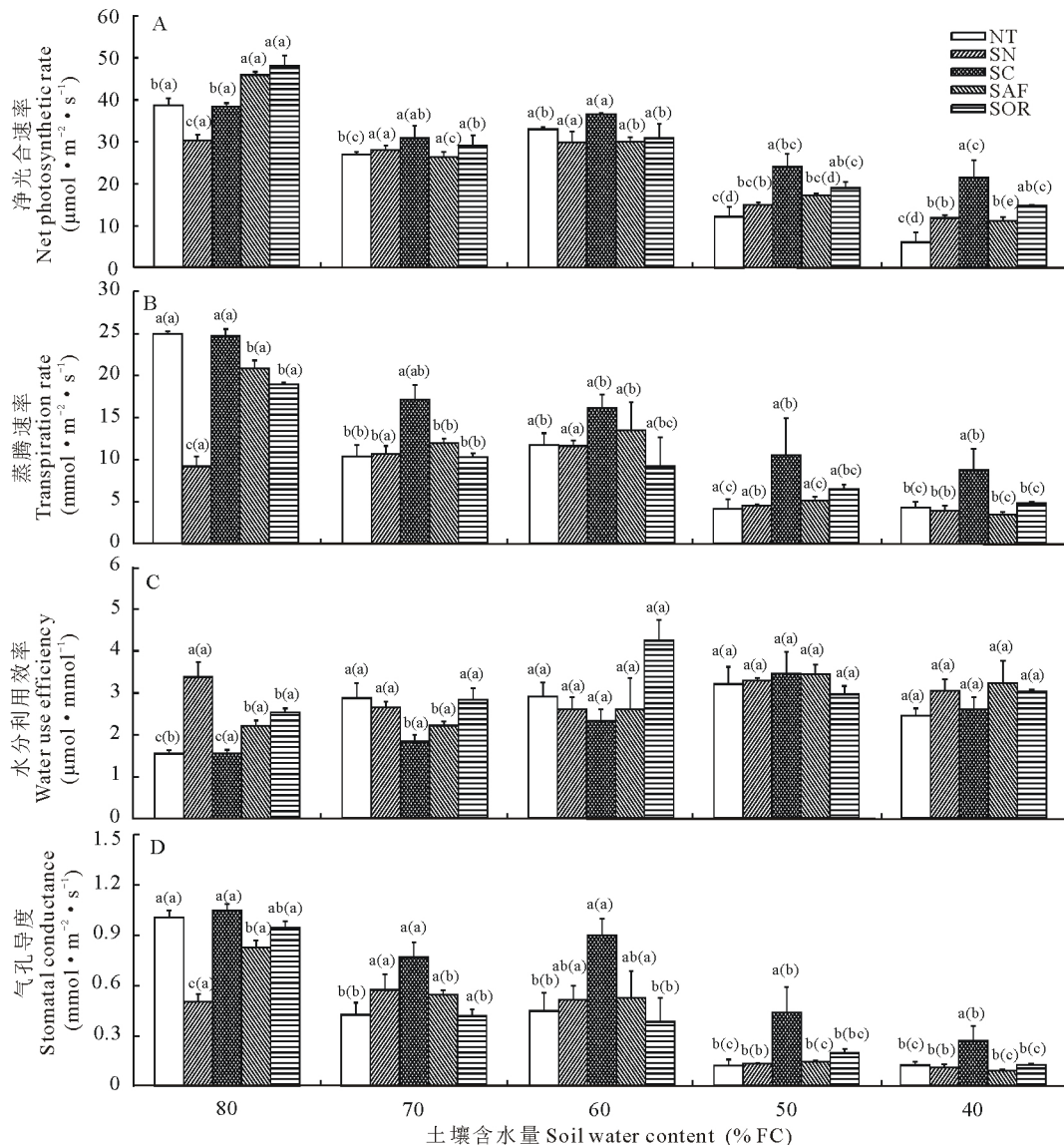


图 2 不同土壤含水量条件下各株系净光合速率、蒸腾速率、水分利用效率及气孔导度变化

Fig. 2 The leaf net photosynthesis rate ( $P_n$ ), transpiration rate ( $T_r$ ), water use efficiency ( $WUE_i$ ) and stomatal conductance ( $G_s$ ) of all alfalfa lines under each soil water content

NT: 新疆大叶苜蓿 Xinjiang Daye alfalfa; SN: 转 *AtNDPK2* 基因株系 Transgenic *AtNDPK2* lines; SC: 转 *codA* 基因株系 Transgenic *codA* lines; SAF: 转 *AtABF3* 基因株系 Transgenic *AtABF3* lines; SOR: 转 *IbOr* 基因株系 Transgenic *IbOr* lines. 不同小写字母表示同一水分处理下株系间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 括号内不同小写字母表示同一株系水分处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。Different small letters above the bars indicate significant differences between alfalfa lines ( $P < 0.05$ ); different small letters in bracket show significant differences among soil water contents for each alfalfa line ( $P < 0.05$ ). The same below.

