

模拟干旱胁迫下马铃薯 *StNCED1* 表达量及与 ABA 含量的相关性分析

巩 楠¹, 宋继玲², 甘晓燕¹, 刘 璇¹, 陈虞超¹, 郭志乾³, 宋玉霞¹

(¹ 宁夏农林科学院农业生物技术研究中心, 银川 750002; ² 黑龙江省农业科学院克山分院, 克山 161600; ³ 宁夏农林科学院固原分院, 固原 756000)

摘要: 干旱缺水是限制马铃薯产量和品质的关键因素之一。ABA 是干旱胁迫应答基因调控网络中的重要组成; 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (NCED) 是植物 ABA 生物合成途径的关键限速酶, 该基因的表达模式直接影响 ABA 代谢。但干旱胁迫下有关马铃薯 *NCED* 基因表达与激素、表型间的相关分析的研究尚少。本研究克隆了马铃薯 *NCED1* 基因的全长 cDNA 序列, 检测了 4 个马铃薯种质材料在不同模拟干旱 (PEG-6000) 胁迫强度处理下 *NCED1* 基因表达量、ABA 含量及根系长度间的相关性。结果表明, *StNCED1* 全长 2181 bp, 包含一个 1800 bp 的完整开放阅读框, 编码 599 个氨基酸。5% PEG-6000 和 15% PEG-6000 模拟干旱胁迫 4 周后, 4 个品种均表现出随胁迫强度的加重植株生长缓慢、矮小, 根系长度显著降低。干旱敏感型材料早大白中根系长度变化最大, ABA 含量显著高于其他 3 个种质材料。CIP478.9、star 和米拉 3 份种质材料中 *StNCED1* 表达量与对照植株有显著差异, 且随胁迫强度增加而增大; 早大白中 *StNCED1* 表达量表现出先降低后升高趋势。模拟干旱胁迫下, ABA 含量与 *StNCED1* 表达量之间呈现出正相关关系 ($R > 0.7$)。研究结果为解析马铃薯响应干旱胁迫的调节机制及其在抗旱种质资源筛选中的应用提供了基础数据。

关键词: 马铃薯; 模拟干旱; ABA; *StNCED1* 表达

Correlation Analysis of *StNCED1* Expression Level and ABA Content of Potato Under Simulated Drought Stress

GONG Lei¹, SONG Ji-ling², GAN Xiao-yan¹, LIU Xuan¹, CHEN Yu-chao¹,
GUO Zhi-qian³, SONG Yu-xia¹

(¹ Agricultural Bio-Technology Centre, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science, Yinchuan 750002;

² Keshan Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Keshan 161600;

³ Guyuan Institute of Agricultural Sciences, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science, Guyuan 756000)

Abstract: Drought is one of the most critical factor limiting the potato yield and quality. Absciscic acid (ABA) is the essential part of drought responding regulatory networks and 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) is the key rate-limiting enzyme of ABA biosynthesis in higher plants. It directly influences the expression pattern of ABA metabolism. However, the relationship among *NCED* expression, ABA content and drought tolerance in potato remains unclear. Here, we isolated by sequence homology a *NCED* gene *StNCED1* from potato and determined its gene expression, ABA content and root length in 4 varieties under simulated drought stress by different concentration of PEG-6000. The full length of *StNCED1* was 2181 bp, containing a 1800 bp open reading frame (ORF) that encodes a deduced protein of 599 amino acid residues. Under treatments, the shoot growth and root length at the seedling stage of all the four varieties was significantly inhibited. Drought-sensitive material 'zaodabai' showed the most

收稿日期: 2017-10-26 修回日期: 2017-11-14 网络出版日期: 2018-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180417.1429.044.html>.

基金项目: 宁夏回族自治区农业育种专项 (2014NYYZ01); 宁夏农林科学院一二三产业融合发展科技创新示范项目 (YES-16-0102); 宁夏自然科学基金项目 (NZ16123, NZ16122, NZ17124); 宁夏农林科学院科技创新先导资金项目 (NKYG-15-06, NKYJ-17-03, NKYJ-17-07)

第一作者主要从事马铃薯资源鉴定及分子育种研究, E-mail: tea_gl@126.com; 宋继玲为共同第一作者

通信作者: 宋玉霞, 主要从事马铃薯生物技术育种研究, E-mail: songyx666@163.com

郭志乾, 主要从事马铃薯育种研究, E-mail: nxguozhiqian@126.com

obvious changes in root length among the 4 tested materials and the ABA content is significantly higher than the other three materials. The expression level of *StNCED1* under drought stress treatment was significantly higher than the control group of CIP478. 9, star and mila, respectively. The expression levels were increased with increasing concentration of PEG-6000 in these three materials. Oppositely, *StNCED1* expression and ABA content decreased at the early time-point and then increased in 'zaodabai'. A positive correlation ($R > 0.7$) was proved between ABA concentration change and *StNCED1* expression level in all the 4 tested materials under drought stress. Our results will provide fundamental data for further revealing the regulation mechanism of *StNCED1* responding to drought stress and will be helpful in screening drought resistance germplasm resources.

