

干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗幼苗生理特性和基因表达的影响

农倩^{1,2}, 谢金兰¹, 林丽¹, 莫璋红¹, 王泽平¹, 宋修鹏¹, 李长宁^{1*}

1. 广西甘蔗遗传改良重点实验室/农业农村部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 广西南宁 530007; 2. 广西作物病虫害生物学重点实验室/广西农业科学院植物保护研究所, 广西南宁 530007

摘要: 甘蔗是世界上重要的糖料作物, 但我国甘蔗主产区多数为丘陵旱坡地, 季节性干旱频繁, 已严重影响我国甘蔗糖业的可持续发展。植物激素脱落酸 (ABA) 不仅调节植物生长发育, 在植物应对逆境胁迫的生理生化响应中更不可或缺。本研究选用甘蔗品种‘桂糖 42 号’为材料, 桶栽土培方式, 设置对照 (CK)、CK+ABA、干旱、干旱+ABA 等 4 个处理, 探讨干旱胁迫下叶面喷施 ABA 对苗期甘蔗生理生化特性和相关基因表达的影响, 为应用 ABA 提高甘蔗抗旱性提供理论基础。结果表明, 正常淋水条件下甘蔗叶面喷施 ABA 处理 (CK+ABA) 的主要生理生化参数与基因表达量变化与 CK 差异不显著; 甘蔗叶片相对含水量随着干旱胁迫程度加剧而逐渐下降, 丙二醛 (MDA)、过氧化氢 (H₂O₂) 含量显著上升, 而干旱+ABA 处理能提高甘蔗的保水能力, 并减少 MDA 的积累, 使其含量处于较低水平; 干旱胁迫显著降低甘蔗叶绿素含量, 而干旱+ABA 处理能防止叶绿素降解并对于干旱胁迫引起的光系统 II 实际光化学效率 (Φ PSII) 下降有明显的缓解作用; 干旱胁迫下, 甘蔗内源 ABA 合成限速酶 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (NCED) 编码基因、脯氨酸 (Pro) 合成关键酶 Δ 1-吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 编码基因及过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化物酶 (POD) 编码基因的表达量显著增加, 内源 ABA 含量、Pro 含量和 CAT、SOD、APX、POD 活性显著提高, 而干旱+ABA 处理能更进一步增强上述基因的表达, 使 ABA 含量、Pro 含量及相关抗氧化酶活性的增幅更显著, 从而提高干旱胁迫下甘蔗清除过量活性氧的能力, 降低 H₂O₂ 含量, 提高甘蔗抗旱性。

关键词: 甘蔗; 脱落酸; 干旱胁迫; 生理特征; 基因表达

中图分类号: S566.1 文献标识码: A

Effects of Exogenous ABA on Physiological Characteristics and Gene Expression in Sugarcane Seedlings under Drought Stress

NONG Qian^{1,2}, XIE Jinlan¹, LIN Li¹, MO Zhanghong¹, WANG Zeping¹, SONG Xiupeng¹, LI Changning^{1*}

1. Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement / Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture & Rural Affairs, Nanning, Guangxi 530007, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pest / Plant Protection Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: Sugarcane is an important sugar crop in the world, but the main sugarcane producing areas in China are hilly and dry slopes, and seasonal droughts occur frequently due to the uneven distribution of rainfall. Droughts do great harm to yield and quality and the sustainable development of sugarcane industry in China. The plant hormone abscisic acid (ABA) not only regulates plant growth and development, but also plays an important role in the physiological and biochemical responses of plants environmental stresses. In this study, we used sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) variety ‘Guitang 42’ as the material to investigate the effects of exogenous ABA on leaf physiological characteristics and gene expressions under water stress condition in treatments control (normal irrigation), control+ABA, drought (stop irrigation), drought+ABA. The foliar application of 15 μ mol/L ABA was sprayed twice in two days before drought stress

收稿日期 2022-05-10; 修回日期 2022-06-27

基金项目 广西自然科学基金项目 (No. 2019GXNSFDA185004); 广西农业科学院科技发展基金 (桂农科 2021YT09, 桂农科 2021JM01)。

作者简介 农倩 (1985—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 农业生物技术。*通信作者 (Corresponding author): 李长宁 (LI Changning), E-mail: lcn560@163.com。

given. The results showed that the changes of main physiological and biochemical parameters and gene expression in control+ABA treatment were not significantly different from those of the control. The leaf relative water content (RWC) was gradually decreased by drought treatment but it could maintain higher in drought+ABA treatment. The drought treatment could result in an increase in malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) content, but the plants applied with ABA were found to resist the excessive accumulation of MDA. Drought stress significantly reduced the leaf chlorophyll content in sugarcane, but the exogenous ABA application decreased the degradation of chlorophyll, counteracted, at least in part, the decrease in quantum efficiency of PSII ($\Phi PSII$). The expression of gene encoding 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) for ABA biosynthesis, the genes encoding $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS) for proline biosynthesis, and the antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD) encoding genes was significantly increased in the leaf under water stress condition, following the significantly higher endogenous ABA content, proline content and CAT, SOD, APX and POD activities in water stress treatment as compared to the control. But exogenous ABA application under water stress could further enhance the expression of the genes, hence further improved the ABA content, proline content and related antioxidant enzyme activity. The results clearly suggests that the foliar ABA application could triggering the over expression of antioxidative defense system, and improve drought tolerance of sugarcane under water stress condition.

