

# 甘蔗非生物胁迫抗性研究进展

徐超华, 李纯佳, 苏火生, 陆鑫, 李旭娟, 刘洪博, 林秀琴, 毛钧, 字秋艳, 刘新龙

(云南省农业科学院甘蔗研究所/云南省甘蔗遗传改良重点实验室, 开远 661699)

**摘要:**甘蔗是世界上重要的糖料和能源作物, 对于我国食糖产业发展具有举足轻重的作用。但是, 我国甘蔗种植面积正不断减少, 呈现出向高海拔、土壤贫瘠等生产条件差的地方转移的趋势, 因此遭受的逆境胁迫程度日益加深, 严重影响了甘蔗的生长发育及产量形成。如何解决逆境胁迫下甘蔗的产量问题是目前生产上面临的重要课题。目前最好的解决办法还是培育高抗逆品种, 为了给甘蔗抗性品种选育提供参考, 本文对甘蔗的各种逆境, 如低温、干旱、高盐、重金属等伤害与抗逆性的生理生化机制及甘蔗抗逆相关功能基因的挖掘研究进行了综述, 以期系统地了解甘蔗逆境研究现状, 并提出了甘蔗抗逆育种需要开展的关键工作, 以期对甘蔗抗逆相关研究方向的设定、抗性机理和抗性品种的选育提供借鉴。

**关键词:**甘蔗; 非生物逆境; 研究进展; 抗性; 基因

## Progress in the Studies on Abiotic Stress Resistance of Sugarcane (*Saccharum* spp.)

XU Chao-hua, LI Chun-jia, SU Huo-sheng, LU Xin, LI Xu-juan,

LIU Hong-bo, LIN Xiu-qin, MAO Jun, ZI Qiu-yan, LIU Xin-long

(Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences/Yunnan Key  
Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Kaiyuan 661699)

**Abstract:** Sugarcane is a worldwide important crop for sugar and bio-energy, and play a key role in sugar industry. At present, its planting area is decreasing and presenting a tendency that the planting regions are moving to poor environments, such as high altitude and barren land. As a result, the crop are suffering more and more serious stress, which vastly impacts the growth and yield formation of sugarcane variety. Improving sugarcane yield in various stress environments has become an important challenge for sugarcane industry. Corp breeding history demonstrated that the best way to solve these questions mentioned above was breeding and extending these varieties with high resistance to stress. In order to provide some directions for sugarcane resistant breeding, the bio-chemical and physiological mechanism involved in harm and resistance to various abiotic stress, such as low temperature, drought, salt, heavy metal, were summarized, and the research progress of resistant gene to abiotic stress was also reviewed in this paper. The aim of this work was to offer a systemic and precise description for the studies on resistance to abiotic stress of sugarcane and proposed some thoughts and strategies on resistant variety breeding of sugarcane. These knowledge can proved some references for making research direction, resistance mechanism research and resistant variety breeding.

**Key words:** sugarcane; abiotic stress; progress; resistance; gene

甘蔗(*Saccharum* spp.)为禾本科(Gramineae)甘蔗属(*Saccharum* L.)单子叶植物<sup>[1]</sup>, 广泛种植于热带及亚热带地区, 主要用于食糖生产, 目前全球70%的食糖依靠甘蔗产糖, 在我国, 这一比例更高达

收稿日期: 2016-08-01 修回日期: 2016-08-31 网络出版日期: 2016-12-19

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20161219.1613.002.html>

基金项目: 国家自然科学基金(31540084); 云南省应用基础研究计划项目(2013FZ153); 云南省甘蔗遗传改良重点实验室开放基金(2015DG015-04); 云南省中青年学术技术后备人才(2014HB038)

第一作者研究方向为甘蔗种质资源研究与利用。E-mail: xuchaohua\_0435@sina.com

通信作者: 刘新龙, 研究方向为甘蔗分子遗传学。E-mail: lxlgood868@163.com

90%以上,因此甘蔗是世界上首要的糖料作物<sup>[2]</sup>。我国是世界第三大甘蔗种植国,种植面积仅次于巴西和印度,蔗区主要分布在广西、云南、广东、海南等地区,其中广西和云南种植面积最大,占据了全国总面积的90%以上。另外,随着煤炭、石油、天然气等传统不可再生能源的日益消耗,可再生等清洁能源的开发备受各国重视,甘蔗因其较高的生物量,已成为生产乙醇等生物能源的理想原料<sup>[2]</sup>。目前,甘蔗种植面积第一大国巴西20%能源来源于甘蔗生物乙醇,以替代现有的不可再生能源<sup>[3]</sup>,由此可见,甘蔗作为能源作物大有可为。因此,确保甘蔗产业的健康发展,不仅是保障我国食糖安全的客观需求,更是未来生物能源产业发展的必然选择。

然而,近年来随着我国城镇化进程的快速推进,蔗区作物竞争的日益加剧,以及生产成本的不断增加,我国甘蔗种植面积出现逐渐缩减的趋势,而且蔗区条件逐渐由水田向高海拔、低降雨量、土壤贫瘠的旱坡地转移,致使蔗株经常遭受干旱、低温、盐害等环境胁迫伤害,最终造成总产量和品质的下降。在这种情况下,如何保障我国食糖产业的安全,满足日益增加的食糖需求,确保我国甘蔗产业的可持续发展已成为当前最为重要的科学问题。其中培育和推广可抵御逆境胁迫的优良品种是当前稳定和持续增加甘蔗产量的最经济有效方式。为了全面系统了解甘蔗抗逆研究进展状况,为高抗品种选育提供指导,本文综述了近年来在干旱、高温、低温、高盐、重金属等非生物胁迫下甘蔗的抗逆生理生化机制及甘蔗抗逆相关功能基因的挖掘研究现状,以为甘蔗抗逆相关研究方向的设定、抗性机理和抗性品种的选育提供借鉴。