Key words: Potato (*Solanum tuberosum* L.), simulated drought stress, ABA, *StNCED1* expression

干旱缺水是限制马铃薯产量和品质的关键因素之一。深入挖掘应答干旱胁迫的功能基因,解析其作用机制,并以之加速对抗旱种质资源的筛选和选育进程,对于科学推进“马铃薯主食化”战略具有极其重要的现实意义。

国内外学者们已对马铃薯抗旱生理和分子机制进行了深入研究,生育期内不同程度的干旱缺水会促使地上生物量、根系长度、光合和蒸腾作用参数、叶片含水量、脯氨酸、丙二醛和脱落酸(ABA, abisic acid)含量等指标有规律的变化^[1-3]; 3-二氢黄酮羟化酶(F3H)、黄酮合成酶(FLS)和 β -胡萝卜素羟化酶1(HYD-1)等众多基因参与了马铃薯抗旱反应^[4],过表达 *StNCED2* 基因株系叶片中的内源 ABA 含量与野生型相比显著增加^[5],过表达 *StDREB1/2* 能提高植株对于干旱的耐受性^[6]。

脱落酸不仅是调控植物生长发育的关键激素,而且还是干旱和盐胁迫应答基因的诱导因子,介导了植物对于干旱和盐胁迫等非生物胁迫的分子调节过程,是干旱胁迫应答基因调控网络中的重要组成^[7-10]。9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶(NCED, 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase)是高等植物 ABA 生物合成途径的关键限速酶,其表达量的变化与 ABA 含量的变化有直接关系^[5]。对拟南芥、番茄等植物的研究表明^[10],干旱胁迫能诱导 *NCED* 基因显著表达^[9,11],异位表达水稻(*Oryza sativa* L.)^[8]、番茄(*Solanum lycopersicum* L.)^[12] *NCED* 可导致拟南芥中 ABA 含量增加,气孔属性和光合作用相关参数发生变化,提高抗旱性和水分利用效率,这说明 *NCED* 是改良植物抗旱性的潜在靶基因。但 ABA 的合成和积累同时受到遗传和环境因素的显著影响,抗旱和旱胁迫敏感马铃薯种质中 ABA 含量、基因表达模式及与抗旱性的关系尚未阐释清楚。

目前,马铃薯抗旱性评价主要采用以产量为基础的抗旱系数作为标准^[13],学者们探究了叶片相对含

水量、叶水势、伤流量、可溶性蛋白、叶绿素 a/b 比值、ATP 含量占对照百分率与品种抗旱性间的相关性^[1,2,14-15]。但这些检测方法相对耗时,准确性和效率也在一定程度上受环境、处理方法或生育期影响。干旱(或渗透)胁迫下关键应答基因表达变化与激素、表型间的关联分析的研究尚少,还未见从基因水平探究、鉴定资源抗旱能力的报道,尤其是缺乏可靠的分子评价标准。本研究克隆了马铃薯 *NCED1* 基因的全长 cDNA 序列,检测了 4 个马铃薯种质材料在不同模拟干旱(PEG-6000)胁迫强度处理下 *NCED1* 基因表达量,ABA 含量及表型数据间的相关性,为进一步研究马铃薯 *NCED1* 基因对于干旱胁迫响应调节机制及其在抗旱种质资源筛选中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

4 个马铃薯种质材料组培苗 CIP478. 9、米拉、star 和早大白引自黑龙江省农业科学院克山分院。大肠杆菌菌株 DH5 α 为本实验室保存。与试验相关的所有引物均由上海捷瑞生物工程有限公司合成, pGEM-18T Vector 购自宝生物工程(大连)有限公司。RNA 提取试剂盒(RNAprep Pure Plant Kit, DP441)、凝胶回收试剂盒(Universal DNA 纯化回收试剂盒, DP214)、DNA marker、Taq DNA 聚合酶、反转录试剂等其他生物学试剂购自天根生化科技有限公司。

参照邓珍等^[15]和吕文河等^[16]方法配制含 PEG 固体培养基,以不添加 PEG-6000 的组培瓶苗为对照,分别在 MS 基本培养基中添加 5% PEG-6000 和 15% PEG-6000 模拟不同程度的干旱胁迫。选取生长健壮、长势基本一致的 4 周苗龄组培苗进行模拟干旱胁迫试验,将其在无菌条件下剪成长约 2 cm, 仅含 1~2 个腋芽的茎段接种于对照和不同胁迫强度的固体培养基中,每瓶 6~8 个茎段,每个处理 5