在 80% FC 时,NT 和 SC 的  $T_r$  值显著高于 SN、SAF 和 SOR( $P<0.05$ ),SN 的  $T_r$  值显著最低( $P<0.05$ )。随着土壤水分下降,SC 和 SOR 的  $T_r$  值逐渐下降,于 40% FC 时降至最低,分别显著下降 64.2%和 74.3%( $P<0.05$ );NT 和 SAF 的  $T_r$  值随土壤水分降低呈先下降后上升再下降的趋势,土壤水分降至 40% FC 时,NT、SN 和 SAF 分别显著下降 82.3%、56.4%和 82.8%( $P<0.05$ ),此时 SC 的  $T_r$  值最大且显著大于其他株系( $P<0.05$ ),其他株系间差异不显著(图 2B)。

在土壤水分下降过程中,各株系的叶片  $WUE_i$  值总体呈升高趋势。80% FC 时,SN 的  $WUE_i$  显著高于其他株系( $P<0.05$ ),SAF 与 SOR 无显著差异,但均显著大于 NT 和 SC。70% FC 时,SC 和 SAF 的  $WUE_i$  显著低于其他株系( $P<0.05$ )。土壤水分由 60%降至 40% FC 过程中,各株系的  $WUE_i$  无显著差异,在 40% FC 时以 SAF 的  $WUE_i$  最大(图 2C)。

在 80% FC 时,NT 和 SC 的  $G_s$  值显著最高,SAF 与 SOR 无显著差异但显著小于 SC 和 NT,以 SN 显著最低( $P<0.05$ )。在土壤水分下降过程中,SAF 的  $G_s$  值一直呈降低的趋势,在 40% FC 时降至最低值,相对 80% FC 显著下降了 89.0%。SN 的  $G_s$  值呈先上升后下降的趋势,在 70% FC 时升至最高值后下降,在 40% FC 时下降至最低,相对 80% FC 显著下降 77.4%( $P<0.05$ );NT 和 SC 的  $G_s$  值呈先下降后上升再下降的趋势,在 40% FC 时,NT 和 SC 的  $G_s$  值分别显著下降了 87.5%和 74.4%( $P<0.05$ ),SC 的  $G_s$  值显著高于其他株系( $P<0.05$ ),其他株系间无显著差异(图 2D)。

2.2 转多抗基因新疆大叶苜蓿的叶绿素荧光参数

2.2.1 初始荧光( $F_0$ ) 80% FC 时,各株系间的  $F_0$  值无显著差异。与 80% FC 相比,在土壤水分降至 40% FC 时,SN 的降幅最大,显著降低了 34.3%( $P<0.05$ ),SAF 的降幅最小为 8.1%。SC 的  $F_0$  值在 80%和 70% FC 维持较高水平,而后显著下降。在 40% FC 时,以 SAF、SC 和 SOR 的  $F_0$  值最大,但相互间无显著差异。在水分降低过程中,NT 的  $F_0$  值呈先降后升趋势,40% FC 时仅比 80% FC 低 0.3%(表 1)。

表 1 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片初始荧光( $F_0$ )值

Table 1 Leaf initial fluorescence ( $F_0$ ) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	0.07±0.004a(a)	0.06±0.002b(a)	0.05±0.001bc(b)	0.04±0.002c(b)	0.05±0.002bc(b)
SN	0.07±0.001a(a)	0.06±0.002b(a)	0.06±0.005a(a)	0.04±0.001bc(b)	0.04±0.002c(b)
SC	0.07±0.002a(a)	0.06±0.002ab(a)	0.05±0.002c(b)	0.04±0.002bc(b)	0.05±0.004abc(b)
SAF	0.06±0.002a(ab)	0.07±0.003a(a)	0.06±0.004a(b)	0.05±0.004ab(bc)	0.06±0.002a(bc)
SOR	0.07±0.001a(a)	0.06±0.001ab(ab)	0.06±0.004ab(ab)	0.06±0.005a(ab)	0.06±0.002ab(b)

注:同一列数字后不同小写字母表示相同水分条件下品系间差异显著( $P<0.05$ ),括号内不同小写字母表示同一株系水分处理间差异显著( $P<0.05$ ),下同。

Note: Values within a column followed by different small letters indicate significant differences between alfalfa lines under same soil water content ( $P<0.05$ ). Different small letters within a row in bracket show significant differences among soil water contents for each alfalfa line ( $P<0.05$ ). The same below.