## 1 非生物逆境胁迫下甘蔗抗逆性生理生化研究

### 1.1 甘蔗干旱胁迫伤害与抗旱性

在作物面临的所有非生物胁迫中,干旱发生频率最高、为害面积最广、造成损失最重,因而长期占据首位<sup>[4]</sup>。甘蔗是一种高产的C4作物,具有较高的水分利用效率和较强的耐旱性能。但随着甘蔗种植格局的逐渐变化,目前我国蔗区种植面积70%以上为旱坡地,灌溉设施和土壤持水性能较差。因此,甘蔗抗旱性能的改良,仍是甘蔗产业最应关注的问题之一。

总体来看,干旱胁迫会导致植物体内水分缺失、代谢活动受阻、蒸腾作用下降、光合作用受抑制、植

物生长发育迟滞<sup>[5-10]</sup>。在生理水平上,干旱胁迫会引起氧化胁迫、丙二醛(MDA)含量上升、活性氧(ROS)的大量产生、细胞膜过氧化、膜透性增大、细胞内电解质外渗、细胞内外物质失衡等一系列生理变化<sup>[11-12]</sup>。

甘蔗为热带亚热带作物,在长期的适应性进化过程中,形成了多种组织和形态特征来维持其干旱环境中的水分平衡。H. Evans<sup>[13]</sup>提出,具备叶片数量较少且窄厚直立、表皮细胞角质化程度较高、刚毛多而长、气孔下陷等特征的甘蔗抗旱性强。K. B. Malik<sup>[14]</sup>研究认为,甘蔗叶片角质层增厚、叶脉数目较多、泡状细胞带加宽、单位面积气孔数较少等性状与抗旱性有关。谭裕模<sup>[15]</sup>研究发现甘蔗根与茎中的单位面积导管数与抗旱性呈正相关,抗旱性强的品种维管束周围的机械组织发育较差,厚壁细胞木质化程度也更高。这些形态和组织学特征的总结为甘蔗抗旱育种提供了参考依据。

在生理水平抗早上,P. H. Koehler等<sup>[16]</sup>发现,干旱胁迫会使甘蔗叶片细胞渗透势下降,同时还会使还原糖和钾的浓度上升,说明在干旱胁迫下,甘蔗能通过增加细胞溶质的方式进行渗透调节。作为一种小分子、高亲水性主要相容性溶质脯氨酸(Pro)以游离状态广泛存在于植物体内,是植物蛋白质组成成分之一。目前,已有大量研究证明,脯氨酸含量积累与甘蔗抗旱性密切相关。脯氨酸不仅维持渗透平衡和生物膜结构稳定性,还起到调节氧化还原状态和清除活性氧的作用<sup>[17-20]</sup>。另外,邹成林<sup>[21]</sup>研究发现,喷施一定浓度的壳寡糖,有助于渗透物质的积累,增强对外界水分的吸收能力,抑制膜脂过氧化产物的形成,对甘蔗叶片膜系统起到一定的保护作用,提高了甘蔗植株的抗旱性。

陈少裕等<sup>[22]</sup>认为甘蔗抗旱性的强弱与其机体清除自由基的酶防御系统如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等的活性有关。刘洋等<sup>[23]</sup>报道了干旱胁迫处理下甘蔗栽培品种ROC22和ROC16与近缘种果蔗、大茎野生种、斑茅、野生种割手密抗氧化系统相关酶活性的变化,研究显示斑茅的POD、CAT活性和可溶性蛋白含量均最高,推测其是强抗旱性材料,这与资源搜集过程中斑茅大多生长于缺水的山坡地或者沙地相一致。因此,抗氧化系统中物质浓度的变化特征,亦可作为植物干旱适应性的重要研究方向。

### 1.2 高温胁迫伤害及抗逆性

绝大多数高等植物组织不能在45℃以上高温

存活。45 °C 以上的高温条件可在极短时间内使植物遭受到不可逆的巨大伤害,如在 50 °C 环境中暴露 10 min 即可引起玉米植株致死<sup>[24]</sup>。研究表明,高温胁迫主要是通过引起细胞氧化损伤影响代谢途径,从而影响初级和次级代谢产物的水平<sup>[25]</sup>。在我国,甘蔗高温胁迫并不频发,但随着全球温室效应,厄尔尼诺现象的影响,极端气候事件频发,我国部分甘蔗种植区域都遭受极端高温天气的影响,因此,高温胁迫也已经成为甘蔗产业必须面对和警惕的一大威胁。

除景天科外的大多数高等植物,尤其是甘蔗等 C4 植物,可通过大量蒸腾水分降低组织甚至周围环境的温度,以维持自身温度处于不高于 45 °C 的安全范围内。但在一些农业种植区域,高温和其他胁迫常常同时出现,如高温和干旱双重胁迫下,干旱胁迫会显著降低植物的蒸腾冷却水平,从而加重植物的高温伤害。另外在高温和潮湿的环境中,植物叶片界面层蒸腾阻力增加,引起蒸腾的减弱和冷却速率的降低,也会加重高温对植物的伤害<sup>[24]</sup>。

甘蔗原产于热带及亚热带地区,最适宜生长温度为 25 ~ 35 °C,因此对高温有着天然适应性<sup>[26]</sup>。研究显示,甘蔗成熟期高温胁迫会打乱糖分积累和再次发育之间的动态平衡<sup>[27]</sup>。M. K. Ebrahim 等<sup>[28]</sup>研究发现,45 °C 条件下,甘蔗节间数、叶片数与 27 °C 相一致,但茎细、节间长度短,叶片提前枯萎,分蘖增加,糖分积累降低。因此,甘蔗不同性状对高温胁迫具有不同的响应。S. Srivastava 等<sup>[29]</sup>研究发现,过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸专一性过氧化物酶(APX)活性的提高,能够有效清除活性氧和氧自由基,减缓和抵御高温对细胞的伤害,从而表现出自身的耐高温。