瓶重复。常规光照强度 40 lx、光周期 16 h/d, 23 °C 温度下培养, 4 周后同时取样, 用液氮冻存, 置于 -80 °C 冰箱中备用。

1.2 基因克隆及序列分析

分别提取早大白 3 个样本(5% PEG-6000 处理、15% PEG-6000 处理、对照条件)总 RNA, 以 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的浓度和质量; 样本均一化后统一反转录合成第一链 cDNA。根据 GenBank 中已公布的马铃薯 NCED 序列(NM_001288174)和本实验室自主构建的测序数据库本地 BLAST 结果, 利用 RT-PCR 方法从 3 个样本中扩增全长 ORF, 正向引物序列 *StNCED1*-F: 5'-TCTTCTCATTTCCACCTC-3', 反向引物序列 *StNCED1*-R: 5'-CTCCTCCAGTAATAGCCAC-3'。PCR 反应体系包含 cDNA 1 μL、PCR reaction mix 12.5 μL、10 mmol/L 上下游引物各 1 μL、ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 反应条件为 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 1.5 min, 35 个循环; 72 °C 10 min。琼脂糖凝胶检测后回收特异性目标条带, 连接 pGEM-18T 载体转化, 送测 3 个阳性克隆至生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 获得目的序列。

利用 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 确定 *StNCED1* 开放读码框, ExPASY 网站 (<http://us.expasy.org/tools/pitool.htm>) 预测 *StNCED1* 蛋白的分子量和等电点, 利用 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 数据库分析该蛋白的保守结构域, 通过 Clustal X 对不同植物中 NCED 蛋白序列做多重比对并在 MEGA 6 软件中绘制系统进化树。

1.3 模拟干旱胁迫下基因表达分析

取同一瓶内生长状态近似一致的植株叶片 0.5 g, 用以制备 *StNCED1* 定量 PCR 和 ABA 测定样品。采用 Real time-PCR 分析不同处理后 *StNCED1* 表达情况, 以马铃薯 *ef1α* (AB061263) 为内参^[17], 根据 *StNCED1* 序列设计荧光定量 PCR 引物, 正向引物序列 Primer F: 5'-CCAGTTTCCGGTGAGCTATTT-3', 反向引物序列 Primer R: 5'-TGGGTCTTCAACTGGGATTTC-3'。反应体系: 1 μL cDNA 1 μL, 2 × SYBR Premix EX Taq™ (TaKaRa) 10 μL, 上、下游引物各 0.8 μL, 灭菌 ddH₂O 7.4 μL; 反应程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 20 s, 62 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 40 s, 40 ~ 42 个循环。每个处理 3 次生物学重复, 扩增在 AB Step One Plus 仪器上完成, 采用 2^{-ΔΔCT} 方法^[18]分析原始数据。

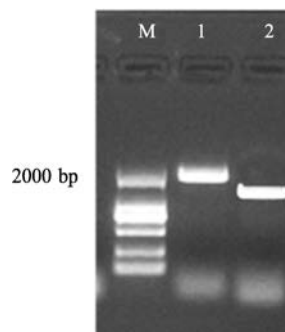
1.4 逆境下根长及 ABA 含量的测定

将对照和各处理样本取出后用去离子水冲洗并吸干水分, 用直尺测量根系长度。ABA 提取参考 J. Fu 等^[19]方法, 使用 AB Sciex QTRAP-6500 LC/MS/MS 液质联用系统测定。每个样本所有指标数据均测定 3 次重复, 用 SPSS 软件统计分析处理组和对照组中各指标的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 *StNCED1* 克隆与序列分析

根据 NCBI 中已公布的马铃薯 *NCED* 基因(NM_001288174)序列, 参考本实验室转录组测序数据, 设计基因特异性引物, 以早大白 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 得到 cDNA 全长 2181 bp 的准确序列(图 1), 并将其提交 Genbank 获得登录号 MF678803。ORF Finder 和 ExPASY 等在线软件的预测结果显示: *StNCED1* 基因最长开放阅读框存在于 43 ~ 1842 bp 之间, 编码 599 个氨基酸, 所编码蛋白的等电点为 6.33, 预测分子量 66.8 kD; 在 NCBI CDD 中比对后发现该基因编码蛋白有 RPE65 超家族保守结构域的特征序列(图 2)。与拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) (NP_188062.1)、马铃薯(*Solanum tuberosum* L.) (NP_001275103.1)、番茄(*Solanum lycopersicum* L.) (NP_001234455.1) 等 NCED 蛋白序列构建的系统进化树表明, 本试验克隆的 *StNCED1* 蛋白与 NCBI 数据库中已报道的茄科植物 NCED 蛋白聚为一支, 之间的亲缘关系最近(图 3); 保守结构域氨基酸序列一致性达 80% 以上。基于结构上的相似性推测 *StNCED1* 可能具有已知 NCED 蛋白的保守功能。