2.2.2 最大光化学效率( $F_v/F_m$ ) 80% FC 时,SAF 的  $F_v/F_m$  值显著低于 NT 和 SN( $P<0.05$ ),除 SAF 外其余 4 株系间无显著差异( $P<0.05$ )。在土壤水分下降至 40% FC 时,NT 和 SOR 的  $F_v/F_m$  值降至最低值,且 NT 的  $F_v/F_m$  值显著低于其他各株系( $P<0.05$ ),各转基因株系中,以 SAF 最低,显著低于 SN 和 SC( $P<0.05$ ) (表 2)。

2.2.3 实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ ) 80% FC 下,NT 的  $\Phi_{PSII}$  值显著最低( $P<0.05$ ),4 种转基因株系的  $\Phi_{PSII}$  值间差异不显著,以 SOR 最高。各株系的  $\Phi_{PSII}$  值在土壤水分为 70% FC 时达到最高值后开始下降,在 40% FC 时降至最低值。在土壤水分为 40% FC 时,与 80% FC 相比,NT、SN、SC、SAF 和 SOR 分别显著下降 85.7%、

76.0%、78.8%、68.0%和 62.6%( $P<0.05$ ),SOR 的  $\Phi_{PSII}$  值显著高于 SC、SN 和 NT( $P<0.05$ ),SOR 和 SAF 间差异不显著,NT 的  $\Phi_{PSII}$  值最小且显著小于 SOR 和 SAF(表 3)。

**2.2.4 光化学淬灭( $qP$ )和非光化学淬灭(NPQ)** 80% FC 下,各株系的  $qP$  值间无显著差异,以 NT 最低。各株系  $qP$  值在土壤水分分为 70% FC 时上升至最高后开始下降,在 40% FC 时降到最低,与 80% FC 相比,NT、SN、SC、SAF 和 SOR 的  $qP$  值分别显著下降 78.0%、65.9%、69.2%、55.8%和 51.1%( $P<0.05$ ),SAF 的  $qP$  值显著高于 SC 和 NT,与 SOR 间无显著差异,且 SC 和 NT 二者差异不显著,以 NT 的  $qP$  值最低(表 4)。

表 2 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片最大光化学效率( $F_v/F_m$ )值

Table 2 Leaf maximum photochemical efficiency values of PS II ( $F_v/F_m$ ) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	0.83±0.002a(a)	0.82±0.002a(ab)	0.82±0.003a(b)	0.70±0.003d(e)	0.58±0.002c(d)
SN	0.83±0.002a(a)	0.82±0.001a(a)	0.80±0.011ab(b)	0.82±0.005ab(a)	0.82±0.003a(a)
SC	0.83±0.003ab(a)	0.82±0.003a(ab)	0.81±0.008a(b)	0.83±0.004a(a)	0.82±0.012a(b)
SAF	0.82±0.003b(a)	0.80±0.002c(ab)	0.78±0.010b(c)	0.79±0.010c(bc)	0.79±0.011b(bc)
SOR	0.82±0.001ab(a)	0.81±0.002b(ab)	0.80±0.055ab(b)	0.80±0.010bc(b)	0.80±0.002ab(b)

表 3 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )值

Table 3 Leaf active photochemical efficiency values of PS II ( $\Phi_{PSII}$ ) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	0.57±0.02b(b)	0.65±0.00b(a)	0.30±0.02b(c)	0.19±0.04b(d)	0.08±0.02c(e)
SN	0.61±0.01ab(a)	0.63±0.01b(a)	0.39±0.03a(b)	0.23±0.03b(c)	0.15±0.02bc(d)
SC	0.62±0.02ab(a)	0.62±0.01b(a)	0.12±0.00c(c)	0.25±0.05b(b)	0.13±0.03bc(e)
SAF	0.61±0.02ab(a)	0.65±0.00b(a)	0.39±0.01a(b)	0.38±0.02a(b)	0.19±0.03ab(c)
SOR	0.63±0.01a(b)	0.70±0.00a(a)	0.41±0.03a(c)	0.41±0.03a(c)	0.23±0.03a(d)

表 4 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片光化学淬灭( $qP$ )值

Table 4 Leaf photochemical quenching coefficient of PS II ( $qP$ ) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	0.73±0.03a(b)	0.85±0.01b(a)	0.50±0.02b(c)	0.40±0.10b(d)	0.16±0.05c(e)
SN	0.78±0.01a(a)	0.84±0.02b(a)	0.64±0.02a(b)	0.45±0.05ab(c)	0.26±0.03ab(d)
SC	0.79±0.02a(a)	0.80±0.02c(a)	0.26±0.01c(c)	0.43±0.07b(b)	0.24±0.05bc(e)
SAF	0.78±0.03a(b)	0.87±0.00b(a)	0.66±0.01a(c)	0.63±0.01a(c)	0.34±0.05ab(d)
SOR	0.82±0.02a(b)	0.93±0.01a(a)	0.65±0.02a(c)	0.62±0.02a(c)	0.40±0.04a(d)