### 1.3 甘蔗低温胁迫伤害与抗冷性

甘蔗原产于热带及亚热带地区,是一种喜温冷敏植物<sup>[30]</sup>。P. H. Moore<sup>[31]</sup>研究发现,当环境温度低于 20 °C 时,会严重影响甘蔗的生长发育及产量形成。按照低温程度和植物受害情况,可分为冷害(chilling injury)和冻害(freezing injury)。冷害指冰点以上的低温对热带和亚热带起源的喜温冷敏植物所造成的生理障碍,使植物受伤甚至死亡;冻害是指冰点以下的低温造成作物体内结冰,对作物造成伤害或死亡<sup>[32]</sup>。由于甘蔗主要种植于热带和亚热带区域,冷害是甘蔗低温胁迫伤害的主要因子。

一般认为冷害对植物的伤害主要表现在以下几个方面:(1)导致膜相变引发生物膜功能失调和细胞代谢紊乱,膜脂氧化损伤导致的细胞内溶物泄露、

镶嵌蛋白的功能丧失(通道蛋白、共价修饰蛋白、信号介导蛋白等)<sup>[33-36]</sup>;(2)导致细胞活性氧(ROS)产生和清除平衡被打破而引起细胞的氧化胁迫伤害<sup>[36-37]</sup>;(3)导致光合链、呼吸链及高能分子的电子溢泄,造成有毒物质的积累;(4)诱发次级水分胁迫(渗透胁迫)、细胞 Ca<sup>2+</sup> 毒害、有毒中间代谢产物的大量积累等<sup>[34,36]</sup>。

研究显示,甘蔗属不同种间对低温的响应存在较大差异,10 °C 低温胁迫下,热带种 Badira 光合速率下降幅度远高于中国种 Yomitanzan 和甘蔗杂交种 NiF4,进一步研究显示热带种 Badira 在 10 °C 低温胁迫下光合机构遭到破坏<sup>[38]</sup>。不同部位对低温的敏感性也不同,前人研究发现,蔗茎基部组织(生长带)对低温伤害的敏感性高于心叶、生长点、侧芽和蔗叶<sup>[39-40]</sup>。低温影响甘蔗产量,低温处理下甘蔗的根、茎、叶、顶芽及侧芽均遭受到不同程度的伤害,产量大幅度下降<sup>[41]</sup>;低温影响甘蔗组织结构,0 °C 低温胁迫下,细胞质壁分离,线粒体空泡化,细胞崩溃,组织水渍状明显,细胞结构遭到破坏<sup>[42]</sup>;低温影响甘蔗开花,夜间低温抑制甘蔗花芽分化,花轴伸长缓慢,阻碍抽穗,还影响花粉发育、受精作用及雄蕊发育<sup>[43]</sup>;低温削弱光合作用,低温胁迫下叶绿体结构遭到破坏,原子受体及光反应中心受损,电子传递效率下降,光合作用受到抑制<sup>[44]</sup>;低温影响糖分积累,低温处理下,甘蔗蔗糖、淀粉含量逐渐上升,且因胁迫时间延长和品种的不同糖分变化也不同<sup>[45]</sup>;低温还影响 Ca<sup>2+</sup> 信号转导<sup>[42]</sup>以及甘蔗生长发育及基因表达的调控<sup>[46-48]</sup>。

同时,甘蔗自身也具有一定的抗冷性。R. Jain 等<sup>[49]</sup>研究发现,低温胁迫下,过氧化氢酶和过氧化物酶活性的提高以及渗透调节物质脯氨酸的积累,能够有效清除活性氧和氧自由基,减缓和抵御细胞的伤害,从而表现出自身的抗冷性。另外,经过甜菜碱(GB)或脯氨酸(Pro)预处理,也可促进甘蔗芽在低温胁迫下的生长发育,提高甘蔗幼苗对低温胁迫的抵抗能力<sup>[50]</sup>。

### 1.4 甘蔗盐胁迫伤害与抗盐性

盐胁迫是影响植物正常生长的重要环境因子之一<sup>[51]</sup>,主要通过离子胁迫、渗透胁迫、氧化胁迫及营养胁迫对植物产生毒害作用<sup>[52-55]</sup>。盐胁迫下,细胞外盐浓度过高,细胞内外渗透势平衡遭到破坏,导致细胞失水及有害离子积累<sup>[56-57]</sup>。甘蔗是中度盐胁迫敏感植物<sup>[58]</sup>,研究表明,盐胁迫条件下甘蔗株高、根长减少,生物量、叶面积下降,水分利用率降

低<sup>[59-60]</sup>;MDA含量升高,质膜完整性遭到破坏,电解质大量外渗<sup>[61]</sup>;光合色素降解,光反应中心复合体遭到破坏,导致光能吸收、传递和转化利用效率下降,净光合速率、PSII最大光化学量子效率( $F_v/F_m$ )、PSII实际光化学量子效率( $\Phi_{PSII}$ )降低<sup>[59-60]</sup>;扰乱必需元素和微量元素吸收和分配<sup>[62-64]</sup>;影响碳水化合物积累及分配利用<sup>[65]</sup>,最终抑制甘蔗产量及品质的形成<sup>[66]</sup>。

盐胁迫同时会使细胞体内产生大量的氧自由基(活性氧),甘蔗通过自身活性氧清除系统来提高其耐盐性<sup>[67]</sup>。郭莺等<sup>[68]</sup>研究发现,不同NaCl浓度处理下,随着盐胁迫时间延长,甘蔗栽培原种拔地拉的过氧化物酶活性、超氧化物歧化酶活性呈先上升后下降趋势,分析表明拔地拉在一定NaCl浓度处理下产生了抗盐能力。渗透调节也是植物抵御盐胁迫的一种重要方式,C. B. Gandonou等<sup>[69]</sup>发现盐胁迫条件下,茎和叶中脯氨酸和可溶性糖含量浓度升高,细胞液浓度增加,渗透势降低,从而提高自身抗盐能力。M. Ashraf等<sup>[70]</sup>研究表明,添加Si元素能够有效缓解盐胁迫,同时盐应激蛋白增加也有助于甘蔗抵御盐胁迫环境<sup>[71]</sup>。此外,外源抗坏血酸预处理能提高甘蔗愈伤组织在盐胁迫下的正常生长发育,对幼苗的抵御盐胁迫环境有着明显的保护作用<sup>[72]</sup>。