Keywords: sugarcane; abscisic acid; drought stress; physiological characteristic; gene expression

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.012

甘蔗是世界上重要的糖料作物,生长周期长、需水量大。但我国 80%以上的甘蔗种植在丘陵旱坡地上,季节性干旱频繁,已成为影响甘蔗糖业可持续发展的重要因素之一。植物能通过感受刺激和信号传导,启动各种生理生化反应响应水分胁迫。干旱胁迫下,植物叶片气孔导度、叶绿素合成及电子传递会受到抑制,导致光合作用效率降低^[1]。干旱胁迫还导致植物细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量积累,致使细胞发生膜脂过氧化作用和膜系统变性^[2]。为此,植物抗氧化系统相关酶类如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等的活性显著增强,非酶类抗氧化剂如谷胱甘肽、类黄酮、酚类、类胡萝卜素等的含量显著提高,以清除过量 ROS 积累带来的损害^[3]。脯氨酸(proline, Pro)作为一种渗透调节物质,对干旱胁迫下植物细胞膜和蛋白质结构维持具有重要作用^[4]。研究表明,植物激素尤其是脱落酸(abscisic acid, ABA)在响应水分胁迫中扮演重要角色^[5-7]。干旱胁迫下,植物合成大量 ABA,促使叶片气孔关闭以减少水分散失,促进根系吸收水分,调节 ABA 响应基因并改变基因表达模式,增强植株抵抗逆境的能力^[8-9]。研究显示,植物对干旱胁迫响应的信号转导基因中,约 10%的基因受 ABA 调控^[10-11]。

干旱胁迫会干扰内源激素平衡从而阻碍植物

的正常生长发育,通常情况下植物能通过自身的调节机制减轻外界胁迫带来的影响。但这种机制具有滞后性,往往不能满足植物对外界环境变化的要求而使植物受损害,特别在一些抗胁迫能力弱的作物品种上表现得尤为突出。外源植物生长调节剂能在一定程度上弥补上述调节机制的缺陷,从而提高植物耐受胁迫的能力^[12-14]。研究证实,干旱胁迫下外施 ABA 后,植物可溶性糖和 Pro 等渗透调节物质含量上升,细胞渗透势下降,保水能力增强,有利于根系吸收水分和降低膜脂过氧化程度,保护细胞膜结构完整性^[5, 7]。ABA 预处理可以增强植物在应对干旱^[13]、低温^[14]、盐害^[15]、重金属^[16]胁迫条件下的抗氧化防护能力。甘蔗生长期长达 12~18 个月,受季节性干旱威胁严重,若甘蔗苗期发生旱情,则会直接影响后续分蘖和伸长,导致减产。本研究拟在干旱胁迫下,分析外源 ABA 对苗期甘蔗生理特性和抗氧化酶编码基因表达的影响,探讨外源 ABA 提高甘蔗幼苗抗旱性的生理生化机理。

1 材料与方法

1.1 材料

甘蔗品种为‘桂糖 42 号’(GT42),采用桶栽土培方式,塑料桶规格为直径 32 cm×高 35 cm,每桶装土 18.5 kg(粘壤土,土壤最大持水量 41.6%,有机质含量 18.7 g/kg,全氮含量 85.6 g/kg,

有效氮含量 89.4 mg/kg, 有效磷含量 63.2 mg/kg, 有效钾含量 98.4 mg/kg, pH 5.8), 桶底钻孔以增强透气性。单芽蔗种用甲基托布津浸种, 于泥沙混合培养基质上先育苗, 30 d 后, 选取生长一致的甘蔗苗移栽至桶中, 每桶 2 株, 将桶置于智能温室, 按照日常管理。待植株生长至 5~7 片完全叶时, 设 CK (正常淋水)、CK+ABA、干旱、干旱+ABA 共 4 组处理。在进行干旱胁迫前连续 2 d 叶面喷施浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 的 ABA 溶液, 程度为叶面湿透无滴水, 其余 2 组喷清水作对照, 每个处理 10 桶, 3 次重复。正常淋水和干旱处理土壤含水量分别为最大持水量的 60%~70%、30%~40%, 采用称重法进行控水。干旱处理开始后每隔 3 d 和 6 d 分别测定+1 叶的相对含水量和叶绿素荧光参数。在干旱处理后 18 d, 测定叶绿素荧光参数后, 采集相应+1 叶样品, 液氮速冻后, 放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

1.2 方法

1.2.1 生理生化指标测定 采用饱和含水量法测定叶片相对含水量^[17]; 叶绿素、脯氨酸 (Pro)、丙二醛 (MDA) 和过氧化氢 (H_2O_2) 含量分别按照孙哲等^[18]、BATES 等^[19]、HEALTH 等^[20]和 JALEEL 等^[21]的方法进行测定; 使用羟胺氧化法测定超氧阴离子自由基 (O_2^-) 产生速率^[22]; 按照 IRITI 等^[23]的方法测定脱落酸 (ABA) 和生长素 (IAA) 含量; 使用苏州科铭生物技术有限公

司商品化试剂盒测定过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX)、过氧化物酶 (POD) 的活性, 操作步骤按说明书。

1.2.2 叶绿素荧光参数测定 选取长势一致植株的 +1 叶, 使用 FMS-2 脉冲调制式荧光仪 (hansatech, UK) 测定叶绿素荧光参数。将叶片充分暗适应后, 先打开测量光测定最小荧光 F_0 , 后打开饱和脉冲光测定最大荧光 F_m , 再启动 $1000\text{ }\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的作用光, 每隔 20 s 测定一次光下的荧光参数, 以时间为横坐标, 描绘光系统 II 的实际光化学效率 ΦPSII 启动变化曲线。

1.2.3 基因表达量测定 以甘蔗 *GAPDH* 为内参基因, 设计特异引物 (表 1), 测定抗氧化酶 CAT、SOD、APX、POD 编码基因、ABA 合成限速酶 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (NCED) 编码基因、脯氨酸合成关键酶 $\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶 (P5CS) 编码基因相比对照的表达量变化。采用 TRIzol (Invitrogen) 试剂提取叶片总 RNA, 逆转录为 cDNA, 进行基因表达量测定。反应体系为: 10 μL 2 \times All-in-One qPCR Mix (Gene Copoeia)、2 μL cDNA、4 $\mu\text{mol/L}$ 的正反向引物各 1、6 μL 双蒸水。反应程序为: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s, 40 个循环。经熔解曲线检验后采用 $2^{-\Delta\Delta\text{C}_T}$ 法进行表达量计算^[24]。