80% FC 时,各株系的 NPQ 值无显著差异。土壤水分下降过程中,SAF 和 SOR 的 NPQ 值呈逐渐上升趋势,在土壤含水量为 40% FC 时升至最高值。其他各株系的 NPQ 值随土壤水分下降总体呈先升后降趋势,NT 和 SN 于 50% FC 时升至最高值后下降,SC 的则为 60% FC 时升至最高值后下降。40% FC 时,NT、SN、SC、SAF 和 SOR 的 NPQ 值相比 80% FC 分别显著升高 489.4%、606.5%、647.9%、491.8%和 307.0%( $P<0.05$ ),SN 的 NPQ 值显著高于 NT、SOR 和 SAF( $P<0.05$ )(表 5)。

表 5 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片非光化学淬灭(NPQ)值  
Table 5 Leaf non-photochemical quenching coefficient of PS II (NPQ) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	0.09±0.01a(c)	0.10±0.00ab(c)	0.55±0.05b(b)	0.76±0.06ab(a)	0.51±0.03b(b)
SN	0.10±0.01a(d)	0.12±0.01a(d)	0.42±0.06bc(c)	0.83±0.06a(a)	0.69±0.05a(b)
SC	0.08±0.01a(c)	0.08±0.01c(c)	0.90±0.03a(a)	0.60±0.09b(b)	0.61±0.06ab(b)
SAF	0.08±0.01a(b)	0.08±0.01bc(b)	0.36±0.05c(a)	0.40±0.06c(a)	0.47±0.06b(a)
SOR	0.11±0.02a(c)	0.09±0.01bc(c)	0.35±0.07c(b)	0.28±0.03c(b)	0.47±0.03b(a)

2.2.5 各株系表观光合量子传递效率(ETR) 80% FC时,SOR的ETR值显著高于NT( $P<0.05$ ),且4种转基因苜蓿间差异不显著。各株系的ETR值在土壤水分减少时呈先上升后下降趋势。SC和SOR在土壤含水量为50% FC达到最大值,其他株系在60% FC时均升至最大而后下降。在40% FC时,NT的ETR值提高了121.6%,而各转基因株系SN、SC、SAF和SOR的ETR值分别显著升高271.0%、229.0%、395.5%和479.1% ( $P<0.05$ )(表6)。

表 6 不同土壤含水量条件下各株系苜蓿叶片表观光合量子传递效率(ETR)值  
Table 6 Apparent electron transport rate values of PS II (ETR) values of all alfalfa lines under each soil water content

株系 Lines	80% FC	70% FC	60% FC	50% FC	40% FC
NT	9.32±0.31b(c)	10.60±0.16b(c)	75.70±4.88b(a)	48.02±9.04b(b)	20.65±4.43c(c)
SN	9.90±0.09ab(d)	10.37±0.21b(d)	97.82±7.32a(a)	57.60±12.93b(b)	36.72±4.00bc(c)
SC	10.10±0.30ab(c)	10.22±0.21b(c)	31.27±0.98c(b)	64.52±7.34b(a)	33.22±4.68bc(b)
SAF	9.90±0.34ab(c)	10.65±0.05b(c)	98.40±2.40a(a)	95.87±5.64a(a)	49.05±6.73ab(b)
SOR	10.26±0.16a(c)	11.47±0.09a(c)	104.50±7.90a(a)	105.25±6.79a(a)	59.45±7.35a(b)

### 2.3 转多抗基因新疆大叶苜蓿的生物量

试验结束时,SN的地上生物量显著大于NT,转基因株系SC和SOR与NT间无显著差异,而SAF则显著小于NT。各株系间地下生物量均无显著差异;总生物量以SN最大,且显著大于NT( $P<0.05$ ),4种转基因苜蓿株系的总生物量无显著差异。SC、SN、SOR和SAF苜蓿的总生物量较NT分别提高了12.3%、36.5%、29.4%和13.8%(图3)。