M: DNA 分子量标准; 1: cDNA 全长扩增; 2: ORF 扩增

M: DNA marker, 1: cDNA fragment of *StNCED1*,
2: ORF fragment of *StNCED1*

图 1 马铃薯 *StNCED1* 基因 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification fragment of *StNCED1* gene in potato

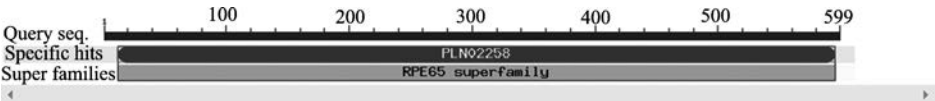


图2 马铃薯 StNCED1 蛋白的保守结构域
Fig.2 Conserved domain of StNCED1 protein

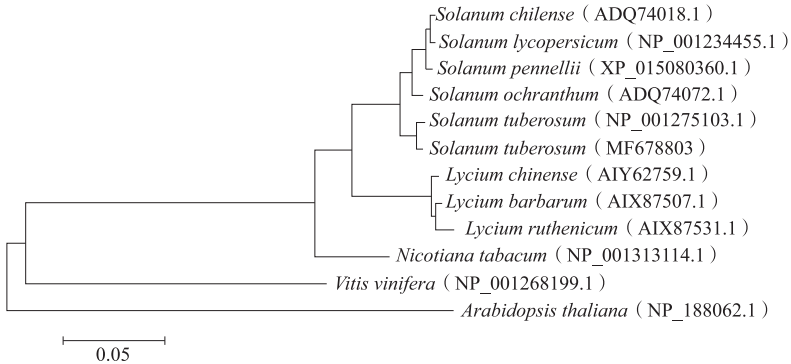


图3 不同物种中 NCED 蛋白系统进化树
Fig.3 Phylogenetic tree of the NCED protein in *Solanum tuberosum* L. and other species

2.2 PEG-6000 胁迫下 StNCED1 表达量及 ABA 含量分析

应用荧光定量 PCR 方法和液质联用激素测定法,定量分析了 PEG-6000 模拟干旱胁迫下 4 个不同品种马铃薯植株中 StNCED1 的表达量和 ABA 含量变化规律,并探索了二者之间的相关性。结果显示(表 1,图 4),对照组中,早大白 ABA 含量极显著高于其他 3 份材料($p < 0.01$);除早大白外的 3 份材料在 2 种模拟胁迫处理下的 ABA 含量均极显著高于对照。数据表明(图 4),5% PEG-6000 和 15% PEG-6000 处理下,

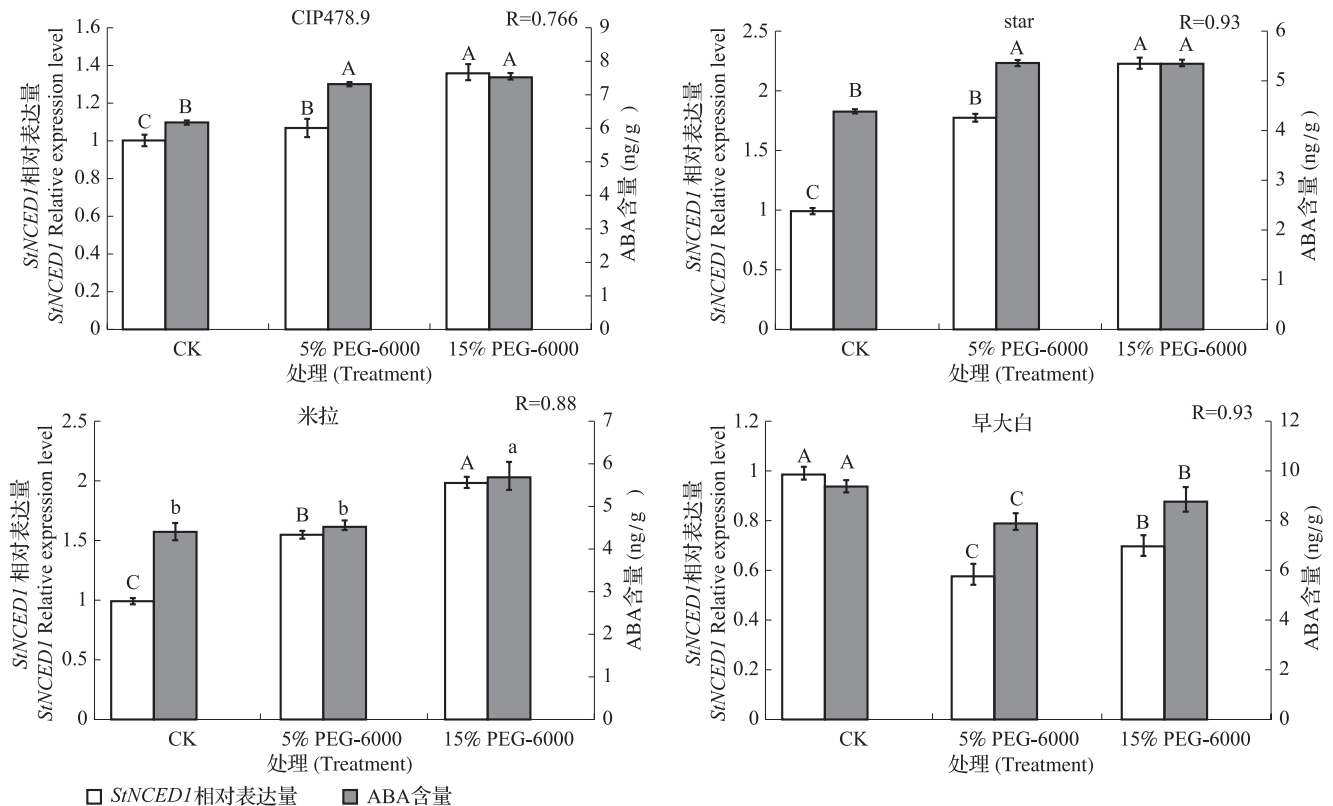
CIP478.9、star 和米拉 3 份种质材料中 StNCED1 表达量随胁迫强度增加而增大,且 CIP478.9 和 star 中 StNCED1 表达量均极显著高于对照植株($p < 0.01$);与之相反,早大白中 StNCED1 表达量表现出先降低后升高趋势,且对照植株中的 StNCED1 表达量极显著高于 2 种处理下的表达量($p < 0.01$)。此外, StNCED1 表达量与 ABA 浓度之间的皮尔森相关性系数 R 均大于 0.7,表明二者之间存在极强的相关关系。这同时也暗示着模拟干旱胁迫下 StNCED1 的表达量的变化是 ABA 含量波动的主要原因。