### 1.5 重金属胁迫伤害及抗性

随着工业的快速发展,环境污染问题日益加剧,特别是重金属在环境中释放严重污染了水体、土壤和大气,因此,重金属污染已成为一个亟待解决的重要环境问题。一些重金属(如Cu、Fe、Zn等)是植物生长发育所必需的微量元素,对植物的生长发育起着十分重要的作用,但当重金属含量超过某一临界值时,会破坏植物生物膜系统,对植物产生一定的毒害作用,轻则植物体内的代谢过程发生紊乱,生长发育受到抑制,重则导致植物死亡<sup>[73]</sup>。而另一些重金属是对植物生长发育有害的元素,如Cd、Hg、Pb等。有害重金属元素可取代酶活性中心的金属离子,结合在活性位点,使酶的活性改变,破坏生物大分子的正常生理代谢功能,造成植物的病变<sup>[73]</sup>。

P. Misra等<sup>[74]</sup>发现,重金属Ni和Pb胁迫下,甘蔗根的生长发育受到抑制,叶绿素含量下降,叶绿素结构遭到破坏,糖分含量减低,抗氧化酶系统代谢紊乱,且伤害程度随着重金属浓度的增加和胁迫时间的延长而加剧。R. Jain等<sup>[75]</sup>研究发现,高浓度的锌(65 mg/L、130 mg/L)促使甘蔗叶片膜脂过氧化加剧,MDA含量增加,膜的结构完整性遭到破坏,同时

干扰细胞有丝分裂,扰乱营养元素的动态平衡。杨曙等<sup>[76]</sup>研究发现,高锰胁迫阻碍铁元素向叶片运输,造成叶片中铁的含量和活性下降,导致甘蔗叶片缺铁失绿。

在过去的几年里,有许多关于重金属污染对植物影响的研究报道,然而有关重金属污染对甘蔗响应研究还很缺乏,对甘蔗如何抵抗重金属胁迫机理还不清楚。R. F. Fornazier等<sup>[77-78]</sup>研究发现,在金属镉胁迫下,甘蔗植株叶片谷胱甘肽还原酶(GR)活性增加,过氧化氢酶(CAT)活性下降,超氧化物歧化酶(SOD)活性保持不变;与之不同的是用0.5 mmol/L和1 mmol/L金属镉处理甘蔗愈伤组织时,愈伤组织的生长发育受到抑制,但过氧化氢酶(CAT)活性却提高,由此可见甘蔗植株和愈伤组织在抵抗重金属胁迫机制上有所不同,活体植株和愈伤组织可分别通过提高谷胱甘肽还原酶和过氧化氢酶活性来增加抵抗重金属胁迫的能力。另外,前人研究也表明甘蔗具有较强的镉污染修复能力,在0.1 mmol/L和1 mmol/L金属镉胁迫下甘蔗依然可以正常生长,且植物体内的金属镉积累量随着生长时间的延长有所下降<sup>[77,79]</sup>。但是,也应该看到前人研究中重金属胁迫的浓度都普遍高于土壤中所含有的重金属浓度,如何确定甘蔗品种对重金属适应的阈值还有待进一步研究。

## 2 甘蔗抗非生物胁迫相关基因的挖掘

甘蔗作为一种高度杂合、遗传背景复杂的无性繁殖作物,常规品种在抗性品种选育上存在周期长、效率低等问题,随着分子标记辅助选择和分子育种技术的快速发展,从分子水平改良品种抗性成为了可能。挖掘可用于抗性育种的优异基因,建立高效的品种抗性改造技术体系将成为未来重要的研究方向。

### 2.1 抗非生物胁迫下的基因表达差异分析

G. C. Dedmo等<sup>[80]</sup>利用cDNA-AFLP分析不同耐旱甘蔗品种干旱胁迫下的基因差异表达,共发现1316个差异表达(TDFs),其中9个功能未知TDF只在抗旱品种中稳定出现,初步判断可能与甘蔗的抗旱基因表达相关。J. S. Vantini等<sup>[81]</sup>和C. A. Pedrozo等<sup>[82]</sup>也利用相同方法分析水分胁迫下甘蔗根系和叶片的基因表达差异,分别发现173个和7个差异表达基因。G. Prabu等<sup>[83]</sup>利用cDNA-SSH文库分析甘蔗品种Co740干旱胁迫下基因表达差异,分离鉴定158个干旱诱导基因,其中41个为响应干旱胁迫的新基因。李长宁等<sup>[84]</sup>、F. A. Rodrigues等<sup>[85]</sup>利用基因芯片技术分析甘蔗对水分胁迫的响应差异,

分析发现差异基因表达数目与水分胁迫程度和抗旱品种密切相关。同时, F. A. Rodrigues 等<sup>[86]</sup>也利用同样方法分析干旱胁迫下 3575 个基因的表达谱, 共筛选到 1670 个差异表达基因, 其中上调表达的基因有 1038 个, 下调表达的基因有 632 个, 说明这些基因参与甘蔗抗旱性的形成。F. R. Rocha 等<sup>[87]</sup>也利用相同方法分析干旱胁迫下基因表达差异并建立了 SUCAST 数据库。G. Zhou 等<sup>[88]</sup>利用蛋白质双向电泳与质谱鉴定技术分析干旱胁迫下蛋白质表达差异, 发现一个与干旱胁迫密切相关的未知蛋白质 22 kD。A. Gentile 等<sup>[89]</sup>利用高通量测序技术分析不同耐旱甘蔗品种 miRNA 表达水平差异, 共发现 20 个差异表达的 miRNA, 定量 PCR 发现, 这些基因参与编码转录因子、转运蛋白、衰老蛋白从而抵抗干旱胁迫环境。同时郭晋隆<sup>[90]</sup>、程志远等<sup>[91]</sup>也做了这方面的相关研究。