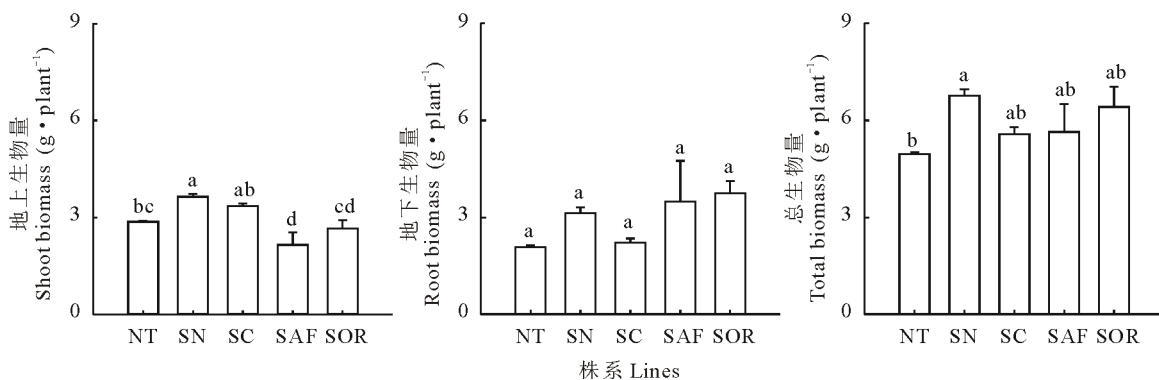


图 3 各株系地上生物量、地下生物量和总生物量

Fig. 3 The shoot biomass, root biomass and total biomass production of each alfalfa line

### 3 讨论

水分是影响植物光合生理特性的重要因子<sup>[20]</sup>。水分胁迫会引起植物气孔关闭,降低叶绿体活性,影响电子传递、光合磷酸化及暗反应等一系列过程,使植物的光合速率降低<sup>[21]</sup>。光合作用是受水分胁迫影响最为明显的生理过程之一,叶绿素荧光参数更具有反映气体交换“内在性”特点,所以常用于评价环境胁迫对植物叶片光合器官结构与功能的影响<sup>[22]</sup>。叶绿素荧光参数中的初始荧光( $F_0$ )值是 PS II 反应中心处于完全开放时的荧光产量,其减小表明天线色素热耗散增加,增大表明 PS II 反应中心遭受严重损伤,而最大光化学效率( $F_v/F_m$ )的高低与植物光合速率的高低密切相关<sup>[23]</sup>。本研究中,当土壤水分从 80% FC 降至 70% FC 时,非转基因、转 *AtABF3* 和转 *IbOr* 基因株系的  $P_n$ 、 $G_s$  值显著下降,但三者的  $F_v/F_m$  并未发生显著变化,说明此阶段光系统并未受到损伤,且  $P_n$  下降可能是由于  $G_s$  下降造成胞内  $CO_2$  供应不足即气孔限制引起的<sup>[24]</sup>。当土壤水分从 60% FC 降至 40% FC 时,各株系的  $P_n$  和  $G_s$  值均显著下降,但转基因株系的  $F_v/F_m$  值均未发生显著变化,仅非转基因株系的  $F_v/F_m$  值显著下降,且从 50% FC 降至 40% FC 时,其  $F_0$  值显著上升,说明此阶段 NT 的  $P_n$  值下降不仅受气孔限制影响,其光系统也受到严重损伤,而各转基因株系  $P_n$  值下降的原因仍然是气孔限制<sup>[25]</sup>。

在土壤水分下降过程中,以转 *codA* 基因株系  $P_n$  值最高(图 2),尤其是土壤水分为 50% FC 和 40% FC 时,除与转 *IbOr* 基因株系无差异外,均显著大于其他各株系,这可能与 *codA* 基因参与渗透物质甜菜碱的合成而使植株维持较高的渗透压有关。研究表明,转 *codA* 基因新疆大叶株系的甜菜碱、脯氨酸和叶片相对含水量在干旱胁迫下均能维持较高水平且显著大于非转基因植株<sup>[16]</sup>, Sakamoto 等<sup>[26]</sup>对转 *codA* 基因水稻(*Oryza sativa*)的研究指出,叶肉细胞中甜菜碱含量的增加对转基因植株的 PS II 反应中心可提供更有效的保护。植物 PS II 反应中心的活性可用表观光合量子传递效率(ETR)来反映,它是表征光合能力大小的有效参数<sup>[27]</sup>。本研究中转 *codA* 基因株系 ETR 值在 50% FC 降至 40% FC 时显著下降,而其他株系的 ETR 值出现显著下降时的土壤含水量均要高于此(表 6),说明转 *codA* 基因株系 PS II 反应中心活性受损程度较其他株系要小<sup>[28]</sup>。因此转 *codA* 基因株系具有高光合速率的原因可能是 *codA* 基因过表达使植物体内甜菜碱含量增多,从而维持细胞在干旱胁迫下的渗透压、提高 PS II 反应中心抗性,保持其转基因株系在干旱胁迫下的高光合效率。