表 1 不同浓度 PEG-6000 处理下 4 种供试材料 ABA 含量的变化

Table 1 Changes of ABA concentration in 4 tested materials under PEG-6000 treatment

材料 Material	处理 Treatment	ABA 含量 (n = 3, ng/g) content of ABA	ABA 总含量 (ng/g) Overall content of ABA	变异系数 (%) CV
eeCIP478.9	CK	6.24	6.99 ± 0.18 ^B	7.76
	5% PEG-6000	7.22		
	15% PEG-6000	7.50		
star	CK	4.30	4.97 ± 0.16 ^C	9.56
	5% PEG-6000	5.29		
	15% PEG-6000	5.32		
米拉	CK	4.54	5.03 ± 0.22 ^C	10.17
	5% PEG-6000	4.82		
	15% PEG-6000	5.74		
早大白	CK	9.51	9 ± 0.24 ^A	4.03
	5% PEG-6000	8.86		
	15% PEG-6000	8.66		

表中同一列不同大写字母表示在 1% 水平上差异显著,下同
The different capital letters at the same column indicate significant difference at 1% leve, the same as below



A, B, C 表示在 1% 水平上差异显著; a, b, c 表示在 5% 水平上差异显著

A, B and C indicate significant difference at 1% level, a, b and c indicate significant difference at 5% level

图 4 PEG-6000 胁迫下 *StNCED1* 表达量及 ABA 含量的相关性分析

Fig. 4 *StNCED1* expression level and ABA concentration of 4 tested materials under PEG-6000 treatment

2.3 PEG-6000 胁迫对组培苗根系生长的影响

模拟干旱胁迫条件下,组培苗的形态指标尤其是根系变化情况可以直观反应出机体对胁迫的适应程度,也是鉴别品种耐旱性的表型依据。图 5 直观展示了 4 种供试材料在对照、5% PEG-6000 和 15% PEG-6000 处理 4 周后的植株生长和根系长度情况。总体而言,4 个品种均表现出随胁迫强度的加重植株生长缓慢、矮小,根系长度显著降低(图 5)。由于处理时间较长,即使相对低浓度(5% PEG-6000)处理也极显著抑制了根系生长($p < 0.01$),且干旱敏感型材料早大白中根系变化幅度最大(图 5-d)。

3 讨论

本文探索了 4 种不同马铃薯种质材料在模拟干旱胁迫下 *StNCED1* 基因表达水平、ABA 含量变化规律和根系生长情况,并对其内源 ABA 含量与 *StNCED1* 基因表达量间的相关性做了初步研究。马铃薯整个生育期内对水分亏缺非常敏感。建立科学准确的评价标准是高效鉴定抗旱性马铃薯种质资源、提高马铃薯产量品质和新品种选育的重要前提