同时, J. W. Park 等<sup>[92]</sup>利用转录组学分析不同耐寒甘蔗品种对低温胁迫的响应差异, 分析发现 600 个差异表达基因, 其中大部分基因与跨膜转运活性有关。F. T. S. Nogueira 等<sup>[93]</sup>用低温处理后分析甘蔗 RNA 表达谱, 分离鉴定出 34 个冷诱导 ESTS 序列, 其中发现了 20 个响应低温胁迫的新基因。M. Menossi 等<sup>[94]</sup>在低温胁迫甘蔗幼苗研究中发现, 25 种基因的表达受到抑制, 34 种基因上调表达, 说明这些基因参与甘蔗抗冷性的形成。陈香玲等<sup>[95]</sup>利用 SCOT 方法分析 2 个抗寒性不同的甘蔗品种在低温胁迫下的基因差异表达, 发现有 2 个功能未知 TDF 只在抗寒品种中稳定出现, 初步判断可能与甘蔗的抗寒基因表达相关。

表 1 甘蔗抗逆相关基因名单

Table 1 The list of sugarcane resistant genes to abiotic stress

基因名称 Gene name	克隆方法 Gene cloning method	抗性 Resistance	参考文献 Reference
<b>渗透调节相关基因</b>			
<b>Osmotic regulation related genes</b>			
△1-吡咯啉-5-羧酸合成酶基因 <i>P5CS</i>	同源克隆 Homologous cloning、RACE	干旱 Drought	[99]
δ-鸟氨酸转氨酶基因 <i>δ-OAT</i>	抑制消减文库 SSH、RACE	干旱 Drought	[100]
甜菜碱醛脱氢酶基因 <i>BADH</i>	同源克隆 Homologous cloning、RACE	干旱 Drought	[101]
胚胎晚期丰富蛋白基因 <i>Sc-LEA</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[102]
<b>活性氧清除系统与相关甘蔗基因</b>			
<b>Active oxygen removal system and related genes</b>			
过氧化氢酶基因 <i>ScCAT1</i>	同源克隆 Homologous cloning	逆境胁迫 Adversity stress	[103]
抗坏血酸过氧化物酶基因 <i>TAPX</i>	同源克隆 Homologous cloning	逆境胁迫 Adversity stress	[104]
铜/锌超氧化物歧化酶基因 <i>Cu/Zn-SOD</i>	同源克隆 Homologous cloning	抗渗透胁迫 Osmotic stress resistance	[105]

M. C. Pagariya 等<sup>[96]</sup>利用 cDNA-SSH 分析盐胁迫下甘蔗基因表达差异, 发现 137 个耐盐候选基因, 其中 20% 为响应盐胁迫的新基因。M. C. Bottino 等<sup>[97]</sup>利用高通量测序技术分析 170 mmol/L NaCl 胁迫下 0 h、1 h、6 h、24 h 的 miRNA 转录组的差异响应机制, 分析发现 131 个差异表达的 miRNA, miRNA 差异表达参与编码转录因子、代谢酶基因和激素信号从而抵抗盐胁迫环境。V. Y. Patade 等<sup>[98]</sup>在盐胁迫甘蔗种芽研究中发现,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因 (*NHX*) 上调表达, 蔗糖转运蛋白基因 (*SUT1*)、脯氨酸脱氢酶基因 (*PDH*)、脱氧化酶基因 (*CAT2*)、△1-吡咯啉-5-羧酸合成酶基因 (*P5CS*) 表达受到抑制, 表明这些基因参与了甘蔗耐盐的形成。

## 2.2 抗非生物胁迫相关基因克隆和功能分析

### 2.2.1 渗透调节相关基因

H. M. Iskandar 等<sup>[99]</sup>利用同源克隆和 RACE 技术从甘蔗中分离两个 △1-吡咯啉-5-羧酸盐合成酶基因 (*SoP5CS1*、*SoP5CS2*), *SoP5CS1* 与 *SoP5CS2* 具有很高的同源性, 定量 PCR 发现, 干旱胁迫下 *SoP5CS1* 比 *SoP5CS2* 能够更快速并过量表达且持续时间更长, 推断在共同抵御干旱胁迫时 *SoP5CS1* 发挥着更重要的作用。张积森等<sup>[100]</sup>首次报道通过消减文库技术结合 cDNA 芯片技术分离了 δ-鸟氨酸转氨酶基因 (*Sc-δ-OAT*), 并对其在甘蔗根、茎、叶中的表达进行实时定量 PCR 分析。同时余爱丽<sup>[101]</sup>、刘金仙等<sup>[102]</sup>分别利用同源克隆和 cDNA 文库技术从甘蔗中分离克隆了甜菜碱醛脱氢酶基因 (*BADH*)、胚胎晚期丰富蛋白基因 (*Sc-LEA*), 定量 PCR 发现基因表达均受干旱和盐胁迫强烈诱导 (表 1)。

表 1(续)