植物的实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )是评价光合电子传递速率快慢的指标,也可反映植物 PS II 反应中心活性<sup>[29]</sup>。本研究中,各株系叶片  $\Phi_{PSII}$  和 ETR 值随土壤水分下降均呈先升高后降低的趋势,但二者发生显著降低时所对应的土壤水分存在差异(表 3 和表 6)。 $\Phi_{PSII}$  值在土壤水分从 70% FC 降至 60% FC 各株系均显著下降,而 ETR 值在 60% FC 降至 50% FC 以及 50% FC 到 40% FC 才显著下降,说明 ETR 值变化要滞后于  $\Phi_{PSII}$  值,这可能是因为植物为了有效适应干旱胁迫,将光反应中心大量电子分配到光化学反应中<sup>[30]</sup>。当土壤水分为 50% FC 和 40% FC 时,转基因株系的  $\Phi_{PSII}$  和 ETR 值均显著高于非转基因,说明转基因株系的光系统对于干旱胁迫具有更强的耐受性<sup>[31]</sup>。在各转基因株系中,以转 *IbOr* 基因的  $\Phi_{PSII}$  值和 ETR 值显著最高,说明转 *IbOr* 基因株系能在干旱胁迫下 PS II 反应中心维持较高的电子传递效率<sup>[27]</sup>,这是其具有较高  $P_n$  值的重要原因,同时转 *IbOr* 基因株系的非光化学淬灭系数(NPQ)的变化也可对此做出进一步说明。NPQ 是衡量过剩激发能耗散的重要指标,植物可通过增大 NPQ 将过剩光能耗散以保护光合器官不受损伤来适应外界环境变化。在土壤水分下降过程中,转 *IbOr* 基因株系的 NPQ 值变化幅度最小,且在 40% FC 时仍能显著上升(表 5),说明其能通过增加热耗散对光系统起到了很好的保护作用<sup>[32]</sup>,这是其体内类胡萝卜素含量上升所导致的。类胡萝卜素在淬灭过剩光能使光系统在胁迫下免遭严重损伤中起重要作用<sup>[33]</sup>。*IbOr* 基因能够通过诱导无色质体分化为有色体的代谢途径来促进类胡萝卜素积累<sup>[34]</sup>,对转 *IbOr* 基因新疆大叶株系的研究表明,其总类胡萝卜素及其组分叶黄素、紫黄质的含量较非转基因株系均显著升高,这是转 *IbOr* 基因株系具有较高光合速率的物质基础<sup>[14]</sup>。

在干旱环境下,植物会通过调节碳同化和水分消耗之间的关系来提高叶片水分利用效率( $WUE_i$ )<sup>[35]</sup>,本研究中,各株系  $P_n$  下降的同时  $T_r$  下降程度更大,说明植株可通过减小蒸腾速率来提高水分利用效率,这是植物的重要抗旱策略之一<sup>[36]</sup>。在土壤水分为 40% FC 时,以转 *AtABF3* 株系的  $WUE_i$  最高(图 2),这可能是由于 *AtABF3* 基因与脱落酸(ABA)的信号传递过程相关。ABA 对气孔开启具有明显的抑制作用,它在植物受到胁迫



时可迅速合成并传递至地上部分引起气孔关闭降低蒸腾速率而提高水分利用效率,以更好地应对干旱胁迫<sup>[37]</sup>。但 ABA 也可促进子叶脱落、抑制植物细胞生长<sup>[38]</sup>,转 *AtABF3* 基因新疆大叶株系的研究表明,转基因株系的叶面积较非转基因显著减小了 30% 以上<sup>[14]</sup>,这是转 *AtABF3* 株系的地上生物量显著最低的重要原因之一。地上生物量和总生物量仅有转 *AtNDPK2* 株系的显著大于非转基因株系(图 3),这与 *AtNDPK2* 基因的功能密不可分。Choi 等<sup>[39]</sup>对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)*ndpk2* 缺失突变体研究生长发育与 *NDPK2* 的关系,发现 *NDPK2* 参与生长素相关的子叶发育、生长素极性运输等,以促进植物生长发育;也有研究表明 *AtNDPK2* 基因的过表达会促使吲哚乙酸分泌,可促进细胞分裂分化和促使植物生长,这是转 *AtNDPK2* 株系地上生物量和总生物量显著大于非转基因的原因之一<sup>[40]</sup>。

综上所述,在土壤水分下降过程中,转基因株系在光合生理中表现出了优于非转基因的特性,其中转 *codA* 基因株系可维持较高的净光合速率,转 *AtABF3* 基因株系能够高效利用水分,转 *IbOr* 基因株系能够维持较高的光能利用能力,转 *AtNDPK2* 基因株系的地上生物量显著提升。本研究主要是在始花期开展的短期初步探索,转基因能否对苜蓿整个生育期的光合及最终产量产生影响,还需进一步就各株系在不同生育期的光合生理及其根冠生长进行更深入系统的研究,为高产优质耐旱苜蓿新品种的培育奠定基础。