工作。马铃薯种质资源耐旱性鉴定工作中,学者们根据田间和模拟干旱胁迫情况下植株的形态、生理生化指标数据,提出了主成分分析法、隶属函数法或聚类分析法等,并对马铃薯的耐旱性做了综合评价^[1-2, 13-14];对干旱胁迫下植株的基因表达谱^[20]、功能基因克隆和鉴定方面^[4-6]也进行了详细的研究。但客观环境的多变性使得在田间准确区分、筛选抗旱和旱敏感型种质材料的难度成倍增大。组织培养条件下,渗透调节剂 PEG-6000 的加入可将众多变量因素控制为单一的渗透压(水势)差异,因此在农作物抗旱性评价中广泛应用^[15-16, 21]。

根系生长状态是植物应答干旱胁迫的直观表型。邓珍等^[15]、吕文河等^[16]的研究结果证明,模拟干旱胁迫下马铃薯组培苗的根长、根重、株高、茎粗和根茎含水量等形态指标均发生显著变化,且随胁迫强度的增加指标数值呈现急剧降低的趋势。本研究的结果与前人研究结果一致:5% PEG-6000 和 15% PEG-6000 胁迫处理下 4 个种质材料的株高和根系长度显著降低(图 3、4),且干旱敏感型种质早大白的根系长度在胁迫处理下的变幅最大。表型上

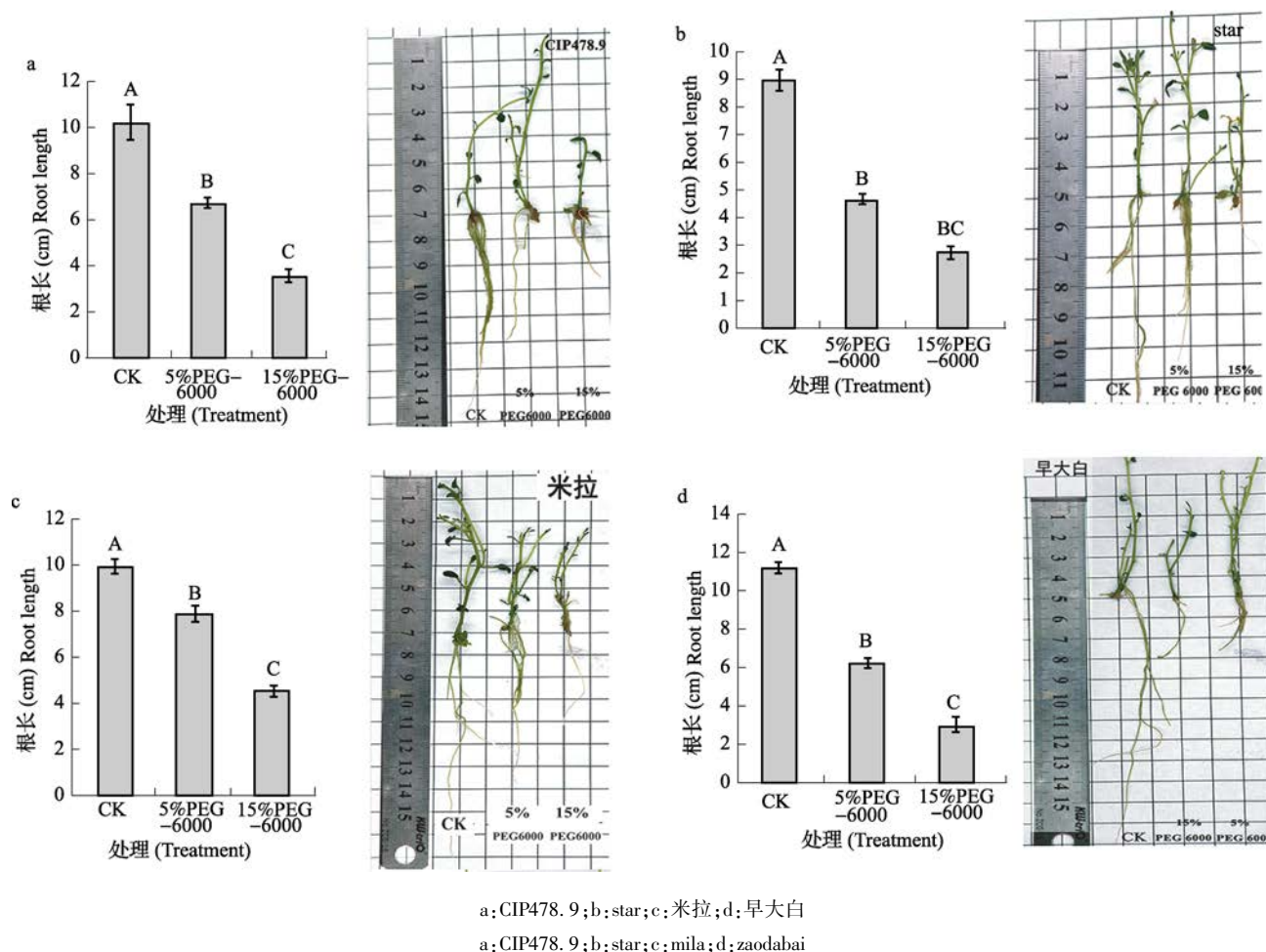


图5 不同浓度 PEG-6000 处理下 4 种供试材料的形态特征及根系长度统计分析

Fig. 5 Morphologic characters and statistical analysis of 4 tested materials under PEG-6000 treatment