表 1 实时荧光定量 PCR 测定基因及其引物序列

Tab. 1 Genes and primers list for qRT-PCR

| 基因名称 Gene name | 登录号 Gene ID | 引物序列 (5'-3') Primer sequence(5'-3') | |
|----------------|-------------|-------------------------------------|------------------------------|
| <i>GAPDH</i> | EF189713 | F: CGTCTTTGGCATCAGGAACC | R: ACCTTCTTGGCACCACCCT |
| <i>CAT1</i> | KF528830 | F: GCCGCTCATCACTCATCCC | R: CCGAGCGCGAAGTATAGGG |
| <i>CAT2</i> | KF864231 | F: CTGACATGGTCCATGCTTTCA | R: GGTATTGACACCAAAGCCCTC |
| <i>CAT3</i> | KF664183 | F: CTCTCTGCTCCTCCAATCCC | R: TCCTCGCTGTCCGACGGT |
| <i>SOD1</i> | JQ958328 | F: GTGAAGGCTGTTGCTGTGCTT | R: CGGTTCTCATCTTCTGGTGCT |
| <i>SOD2</i> | GQ246460 | F: GCCGCTCATCACTCATCCC | R: CCTTCTTCGATGCCAGGGT |
| <i>APX1</i> | JQ958327 | F: CTCCAGAACCAGAACCAGCA | R: TTTGGCAGCGACGAAGG |
| <i>APX2</i> | KJ7565501 | F: CTTGTCTGGAGCACATACACTTGGA | R: TTCTCCGCATAGACCTTGAACCTTG |
| <i>APX3</i> | KC794939 | F: GGAGTTCCCATCCTCTCCT | R: GTGGTCGGAACCCCTTAGTGG |
| <i>POD1</i> | KJ001797 | F: CGCCGCTCAAGGAGGGGT | R: AAGCAGTCGTGGAAGTGGGT |
| <i>POD2</i> | KU593507 | F: CCACAACAACCTCGCCAAGA | R: CGGAGAAGTCCTCGTCCATA |
| <i>P5CS1</i> | KF178299 | F: GAGCCACTTAGCGAGGAAG | R: TTCTGCCAGTGACAACAG |
| <i>P5CS2</i> | KF178300 | F: GGAGACCGAAGACCAGGA | R: TCACAATGATCACCTCGTACC |
| <i>NCED1</i> | JQ314108 | F: TGCTGGACAAGGAGAAGACG | R: AGGTGGAAGCAGAAGCAGTC |

1.3 数据处理

用 DPS 软件以 Duncan's 新复极差法 ($P \leq 0.05$) 进行各处理平均数差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 叶片相对含水量 (RWC) 变化

干旱胁迫显著降低了甘蔗叶片相对含水量 (图 1)。在处理的第 3、6、9、12、15、18 天, 分别比对照减少 2.7%、9.0%、15.1%、22.5%、26.4% 和 31.6%, 降幅随干旱时间延长而增大。干旱+ABA 处理能够提高叶片相对含水量, 分别比同期干旱处理增加了 1.3%、4.0%、7.1%、11.1%、11.6% 和 14.6%, 增幅逐渐变大。正常淋水条件下