基因名称 Gene name	克隆方法 Gene cloning method	抗性 Resistance	参考文献 Reference
谷胱甘肽硫转移酶基因 <i>Sc-GST</i>	cDNA 文库 cDNA library	抗渗透胁迫 Osmotic stress resistance	[106]
<b>转录因子与相关基因</b>			
<b>Transcription factors and related genes</b>			
MYB 转录因子 MYB transcription factors	同源克隆 Homologous cloning	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[107]
WRKY 转录因子 <i>Sc-WRKY</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[108]
NAC 转录抑制因子 <i>SsNAC23</i>	cDNA 文库 cDNA library	低温、干旱 Drought and low temperature	[109]
AP2/EREBP 类转录因子 <i>SodERF3</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[110]
BZIP 转录因子 BZIP transcription factors	cDNA 文库 cDNA library	逆境胁迫 Adversity stress	[111]
转录激活因子 <i>ScCBF1</i>	同源克隆 Homologous cloning	低温、干旱 Drought and low temperature	[112]
甘蔗锌指蛋白转录因子 <i>Sc-zf</i>	cDNA 文库 cDNA library	抗黑穗病、盐胁迫 Resistance to smut and salt stress	[113]
<b>内源激素、蛋白激酶与相关基因</b>			
<b>Endogenous hormones and protein kinase and related genes</b>			
脱落酸信号转导关键酶基因 <i>SoSnpk2.1</i>	基因芯片 Microarray、RACR	干旱、盐胁迫、低温 Drought, low temperature and salt	[114]
脱落酸胁迫成熟诱导基因 <i>SoASR</i>	同源克隆 Homologous cloning	低温 Low temperature	[115]
9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶基因 <i>SoNCED</i>	同源克隆 Homologous cloning、RACR	干旱 Drought	[116]
促分裂原活化蛋白激酶基因 <i>SoMAPK4</i>	同源克隆 Homologous cloning、RACE	信号传递 Signal transmission	[117]
丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因 <i>ScCIPK</i>	同源克隆 Homologous cloning	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[118]
<b>代谢相关基因 Metabolism-related genes</b>			
NADP 异柠檬酸脱氢酶基因 <i>SoNADP-IDH</i>	差异蛋白 Differential protein、RACE	干旱、低温、盐胁迫 Drought, low temperature and salt	[119]
S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因 <i>ScSAM</i>	差异蛋白 Differential protein、RACE	干旱、低温、盐胁迫 Drought, low temperature and salt	[120]
苯丙氨酸解氨酶基因 <i>PAL</i>	差异蛋白 Differential protein、RACE	干旱、低温、盐胁迫 Drought, low temperature and salt	[121]
S-腺苷蛋氨酸羧化酶基因 <i>Sc-SAMDC</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[122]
琥珀酸半醛脱氢酶基因 <i>SSADH</i>	消减杂交文库 SSH、RACE	干旱 Drought	[123]
可溶性酸性转化酶基因 <i>SoSAL1</i>	同源克隆 Homologous cloning、RACE	逆境胁迫 Adversity stress	[124]
类异黄酮还原酶基因 <i>SoIRL</i>	差异蛋白 Differential protein、RACE	逆境胁迫 Adversity stress	[125]
脂氧合酶基因 <i>ScLOX</i>	RACE	干旱 Drought	[126]
<b>其他基因 Other genes</b>			
脱水蛋白基因 <i>Dehydrin</i>	RACE	干旱 Drought	[126]
Ca <sup>2+</sup> /H <sup>+</sup> 反向运转体基因 <i>ScCAX1</i>	同源克隆 Homologous cloning	盐胁迫、抗渗透胁迫 Salt and osmotic stress resistance	[127]
Dirigent-like 蛋白基因家族 <i>ScDir</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[128]
金属硫蛋白基因 <i>ScMT2-1-3</i>	cDNA 文库 cDNA library	重金属胁迫 Heavy metal stress	[129]
热激蛋白 <i>HSP70</i>	同源克隆 Homologous cloning	干旱、盐胁迫 Drought and salt	[130]
非特异性脂质转运蛋白 <i>ScNsLTP</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、低温 Drought and low temperature	[131]
亲环蛋白 <i>Sc-CyP</i>	cDNA 文库 cDNA library	干旱、盐胁迫、抗病 Drought, salt and disease resistance	[132]

**2.2.2 活性氧清除系统与相关基因** Y. C. Su 等<sup>[103]</sup>利用同源克隆技术从甘蔗叶片中克隆出过氧化氢酶基因(*ScCAT1*),分析显示其在芽中高水平表达,而在叶片中表达却很少,定量 PCR 发现,在各种逆境胁迫下 *ScCAT1* 明显诱导表达,推测 *ScCAT1* 基因能够响应逆境胁迫,清除逆境胁迫下大量活性氧(ROS)。S. Wang 等<sup>[104]</sup>从甘蔗中分离出抗坏血酸过氧化物酶基因(*TAPX*),并采用实时荧光定量 PCR 分析在根、茎、叶中的表达,结果显示该基因在叶片中的表达较高,其次是茎,而后为根,定量 PCR 发现,*TAPX* 在 PEG、NaCl、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 胁迫下能够明显被诱导表达,推测该基因也参与抵御渗透胁迫。同时,王盛<sup>[105]</sup>、Y. X. Que 等<sup>[106]</sup>分别从甘蔗中克隆出铜/锌超氧化物歧化酶(*Cu/Zn-SOD*)、谷胱甘肽硫转移酶基因(*Sc-GST*),推测与抵御渗透胁迫有关(表 1)。

**2.2.3 转录因子与相关基因** S. Geethalakshmi 等<sup>[107]</sup>通过生物信息学技术结合 RT-PCR 技术从甘蔗中获得 51 个 MYB 转录因子,这些转录因子主要参与细胞生长和维持、逆境胁迫、新陈代谢和发育调控,定量 PCR 研究表明有 4 个 MYB 转录因子在水分胁迫下高表达,2 个在盐胁迫下高表达,烟草转基因瞬时表达证实了 *ScMYB26/As1* 基因确实在干旱、盐胁迫下表达量增加。J. X. Liu 等<sup>[108]</sup>从甘蔗栽培品种“FN22”茎中获得 *ScWRKY* 基因,该基因在 SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、PEG 和 NaCl 等胁迫下被诱导表达,由此推断 *ScWRKY* 可能在抗旱和耐盐中起重要作用。F. T. S. Nogueira 等<sup>[109]</sup>从甘蔗中鉴定了一个 NAC 家族转录因子 *SsNAC23*,研究发现与甘蔗冷害、虫害、水分胁迫有关。L. E. Trujillo 等<sup>[110]</sup>克隆了一个甘蔗 ERF 基因 *SodERF3*,该基因在烟草中的超表达提高了转基因烟草耐受干旱和盐胁迫能力。P. S. Schlögl 等<sup>[111]</sup>克隆了一个甘蔗 bZIP 转录因子基因 *ScbZIP1*,研究发现该基因并不被 ABA 所诱导。同时,成伟等<sup>[112]</sup>、刘金仙等<sup>[113]</sup>也分别从甘蔗叶片中克隆出 CBF 结合因子 *ScCBF1* 和甘蔗锌指蛋白转录因子 *Sc-zf*,定量 PCR 分析表明 *ScCBF1* 参与低温、干旱逆境胁迫,*Sc-zf* 与盐胁迫和抗黑穗病有关(表 1)。