#### 参考文献 References:

- [1] Sun J H, Wang Y R, Yu L. Growth characteristics and their correlation with the yield of *Medicago sativa*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2004, 13(4): 80–86.  
孙建华,王彦荣,余玲. 紫花苜蓿生长特性及产量性状相关性研究. *草业学报*, 2004, 13(4): 80–86.
- [2] Yang J H, Zhang G C, Liu X, *et al.* Study on benefits of alfalfa conserving soil and water. *Journal of Soil Erosion and Soil and Water Conservation*, 1997, 3(2): 91–96.  
杨吉华,张光灿,刘霞,等. 紫花苜蓿保持水土效益的研究. *水土侵蚀与水土保持学报*, 1997, 3(2): 91–96.
- [3] Guo H Q, Ren W B, Xu Z, *et al.* Progress on researches of transgenic of alfalfa. *Journal of Nuclear Agricultural*, 2010, 24(1): 55–61.  
郭慧琴,任卫波,徐柱,等. 紫花苜蓿转基因研究进展. *核农学报*, 2010, 24(1): 55–61.
- [4] Zhao G Q, Mu P, Zhang B. Research progress on *Medicago sativa* genetic engineering. *Acta Prataculturae Sinica*, 2006, 15(6): 9–18.  
赵桂琴,慕平,张勃. 紫花苜蓿基因工程研究进展. *草业学报*, 2006, 15(6): 9–18.
- [5] Deak M, Kiss G B, Koncz C, *et al.* Transformation of *Medicago* by *Agrobacterium* mediated gene transfer. *Plant Cell Reports*, 1986, 5(2): 97–100.
- [6] Park E J, Jeknic Z, Sakamoto A, *et al.* Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in tomato protects seeds, plants, and flowers from chilling damage. *Plant Journal*, 2004, 40(4): 474–487.
- [7] Tang L, Cai H, Ji W, *et al.* Overexpression of *GsZFP1* enhances salt and drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 71: 22–30.
- [8] Jiang Q, Zhang J, Guo X, *et al.* Physiological characterization of transgenic alfalfa (*Medicago sativa*) plants for improved drought tolerance. *International Journal of Plant Sciences*, 2009, 170(8): 969–978.
- [9] Rubio M C, González E M, Minchin F R, *et al.* Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases. *Physiologia Plantarum*, 2002, 115(4): 531–540.
- [10] Sun Z M, Li H B, Zhang L J, *et al.* Physiological mechanism of the enhanced drought tolerance in transgenic poplar (*Populus alba* × *Populus glandulosa*) with *codA* gene. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2017, 23(1): 60–66.  
孙振玫,李红兵,张丽娟,等. 转 *codA* 基因杨树耐旱性增强的生理机制. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(1): 60–66.
- [11] Wang W B, Wang J S, Deng X P, *et al.* Progress of plant nucleoside two kinase (NDPKs) research. *Journal of Agriculture*, 2011, 1(6): 1–5.  
王文斌,王金胜,邓西平,等. 植物核苷二磷酸激酶(NDPKs)研究进展. *农学学报*, 2011, 1(6): 1–5.
- [12] Tang L, Kim M D, Yang K S, *et al.* Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses. *Transgenic Research*, 2008, 17(4): 705–715.
- [13] Roychoudhury A, Paul S, Basu S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Reports*, 2013, 32(7): 985–1006.