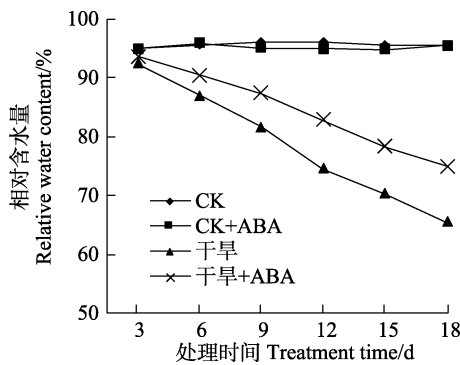


图 1 干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗叶片相对含水量的影响

Fig. 1 Effect of exogenous ABA on RWC of sugarcane leaf under drought stress

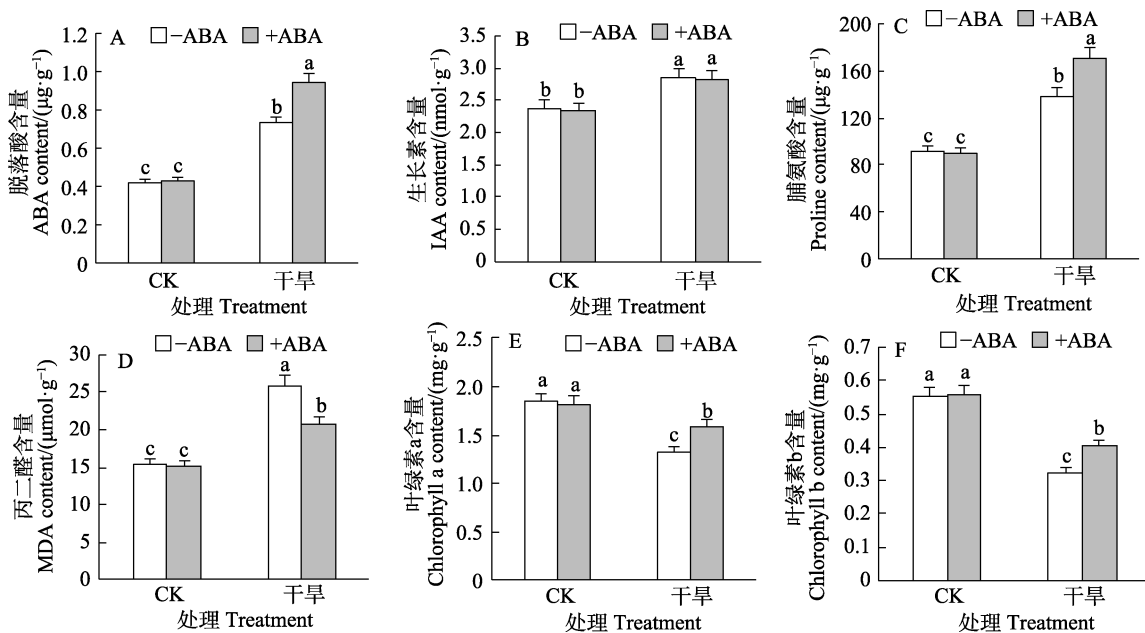
喷施 ABA 处理 (CK+ABA) 的叶片相对含水量与对照间差异不显著。

2.2 ABA 和 IAA 含量变化

干旱、干旱+ABA 处理的 ABA 含量均显著高于对照, 但增量不同 (图 2A)。处理 18 d 时, 干旱处理的 ABA 含量比对照增加 75.2%, 而干旱+ABA 处理比对照增加 125.1%, 干旱+ABA 处理比干旱处理增加了 28.5%, 差异显著。相比对照, 干旱、干旱+ABA 处理均提高了甘蔗叶片的 IAA 含量 (图 2B), 处理 18 d 时, 分别比对照提高了 19.9% 和 18.2%, 差异显著, 但干旱、干旱+ABA 处理间的 IAA 含量差异不显著。

2.3 Pro 和 MDA 含量变化

干旱胁迫使甘蔗叶片 Pro 含量显著高于对照, 而干旱+ABA 处理可进一步提高叶片 Pro 含量, 胁迫 18 d 时干旱+ABA 处理的 Pro 含量比干旱处理增加了 23.2%, 差异显著, 而 CK+ABA 处理和对照间的 Pro 含量差异不显著 (图 2C)。干旱处理提高了甘蔗叶片 MDA 含量, 在处理后 18 d 比对照提高了 68.7%, 差异显著。干旱+ABA 处理的 MDA 含量比对照提高了 34.1%, 但比干旱处理降低 20.5%, 差异显著 (图 2D)。正常淋水条件下喷施 ABA 处理 (CK+ABA) 的叶片 MDA 含量与对照差异不显著。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$); +/- ABA 表示叶面喷施/不喷施 ABA 处理。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$); +/- ABA indicated exogenous ABA to leaf or not, respectively.

图 2 干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗叶片脱落酸、生长素、脯氨酸、丙二醛、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的影响

Fig. 2 Effect of exogenous ABA on ABA, IAA, Pro, MDA, chl a and chl b contents of sugarcane leaf under drought stress

2.4 叶绿素含量变化

干旱胁迫显著降低了叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量，而干旱+ABA 处理能够显著缓解叶绿素的降解，胁迫 18 d 时干旱+ABA 处理的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别比干旱处理增加 19.7%和 25.5%。CK+ABA 处理的叶绿素含量与对照间差异不显著（图 2E、图 2F）。

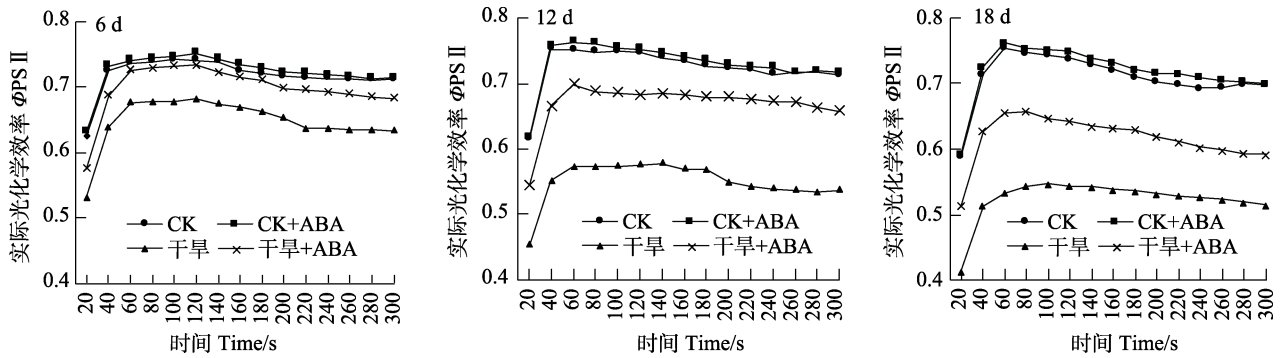


图 3 干旱胁迫下外源 ABA 对光系统 II 实际量子效率 (Φ_{PSII}) 起始过程的影响
Fig. 3 Effect of exogenous ABA on Φ_{PSII} starting proceed of sugarcane under drought stress

2.6 活性氧 (ROS) 含量变化

干旱、干旱+ABA 处理的 ROS 含量均显著高于对照（图 4）。处理 18 d 时，干旱处理的 O_2^- 产生速率比对照增加 73.4%，而干旱+ABA 处理比对照增加 44.8%，后者比前者降低 16.5%，差异显著（图 4A）。干旱、干旱+ABA 处理均显著提高甘蔗叶片 H_2O_2 含量，处理 18 d 时，分别比对照提高 82.3%和 38.7%，但后者 H_2O_2 含量比前者降低了 23.9%（图 4B），差异显著。