的变化可能是由于高分子量 PEG 会降低培养基中的水势,减少其中的自由水,致使植株本身的含水量降低,激素和基因表达水平随之改变,细胞分裂和生长减缓,抑制了株高和根系生长。

ABA 作为应激激素,在干旱缺水等胁迫条件下在根系中快速合成并作为“传感器”进一步诱导早胁迫应答基因的大量合成、表达,从而使植株在生理和表型上适应环境变化、增强抗旱性^[7]。甘薯 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)^[22]、绿豆 (*Mung bean* L.)^[23]、小麦 (*Triticum aestivum* L.)^[24] 等作物抗旱性鉴定的结果显示,抗旱性与作物品种 ABA 含量有一定负相关关系,且抗旱性强的品种干旱条件下体内 ABA 含量变化幅度(变异系数)较小^[22]。本研究的试验数据支持了上述结论(表 1、图 4):对照组中,早大白 ABA 含量极显著高于其他 3 份材料;而早大白已被证明是抗旱性相对较弱的种质材料^[13]。

NCED 是 ABA 合成的关键限速酶,已有的正、反向遗传学证据表明,干旱胁迫处理能显著诱导 *At-*

NCED3 表达;过表达 *AtNCED3* 能促进内源 ABA 含量增加,同时降低叶代谢速率,提高抗旱性^[10]。*129B08/nced3* 缺失突变体对外源 ABA 敏感性下降,叶片黄化,根系和植株幼苗生长受到严重抑制;而花生 *AhNCED1* 能恢复突变体对模拟胁迫的敏感性,提高拟南芥的耐渗透胁迫能力^[25]。本研究克隆的马铃薯 *StNCED1* 与 NCBI 数据库中已报道的茄科植物 NCED 蛋白之间的亲缘关系最近(图 3);从结构上的相似性推测 *StNCED1* 可能具有已知 NCED 蛋白的保守功能。另外,*StNCED1* 表达量与 ABA 含量间存在正相关关系,且 CIP478.9、米拉和 star 等 3 个种质材料中 ABA 含量与 *NCED1* 基因表达量随胁迫强度增加而增大(图 2),这与田伟丽等^[26] 和陆平等^[27] 研究结果一致,说明渗透胁迫可诱导 *NCED* 基因表达从而增加 ABA 的积累。综合已有结果,我们认为 *NCED* 表达量与耐渗透胁迫或耐旱性之间存在相关性,一定程度上可将 *NCED* 表达量或胁迫下基因表达量变幅作为筛选耐旱性种质资源的分子鉴定

依据。方法的可行性已在甘薯 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)^[22]、柑橘 (*Citrus*)^[28] 和花生 (*Arachis hypogaea* L.)^[29] 抗旱性鉴定上得到初步验证。

ABA 是重要的逆境信号转导物质,上承干旱胁迫信号和初级应答基因的表达调控,下启对植物细胞、组织和表型的改变调节,对作物响应干旱等非生物胁迫具有重要的调节作用。本研究在组培条件下以不同模拟胁迫强度处理 4 种马铃薯种质材料,发现渗透胁迫能显著影响植株根系生长,内源 ABA 含量与 *StNCED1* 基因表达量间存在正相关性,*StNCED1* 基因表达量作为鉴定种质材料抗旱性强弱的分子依据还需进一步深入评测。本研究结果将为马铃薯抗旱性分子评价方法提供基础理论数据。

致谢:诚挚感谢宁夏农林科学院农业生物技术研究中心李树华老师对本文中肯严谨的修改建议!