- [14] Kim S H, Ahn Y O, Ahn M J, *et al.* Cloning and characterization of an *Orange* gene that increases carotenoid accumulation and salt stress tolerance in transgenic sweetpotato cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 70(1): 445–454.
- [15] Wang Z, Li H B, Ke Q B, *et al.* Transgenic alfalfa plants expressing *AtNDPK2* exhibit increased growth and tolerance to abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 84: 67–77.
- [16] Li H B, Wang Z, Ke Q, *et al.* Overexpression of *codA* gene confers enhanced tolerance to abiotic stresses in alfalfa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 85: 31–40.
- [17] Wang Z, Ke Q B, Kim M D, *et al.* Transgenic alfalfa plants expressing the sweet potato *Orange* gene exhibit enhanced abiotic stress tolerance. *Plos One*, 2015, 10(5): e0126050.
- [18] Wang Z, Su G X, Li M, *et al.* Overexpressing *Arabidopsis ABF3* increases tolerance to multiple abiotic stresses and reduces leaf size in alfalfa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 109: 199–208.
- [19] Li L H, Wang Y, Hu H Y, *et al.* Responses of photosynthetic characters and fluorescence parameters of alfalfa with different drought tolerances to drought. *Acta Agriculture Boreali Sinica*, 2015, 30(4): 126–131.  
李立辉, 王岩, 胡海燕, 等. 初花期干旱对不同抗旱性紫花苜蓿光合特征及荧光参数的影响. *华北农学报*, 2015, 30(4): 126–131.
- [20] Chu J M, Meng P, Zhang J S, *et al.* Effects of soil water stress on the photosynthesis characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of *Cerasus humilis* seedling. *Forest Research*, 2008, 21(3): 295–300.
- [21] Silva J M D, Arrabaça M C. Photosynthesis in the water-stressed C<sub>4</sub> grass *Setaria sphacelata* is mainly limited by stomata with both rapidly and slowly imposed water deficits. *Physiologia Plantarum*, 2004, 121(3): 409–420.
- [22] Xu W Z, Deng X P, Xu B C, *et al.* Photosynthetic activity and efficiency of *Bothriochloa ischaemum* and *Lespedeza davurica* in mixtures across growth periods under water stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014, 36(4): 1033–1044.
- [23] Singh S K, Reddy K R. Regulation of photosynthesis, fluorescence, stomatal conductance and water-use efficiency of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) under drought. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, 105(1): 40–50.
- [24] Escalona J M, Tomàs M, Ribascarbo M, *et al.* Genetic variation of plant water status, water use efficiency and grape yield and quality in response to soil water availability in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Acta Horticulturae*, 2012, 931(931): 143–150.
- [25] Guo X P, Liu Z P, Wang Q M, *et al.* Study on photosynthetic compensatory effects of PEG osmotic stress and rewatering on maize. *Journal of Hohai University (Natural Sciences)*, 2007, 35(3): 286–290.  
郭相平, 刘展鹏, 王青梅, 等. 采用 PEG 模拟干旱胁迫及复水玉米光合补偿效应. *河海大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(3): 286–290.
- [26] Sakamoto A, Murata A N. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold. *Plant Molecular Biology*, 1998, 38(6): 1011–1019.
- [27] Clavel D, Diouf O, Khalfaoui J L, *et al.* Genotypes variations in fluorescence parameters among closely related groundnut (*Arachis hypogaea* L.) lines and their potential for drought screening programs. *Field Crops Research*, 2006, 96(2): 296–306.
- [28] Sakamoto A, Valverde R, Chen T H H, *et al.* Transformation of *Arabidopsis* with the *codA* gene for choline oxidase enhances freezing tolerance of plants. *The Plant Journal*, 2000, 22(5): 449–453.
- [29] Yang H M, Zhang X Y, Wang G X. Relationship between stomatal character, photosynthetic character and seed chemical composition in grass pea at different water availabilities. *Journal of Agricultural Science*, 2004, 142(6): 675–681.
- [30] Zhao C Q, Lu Z G, Pang Y Z, *et al.* Effects of soil water stress on photosynthesis characteristic on *Taxus media*. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science)*, 2003, 28(1): 126–129.  
赵昌琼, 芦站根, 庞永珍, 等. 土壤水分胁迫对曼地亚红豆杉光合特性的影响. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2003, 28(1): 126–129.
- [31] Zhu J M, Meng P, Zhang J S, *et al.* Effects of soil water stress on the photosynthesis characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of *Cerasus humilis* seedling. *Forest Research*, 2008, 21(3): 295–300.  
褚建民, 孟平, 张劲松, 等. 土壤水分胁迫对欧李幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响. *林业科学研究*, 2008, 21(3): 295–300.
- [32] Nazarli H, Faraji F, Zardashti M R. Effect of drought stress and polymer on osmotic adjustment and photosynthetic pigments of sunflower. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 2011, 44(1): 35–41.
- [33] Bai C, Rivera S M, Medina V, *et al.* An *in vitro* system for the rapid functional characterization of genes involved in carotenoid biosynthesis and accumulation. *The Plant Journal*, 2014, 77(3): 464–475.
- [34] Tang Q, Li Y, Yuan Q P. Effects of an ergosterol synthesis inhibitor on gene transcription of terpenoid biosynthesis in

- Blakeslea trispora*. *Current Microbiology*, 2008, 57(6): 527–531.
- [35] Li S, Zhao G J, Xu W Z, *et al.* Responses of old world bluestem root systems to changes in soil water conditions. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(2): 169–177.  
李帅, 赵国靖, 徐伟洲, 等. 白羊草根系形态特征对土壤水分阶段变化的响应. *草业学报*, 2016, 25(2): 169–177.
- [36] Lawlor D W, Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(2): 275–294.
- [37] Kang J, Choi H, Im M, *et al.* Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2002, 14(2): 343–357.
- [38] Chong P F, Zeng J J, Shan L S, *et al.* The physiological response of desert grassland plant *Reamuria soongorica* under drought stress to exogenous ABA. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, 24(5): 1001–1008.  
种培芳, 曾继娟, 单立山, 等. 干旱胁迫下荒漠草地植物红砂幼苗对外源 ABA 的生理响应. *草地学报*, 2016, 24(5): 1001–1008.
- [39] Choi G, Kim J I, Hong S W, *et al.* A possible role for *NDPK2* in the regulation of auxin-mediated responses for plant growth and development. *Plant and Cell Physiology*, 2005, 46(8): 1246–1254.
- [40] Hadi F, Bano A, Fuller M P. The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): The role of plant growth regulators (GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations. *Chemosphere*, 2010, 80(4): 457–462.