2.7 抗氧化酶活性变化

干旱胁迫处理 18 d 时，甘蔗叶片 CAT、SOD、APX、POD 的活性分别比对照提高 52.1%、23.9%、

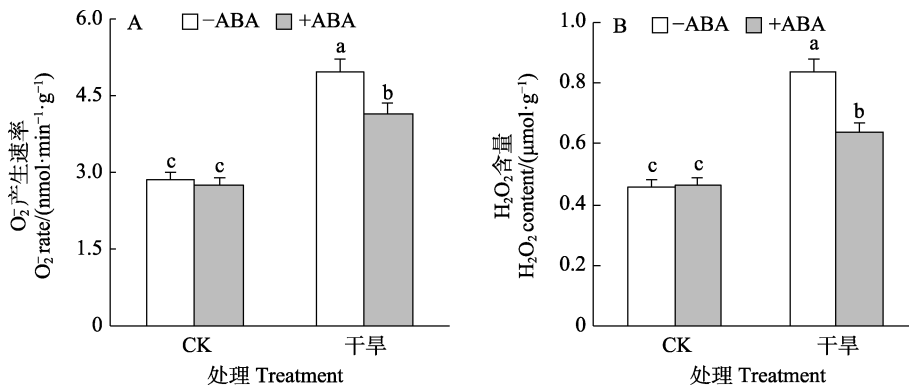
2.5 光系统 II 实际量子效率 (Φ_{PSII}) 变化过程

由图 3 可知，干旱处理降低了叶片光系统 II 实际量子效率 Φ_{PSII} ，破坏程度随着干旱胁迫时间延长而加重，干旱+ABA 处理能减轻这种破坏作用，使光系统 II 实际量子效率 Φ_{PSII} 始终高于干旱处理。CK+ABA 处理和 CK 间的光系统 II 实际量子效率差异不显著。

40.1%和 12.2%，而干旱+ABA 处理分别比对照提高 113.6%、41.4%、43.7%和 38.8%，差异显著（图 5）。同时期干旱+ABA 的相关抗氧化酶活性比干旱处理分别增加 40.5%、14.1%、2.5%和 23.7%，除 APX 外，活性均比干旱处理显著增加（图 5）。

2.8 基因表达量的变化

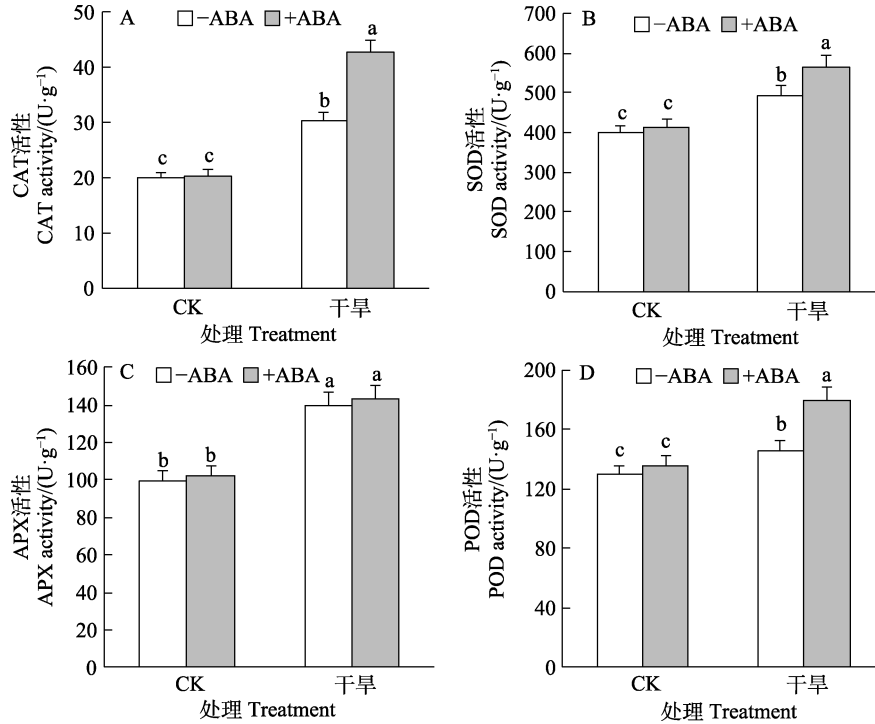
由图 6 可知，处理 18 d 时，正常淋水条件下喷施 ABA 处理 (CK+ABA) 对甘蔗叶片抗氧化酶 CAT、SOD、APX、POD 编码基因、*NCED1* 基因、*P5CS* 基因的表达量影响不显著。除 *CAT3* 和 *APX1* 外，干旱胁迫提高了相关编码基因的表达量，其中 *NCED1*、*P5CS1*、*P5CS2*、*CAT1*、*CAT2*、



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)；+/- ABA 表示叶面喷施/不喷施 ABA 处理。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$)；+/- ABA indicated exogenous ABA to leaf or not, respectively.

图 4 干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗叶片超氧阴离子自由基产生速率和过氧化氢含量的影响

Fig. 4 Effect of exogenous ABA on O_2^- production rate and H_2O_2 content of sugarcane leaf under drought stress