参考文献

- [1] 娄艳,白江平,杨宏羽,等. 马铃薯种质的遗传特性与抗旱性的关系[J]. 草业科学,2016,33(3):431-441
- [2] 李建武,王蒂,司怀军,等. 水分胁迫下马铃薯试管苗的生理响应[J]. 甘肃农学报,2005,40(3):319-323
- [3] Liu F, Jensen C R, Shahanzari A, et al. ABA regulated stomatal control and photosynthetic water use efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) during progressive soil drying[J]. Plant Sci, 2005, 168(3):831-836
- [4] 范敏,金黎平,黄三文,等. 干旱胁迫对马铃薯类黄酮和类胡萝卜素合成关键酶基因表达的影响[J]. 园艺学报,2008,35(4):535-542
- [5] 马瑞,张宁,杨江伟,等. 马铃薯 *StNCED1* 基因过表达载体的构建及其遗传转化[J]. 分子植物育种,2017,14(1):174-179
- [6] Bouaziz D, Charfeddine M, Jbir R, et al. Identification and functional characterization of ten *AP2/ERF* genes in potato [J]. Plant Cell Tissue & Organ Culture, 2015, 123(1):155-172
- [7] 李保珠,安国勇,韩栓. 植物激素 ABA 在水分胁迫下的功能及信号途径[J]. 植物生理学报,2012,48(1):11-18
- [8] Hwang S G, Chen H C, Huang W Y, et al. Ectopic expression of rice *OsNCED3* in *Arabidopsis* increases ABA level and alters leaf morphology [J]. Plant Sci, 2010, 178(1):12-22
- [9] Endo A, Sawada Y, Takahashi H, et al. Drought induction of *Arabidopsis* 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells[J]. Plant Physiol, 2008, 147(4):1984-1993
- [10] Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, et al. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant J, 2001, 27(4):325-333
- [11] 任慧波,范意娟,魏开发,等. *NCED3* 基因的持续诱导及 ABA 合成与代谢的协同调控在拟南芥 ABA 信号积累中的作用[J]. 科学通报,2007,52(1):59-66
- [12] Tung S A, Smeeton R, White C A, et al. Over-expression of *LeNCED1* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with the *rbcS3C* promoter allows recovery of lines that accumulate very high levels of abscisic acid and exhibit severe phenotypes[J]. Plant Cell Environ, 2008, 31(7):968-981
- [13] 徐建飞,刘杰,卞春松,等. 马铃薯资源抗旱性鉴定和筛选[J]. 中国马铃薯,2011,25(1):1-6
- [14] 王谧,王芳,王舰. 应用隶属函数法对马铃薯进行抗旱性综合评价[J]. 云南农业大学学报,2014,29(4):476-481
- [15] 邓珍,徐建飞,段绍光,等. PEG-8000 模拟干旱胁迫对 11 个马铃薯品种的组培苗生长指标的影响[J]. 华北农学报,2014,29(5):99-106
- [16] 吕文河,李志燕,雷雪萍,等. 离体条件下 PEG-6000 胁迫对马铃薯组培苗影响[J]. 东北农业大学学报,2015,46(10):1-9
- [17] Nicot N, Hausman J F, Hoffmann L, et al. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress[J]. J Exp Bot, 2005, 56(421):2907-2914
- [18] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative ggene expression data using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4):402-408
- [19] Fu J, Chu J, Sun X, et al. Simple, rapid, and simultaneous assay of multiple carboxyl containing phytohormones in wounded tomatoes by UPLC-MS/MS using single SPE purification and isotope dilution[J]. Anal Sci, 2012, 28(11):1081-1087
- [20] Gong L, Zhang H, Gan X, et al. Transcriptome profiling of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant under drought stress and water-stimulus conditions[J]. PLoS one, 2015, 10(5):e0128041
- [21] 王娇,李雪华,戴习彬,等. 模拟干旱对甘薯近缘野生种 [*Ipomoea trifida* (Kunth) G. Don] 生理特性和基因表达谱的影响[J]. 植物生理学报,2017(5):881-888
- [22] 张明生,谢波,谈锋. 水分胁迫下甘薯内源激素的变化与品种抗旱性的关系[J]. 中国农业科学,2002,35(5):498-501
- [23] 郝建军,尹智超,秦萍,等. 绿豆不同抗旱性品种叶片脱落酸含量的比较研究[J]. 吉林农业科学,2013,38(4):11-14
- [24] 王玮,李德全,杨兴洪,等. 水分胁迫对不同抗旱性小麦品种芽根生长过程中 IAA、ABA 含量的影响[J]. 作物学报,2000, 26(6):737-742
- [25] 万小荣,莫爱琼,郭小建,等. 含异位表达花生 *AhNCED1* 基因的拟南芥提高耐渗透胁迫能力[J]. 作物学报,2010,36(9):1440-1449
- [26] 田伟丽,王亚路,梅旭荣,等. 水分胁迫对设施马铃薯叶片脱落酸和水分利用效率的影响研究[J]. 作物杂志,2015, (1):103-108
- [27] 陆平,田跃胜,王名雪,等. 枸杞脱落酸生物合成关键酶基因 *NCED* 的克隆及表达分析[J]. 植物遗传资源学报,2013, 14(2):303-310
- [28] 马文涛,樊卫国. 不同种类柑橘的抗旱性及其与内源激素变化的关系[J]. 应用生态学报,2014,25(1):147-154
- [29] 龙海涛,李丽梅,谢泽虹,等. 综合隶属函数法评价花生品种抗旱性与 *AhNCED1* 基因表达的关系[J]. 植物学报,2015, 50(6):706-712