**2.2.4 内源激素、蛋白激酶与相关基因** 谭秦亮等<sup>[114]</sup>利用基因芯片技术分离出编码甘蔗 SnPK2 蛋白的基因 *SoSnRK2.1*,该基因是植物体内 ABA 信号转导途径中的关键调控酶,定量 PCR 发现,在非生物逆境胁迫下,该基因的表达量有明显的上升趋势,推测该基因参与调控干旱、高盐和低温等胁迫过程。黄杏等<sup>[115]</sup>同源克隆了 1 个脱落酸胁迫成熟诱导基

因(*SoASR*),该基因的表达受 ABA 诱导,在抵御低温胁迫中发挥一定作用。C. N. Li 等<sup>[116]</sup>同源克隆了 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶基因(*SoNCED*),在水分胁迫下 *SoNCED* 表达量增加与 O<sup>2-</sup> 产生和 ABA 积累有关。李焱等<sup>[117]</sup>同源克隆了一个甘蔗 MAPK 类基因 *SoMAPK4*,进一步研究表明该基因在甘蔗非生物胁迫和生物胁迫信号传递过程中扮演一个关键的角色。黄珑等<sup>[118]</sup>同源克隆了与非生物逆境胁迫信号转导密切相关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 CIPK,定量 PCR 表明其在 PEG、NaCl 等非生物胁迫下上调表达,推测该基因的表达与甘蔗抗旱和抗渗透胁迫有关(表 1)。

**2.2.5 代谢相关基因** 谢晓娜等<sup>[119]</sup>利用双向电泳分离出一个 NADP 异柠檬酸脱氢酶基因(*SoNADP-IDH*),定量 PCR 分析表明该基因与甘蔗抵抗氧化胁迫密切相关。宋修鹏等<sup>[120-121]</sup>利用相同技术分别从甘蔗中分离出 1 个 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因(*ScSAM*)和 1 个苯丙氨酸解氨酶基因(*PAL*),定量 PCR 实验结果表明这两个基因不仅参与甘蔗抗黑穗病过程,而且与甘蔗耐寒、耐旱和抗氧化等胁迫有关。刘金仙等<sup>[122]</sup>利用同源基因克隆技术从甘蔗中获得甘蔗 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶基因(*Sc-SAMDC*),定量 PCR 分析表明该基因的表达受 PEG 和 NaCl 逆境胁迫诱导,推测 *Sc-SAMDC* 基因在甘蔗抗旱、抗盐胁迫或者抗渗透胁迫机制中发挥某种作用。张积森等<sup>[123]</sup>采用消减杂交文库分离出 1 个水分胁迫有关的琥珀酸半醛脱氢酶基因(*SSADH*),定量 PCR 分析表明在水分胁迫下,*SSADH* 参与响应了干旱胁迫的全过程,且与 Ca<sup>2+</sup> 信号转导有关。另外,研究发现可溶性酸性转化酶(*SoSALI*)<sup>[124]</sup>、类异黄酮还原酶(*SoIRL*)<sup>[125]</sup>、脂氧合酶(*ScLOX*)<sup>[126]</sup>参与了甘蔗抗逆性的形成(表 1)。

**2.2.6 其他基因** 苏炜华等<sup>[127]</sup>克隆到 Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> 反向转运体基因(*ScCAX1*),该基因在 PEG、NaCl、SA、ABA 和 MeJA 等非生物胁迫下上调表达,推测 *ScCAX1* 基因能够响应逆境胁迫。J. L. Guo 等<sup>[128-129]</sup>依据水分胁迫下 cDNA 基因表达差异文库,从甘蔗中分别克隆出 Dirigent-like 蛋白家族基因 *ScDir* 和金属硫蛋白基因(*ScMT2-1-3*),研究表明这两个基因表达量的增加有利于提高甘蔗耐盐、耐旱、抗氧化胁迫的能力,而且 *ScMT2-1-3* 表达量的提高还有利于提高甘蔗的耐重金属胁迫能力。S. M. Augustine 等<sup>[130]</sup>从甘蔗近缘属植物斑茅中克隆出热激蛋白基因(*EaHSP70*),转化甘蔗验证实验表明过表达该基因

提高了甘蔗细胞膜热稳定性、叶片相对含水量、气体交换参数、叶绿素含量和光合效率,同时提高了其他逆境相关基因的表达;转基因植株耐盐旱性明显高于对照。Y. Chen 等<sup>[131]</sup>从甘蔗中克隆出非特异性脂质转运蛋白基因 *ScNsLTP*,干旱、低温胁迫下诱导表达,推测与干旱、低温环境密切相关。Y. X. Que 等<sup>[132]</sup>从 cDNA 文库中克隆出亲环蛋白基因(*Sc-CyP*),该基因在 PEG、NaCl、SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>胁迫下上调表达,推测该基因参与干旱、盐胁迫、信号转导和抵御疾病。另外也在甘蔗中克隆出了脱水蛋白基因<sup>[126]</sup>(表1)。