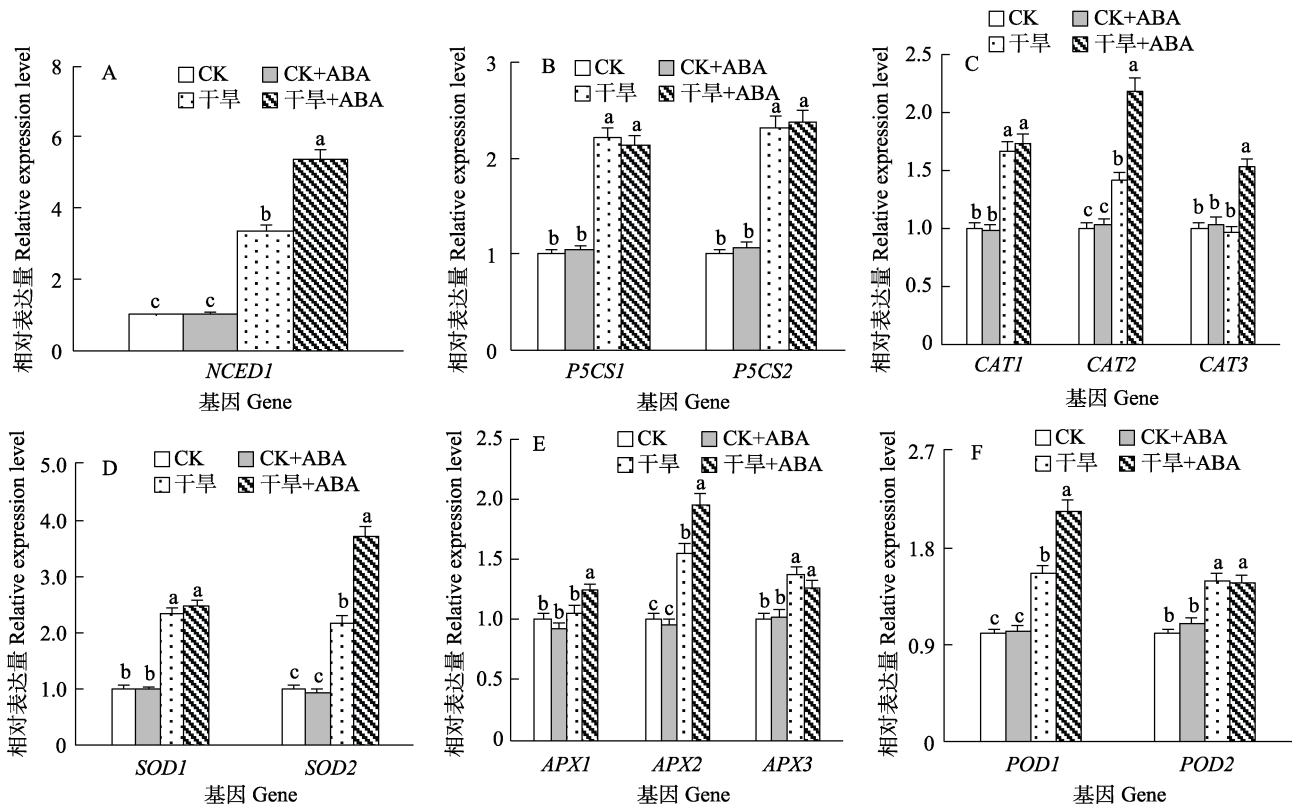


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) ; +/- ABA 表示叶面喷施/不喷施 ABA 处理。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$); +/- ABA indicated exogenous ABA to leaf or not, respectively.

图 5 干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗叶片抗氧化酶 CAT、SOD、APX 和 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of exogenous ABA on CAT, SOD, APX and POD activities of sugarcane leaf under drought stress



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 6 干旱胁迫下外源 ABA 对甘蔗叶片相关基因表达量的影响

Fig. 6 Effect of exogenous ABA on expression of related genes of sugarcane leaf under drought stress

SOD1、*SOD2*、*APX2*、*APX3*、*POD1* 和 *POD2* 的表达量分别是对照的 3.38 倍、2.21 倍、2.32 倍、1.67 倍、1.42 倍、2.33 倍、2.17 倍、1.55 倍、1.37 倍、1.56 倍和 1.49 倍，差异显著。相比干旱处理，干旱+ABA 处理的 *NCED1*、*CAT2*、*CAT3*、*SOD2*、*APX1*、*APX2* 和 *POD1* 的表达量分别提高了 58.3%、54.2%、57.7%、70.1%、16.9%、26.5% 和 37.2%，差异显著。

3 讨论

干旱胁迫条件下，植物内源 ABA 的积累会促进叶片气孔关闭，减少水分蒸发，提高叶片相对含水量^[8-9, 25]。本研究中，随着胁迫加剧，干旱+ABA 处理甘蔗的叶片相对含水量比干旱处理显著增加，表明 ABA 处理能提高干旱条件下甘蔗叶片的保水能力。研究表明，干旱胁迫会显著提高植物内源 ABA 含量，而胁迫下外源 ABA 处理能够进一步促进 ABA 的合成和积累，使其含量处于更高水平^[25-26]。本研究结果显示，干旱处理 18 d 时甘蔗叶片 ABA 含量比对照显著增加，而干旱+ABA 处理的增幅又显著高于干旱处理，与前人研究结果一致。研究显示，9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶（9-*cis*-epoxy carotenoid dioxygenase, *NCED*）催化类胡萝卜素氧化裂解生成黄质醛，是植物内源 ABA 生物合成途径最重要的限速步骤，*NCED* 基因表达可被非生物胁迫强烈诱导，表达量与 ABA 含量有着协同效应^[22]。本研究结果表明，干旱处理 18 d 时 *NCED1* 表达量为对照的 3.38 倍，而干旱+ABA 又比干旱处理提高了 58.3%，与 ABA 含量变化一致。研究表明，ABA 对植物众多生理生化途径的调控作用与其他内源激素代谢密切相关^[25-27]。本研究显示，干旱胁迫下甘蔗叶片 IAA 含量随着 ABA 含量显著上升，但干旱+ABA 处理的 IAA 含量与干旱处理间无显著差异，显示了 ABA 和 IAA 在响应逆境胁迫时的重要联系，但还需进一步研究才能明确这 2 种激素的相互调控作用。

植物生长代谢过程中 ROS 的产生不可避免，自稳态水平的 ROS 在植物正常生长发育及应对环境胁迫中起着重要作用，干旱胁迫常导致植物细胞 ROS 含量急剧上升^[28]。本研究结果显示，干旱处理 18 d 时甘蔗叶片的 O₂ 产生速率和 H₂O₂ 含量分别比对照显著增加 73.4% 和 82.3%，表明此时植物抗氧化防护系统已无法及时清除过量的

ROS 而导致其积累。过量的 ROS 积累打破了植物体内的氧化还原平衡，引起膜脂过氧化作用，膜脂中不饱和脂肪酸过氧化产生 MDA，导致膜系统被破坏，MDA 含量高低反映了膜脂过氧化程度^[25, 29]。前人研究表明，逆境胁迫下外源 ABA 处理可以诱导植物抗氧化酶基因的表达，提高相关抗氧化酶的活性^[30-32]。本研究结果表明，同时期干旱+ABA 处理的 CAT、SOD、POD 活性均比干旱处理显著提高，同时 *CAT2*、*CAT3*、*SOD2*、*APX1*、*APX2* 和 *POD1* 基因的表达量也比干旱处理显著增加。相关抗氧化酶活性的提高，增强了植物清除过量 ROS 的能力，降低膜脂过氧化程度，保护膜结构的完整性。本研究结果表明，干旱+ABA 处理的 ROS 和 MDA 含量虽比对照显著增加，但仍然显著低于干旱处理，证实外施 ABA 处理能有效缓解干旱胁迫对膜系统的损害。研究表明，Pro 作为重要的渗透调节物质，干旱胁迫下 Pro 含量增加有利于维持渗透调节，增强细胞膜系统稳定性及过量 ROS 的清除^[4, 33]。本研究中，干旱、干旱+ABA 处理的 Pro 含量均比对照显著性增加，但干旱+ABA 处理的增量水平高于单纯干旱处理，说明 ABA 处理能进一步加强干旱胁迫下 Pro 的生物合成，将有助于增强叶片保水能力，提高叶片相对含水量。干旱、干旱+ABA 处理 Pro 合成关键调控酶基因 *P5CS1* 和 *P5CS2* 的表达量比对照显著提高，与 Pro 含量变化一致。但这 2 个基因的表达变化在上述两处理间差异不显著，与 Pro 含量变化不一致，这可能与基因的转录后修饰有关，还需进一步研究证实。

光合作用是作物生长和产量形成的重要代谢过程，干旱胁迫会导致植物叶绿体膨胀，顺序排列紊乱，基质片层模糊，基粒间连接松弛，类囊体层肿胀或解体，致使叶绿素含量下降，过量的 ROS 积累还会破坏光合器官的超微结构，影响光合作用过程^[34]。本研究发现，干旱处理使甘蔗叶绿素含量显著降低，而喷施外源 ABA 处理能够减缓干旱条件下叶绿素的降解程度，与前人的研究结果一致^[18, 35]。干旱胁迫下外源 ABA 处理提高了相关抗氧化酶的活性，增强了过量 ROS 的清除能力，减轻了 ROS 的积累对光合作用系统造成的伤害，此外，干旱+ABA 处理 Pro 含量显著提高，叶片保水能力显著增强，可能是该处理甘蔗叶绿素含量、光系统 II 实际量子效率（ Φ_{PSII} ）始终高于干旱处理的重要原因。

参考文献

- [1] SHER A, KHAN A, HUSSAIN S, CAI L J, AHMAD M I, JAMRO S A, RASHID A. Significance of chemical priming on yield and yield components of wheat under drought stress[J]. American Journal of Plant Sciences, 2017, 8(6): 1339-1344.
- [2] WANG X, GAO Y, WANG Q, CHEN M, YE X, LI D, CHEN X, LI L, GAO D. 24-epibrassinolide-alleviated drought stress damage influences antioxidant enzymes and autophagy changes in peach (*Prunus persicae* L.) leaves[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 135: 30-40.
- [3] ZHANG A, LIU M, GU W, CHEN Z, GU Y, PEI L, TIAN R. Effect of drought on photosynthesis, total antioxidant capacity, bioactive component accumulation, and the transcriptome of *Atractylodes lancea*[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21: 293.
- [4] AHAMMED G J, LI X, WAN H, ZHOU G, CHENG Y. SIWRKY81 reduces drought tolerance by attenuating proline biosynthesis in tomato[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 270: 109444.
- [5] ARWAT M, TUTEJA T. Hormonal signaling to control stomatal movement during drought stress[J]. Plant Gene, 2017, 11: 143-153.
- [6] MAHMOOD T, KHALID S, ABDULLAH M, AHMED Z, SHAH M K N, GHAFOR A, DU X. Insights into drought stress signaling in plants and the molecular genetic basis of cotton drought tolerance[J]. Cells, 2020, 9(1): 105.
- [7] LI S, LI X, WEI Z, LIU F. ABA-mediated modulation of elevated CO₂ on stomatal response to drought[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2020, 56: 174-180.
- [8] ZHANG H, LIU D, YANG B, LIU W Z, MU B, SONG H, CHEN B, LI Y, REN D, DENG H, JIANG Y Q. Arabidopsis CPK6 positively regulates ABA signaling and drought tolerance through phosphorylating ABA-responsive element-binding factors[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(1): 188-203.
- [9] DING S, ZHANG B, QIN F. Arabidopsis RZFP34/CHYR1, a ubiquitin E3 ligase, regulates stomatal movement and drought tolerance via SnRK2.6-mediated phosphorylation[J]. Plant Cell, 2015, 27(11): 3228-3244.
- [10] ZHANG Z, CAO B, LI N, CHEN Z, XU K. Comparative transcriptome analysis of the regulation of aba signaling genes in different rootstock grafted tomato seedlings under drought stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 166: 103814.
- [11] FUJITA Y, FUJITA M, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants[J]. Journal of Plant Research, 2011, 124: 509-525.
- [12] LI Z, XU J, GAO Y, WANG C, GUO G, LUO Y, HUANG Y, HU W, SHETEIWY M S, GUAN Y, HU J. The synergistic priming effect of exogenous salicylic acid and H₂O₂ on chilling tolerance enhancement during maize (*Zea mays* L.) seed germination[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1153.
- [13] GAI Z, WANG Y, DING Y, QIAN W, QIU C, XIE H, SUN L, JIANG Z, MA Q, WANG L, DING Z. Exogenous abscisic acid induces the lipid and flavonoid metabolism of tea plants under drought stress[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 12275.
- [14] TIAN L X, LI J. The effects of exogenous ABA applied to maize (*Zea mays* L.) roots on plant responses to chilling stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2018, 40: 77.
- [15] LI X, LI S, WANG J, LIN J. Exogenous abscisic acid alleviates harmful effect of salt and alkali stresses on wheat seedlings[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(11): 3770.
- [16] TANG Y, WANG L, XIE Y, YU X, LI H, LIN L, LIAO M, WANG Z, SUN G, WANG X, LIANG D, XIA H, TU L. Effects of exogenous abscisic acid on the growth and cadmium accumulation of lettuce under cadmium-stress conditions[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2020, 100: 720-731.
- [17] SILVA M, JOHN L, JIFON A, JORGE A G. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane[J]. Brazilian Journal Plant Physiology, 2007, 19(3): 193-201.
- [18] 孙哲, 范维娟, 刘桂玲, 田昌庚, 张鹏, 柳洪鹃, 杨俊, 赵丰玲, 史春余. 干旱胁迫下外源 ABA 对甘薯苗期叶片光合特性及相关生理指标的影响[J]. 植物生理学报, 2017, 53(5): 873-880.
- SUN Z, FAN W J, LIU G L, TIAN C G, ZHANG P, LIU H J, YANG J, ZHAO F L, SHI C Y. Effects of exogenous ABA on leaf photosynthetic characteristics and associated physiological indexes of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) seedlings under drought stress[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(5): 873-880. (in Chinese).
- [19] BATES L S, WALDREN R P, TEARE I D. Rapid determination of free proline for water stress studies[J]. Plant and Soil, 1973, 39: 205-207.
- [20] HEALTH R L, PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, 125: 189-198.
- [21] JALEEL C A, MANVANNAN P, SANKAR B, KISHOREKUMAR A, PANNEERSELVAM R. Calcium chloride effects on salinity induced oxidative stress, proline

- metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*[J]. Comptes Rendus Biologies, 2007, 330(9): 674-683.
- [22] LI C N, SRIVASTAVA M K, NONG Q, YANG L T, LI Y R. Molecular cloning and characterization of *SoNCED*, a novel gene encoding 9-*cis* epoxy-carotenoid dioxygenase from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.)[J]. Genes and Genomics, 2013, 35(1): 101-109.
- [23] IRITI M, PICCHI V, ROSSONI M, GOMARASCA S, LUDWIG N, GARGANO M, FAORO F. Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure[J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(3): 493-500.
- [24] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. Methods, 2001, 25: 402-408.
- [25] VERMA V, RAVINDRAN P, KUMAR P P. Plant hormone-mediated regulation of stress responses[J]. BMC Plant Biology, 2016, 16: 86.
- [26] 李长宁, Manoj Kumar SRIVASTAVA, 农倩, 李杨瑞. 水分胁迫下外源 ABA 提高甘蔗抗旱性的作用机制[J]. 作物学报, 2010, 36 (5): 863-870.
- LI C N, SRIVASTAVA M K, NONG Q, LI Y R. Mechanism of tolerance to drought in sugarcane plant enhanced by foliage dressing of abscisic acid under water stress[J]. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(5): 863-870. (in Chinese).
- [27] LUO Y, LI W, HUANG C, YANG J, JIN M, CHEN J, PANG D, CHANG Y, LI Y, WANG Z. Exogenous abscisic acid coordinating leaf senescence and transport of assimilates into wheat grains under drought stress by regulating hormones homeostasis[J]. The Crop Journal, 2021, 9: 901-914.
- [28] WASZCZAK C, CARMODY M, KANGASJARVI J. Reactive oxygen species in plant signaling[J]. Annual Review of Plant Biology, 2018, 69: 209-236.
- [29] ZEHRA A, CHOUDHARY S, MUKARRAM M, NAEEM M, KHAN M M A, AFTAB T. Impact of long-term copper exposure on growth, photosynthesis, antioxidant defence system and artemisinin biosynthesis in soil-grown *Artemisia annua* genotypes[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2020, 104: 609-618.
- [30] 苏亚春, 王竹青, 李竹, 刘峰, 许莉萍, 阙友雄, 戴明剑, 陈允浩. 甘蔗过氧化物酶基因 *ScPOD02* 的克隆与功能鉴定[J]. 作物学报, 2017, 43(4): 510-521.
- SU Y C, WANG Z Q, LI Z, LIU F, XU L P, QUE Y X, DAI M J, CHEN Y H. Molecular cloning and functional identification of peroxidase gene *ScPOD02* in sugarcane[J]. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(4): 510-521. (in Chinese).
- [31] 王盛, 张保青, 黄杏, 樊艳姣, 杨丽涛, 李杨瑞. 甘蔗 *Cu/Zn-SOD* 的克隆和表达分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(15): 3277-3284.
- WANG S, ZHANG B Q, HUANG X, FAN Y J, YANG L T, LI Y R. Molecular cloning of sugarcane Cu/Zn superoxide dismutase (*Cu/Zn-SOD*) and its expression analysis[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(15): 3277-3284 (in Chinese).
- [32] WANG S, ZHANG K K, HUANG X, FAN Y J, YANG L T, LI Y R. Cloning and functional analysis of thylakoidal ascorbate peroxidase (*TAPX*) gene in sugarcane[J]. Sugar Tech, 2015, 17: 356-366.
- [33] BENREJEB K, ABDELLEY C, SAVOURE A. How reactive oxygen species and proline face stress together[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 80: 278-284.
- [34] ZARGAR S M, GUPTA N, NAZIR M, MAHAJAN R, MALIK F A, SOFI N R, SHIKARI A B, SALGOTRA R K. Impact of drought on photosynthesis: molecular perspective[J]. Plant Gene, 2017, 11: 154-159.
- [35] AWAN S A, KHAN I, RIZWAN M, ZHANG X, BRESTIC M, KHAN A, EL-SHEIKH M A, ALYEMENI M N, ALI S, HUANG L. Exogenous abscisic acid and jasmonic acid restrain polyethylene glycol-induced drought by improving the growth and antioxidative enzyme activities in pearl millet[J]. Physiologia Plantarum, 2021, 172(2): 809-819.