### 3 讨论

甘蔗是我国主要的糖料作物,高产、高糖和抗逆性强是甘蔗育种的主要目标。甘蔗为基因组结构复杂的异源多倍体作物,其抗逆性大多为数量性状,受微效多基因控制,受环境影响较大,连锁群多,仅使用传统杂交手段难以取得理想的性状聚合效果。随着现代生物技术的发展,出现了大量新工具、新方法,这为传统杂交和现代手段结合的甘蔗抗性生物育种提供了可能。然而,无论方式和手段如何,现阶段的甘蔗抗性育种工作都面临着若干困难和制约。针对现存问题,本研究认为以下几项工作将是甘蔗抗性高效遗传改良的关键。

#### 3.1 建立完善的具有甘蔗特色的抗逆评价体系

抗逆性评价体系建立包括抗性鉴定处理方法,如田间鉴定法、人工气候箱法、温室法、高渗溶液(PEG)法;抗性鉴定指标选择,如形态指标、生理指标;抗性的综合评价方法,如隶属函数法、抗性分级评价法、聚类分析法等。目前,作物抗逆评价体系的成就大多集中在水稻、小麦、玉米等谷物,其评价指标和方法种类繁多,而甘蔗的抗逆评价工作大多借鉴这些成就开展。但必须注意甘蔗与这些谷物具有不同的作物特征:(1)收获部位不同,甘蔗以营养器官蔗茎为收获产物,而谷物以繁殖器官种子为收获产物;(2)生长周期不同,甘蔗生长周期长达1年,并具有宿根周期,谷物生长周期可为4个月或半年,一般无宿根周期;(3)栽培区域不同,甘蔗多栽培在热带亚热带区域,而谷物多种植于温带地区。因此,甘蔗的抗逆评价不宜简单套用谷物的研究方法和成果,而应侧重于热区条件下长期胁迫对营养生长的影响,建立其特有的抗逆评价体系。

#### 3.2 高效挖掘甘蔗抗逆基因

作为生物产量巨大的无性繁殖 C4 作物,相对于其他作物,甘蔗天然具有较高的抗逆性能。无论

是栽培品种还是原始亲本,特别是割手密等原始野生种质,其基因组中蕴藏着大量抗逆基因。虽然部分基因已经被克隆,但与水稻、玉米等其他作物及抗性育种自身需求相比,其数量还远远不够,难以支持甘蔗分子育种。基因资源储备不足的原因主要在于,长久以来,甘蔗基因克隆主要采用同源克隆方法,这一策略特异性和效率均较为低下,而甘蔗自身的复杂基因组结构更成为基因克隆的天然阻碍。随着测序技术的迅猛发展,这些问题有望从根本上得以解决。基于高通量测序的转录组测序技术为甘蔗抗性基因高效挖掘提供了一个崭新的平台和巨大的发展机遇,而甘蔗全基因组测序工作也已在进行中。可以预见,在不远的未来,甘蔗测序数据将会迎来爆炸式增长,而如何从这些海量数据中准确获得有用信息,将成为未来甘蔗抗性基因高效挖掘的关键。

#### 3.3 探明甘蔗抗逆性状遗传规律

明确性状遗传规律,是提高育种效率的前提。甘蔗杂交育种不同于水稻、玉米等作物,所用亲本材料即为高度杂合,后代材料在 F<sub>1</sub> 时期即存在性状的疯狂分离,致使甘蔗性状遗传规律研究十分困难,甚至有学者认为,甘蔗遗传毫无规律可言<sup>[2]</sup>。甘蔗抗逆性为数量性状,较之质量性状,其遗传规律更为复杂。应当注意,甘蔗高度异质性的复杂多倍体特性,是抗逆性状遗传研究受限最为根本的原因。选择基因组结构相对简单的割手密和热带种,特别是低倍性整倍体材料开展研究,可在一定程度上使问题得以简化。但要进一步解决这一问题,创制自交纯合材料是十分必要的。与此同时,各种单倍体诱导手段也应以尝试,以创制倍性简化的研究材料,用于抗逆性状遗传分析、基因定位、分子设计等不同层次的研究。

#### 参考文献

- [1] Daniels J, Roach B T. Taxonomy and evolution[M]//Heinz D J. Sugarcane Improvement Through Breeding. New York: Elsevier, 1987:7-84
- [2] 李杨瑞. 现代甘蔗学[M]. 北京:中国农业出版社,2010:1-21
- [3] Walter A, Galdos M V, Scarpore F V, et al. Brazilian sugarcane ethanol: developments so far and challenges for the future[J]. Wires Energy Environ, 2014, 3(1):70-92
- [4] Verslues P E, Agarwal M, Katiyar- Agarwal S, et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status[J]. Plant J, 2006, 45(4):523-539
- [5] Andrade J C, Terto J, Silva J V, et al. Expression profiles of sugarcane under drought conditions: Variation in gene regulation[J]. Genet Mol Biol, 2015, 38(4):465-469
- [6] Iskandar H M, Casu R E, Fletcher A T, et al. Identification of drought-response genes and a study of their expression during sucrose accumulation and water deficit in sugarcane culms[J]. BMC Plant Biol, 2011, 11(1):230-233



- [7] 罗俊,林彦铨,张木清,等. 甘蔗叶绿素 a 荧光参数对干旱胁迫的响应[J]. 甘蔗糖业,2000(2):15-20
- [8] Khan I A, Bibi S, Yasmin S, et al. Phenotypic and genotypic diversity investigations in sugarcane for drought tolerance and sucrose content[J]. Pak J Bot, 2013, 45(2):359-366
- [9] Jangpromma N, Thammasirirak S, Jaisil P, et al. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. Aust J Crop Sci, 2012, 6(8):1298-1304
- [10] Inman-Bamber N G, Jager J M D. The reaction of two varieties of sugarcane to water stress[J]. Field Crop Res, 1986, 14(1):15-28
- [11] Shah S H. Screening of drought tolerant genotypes of sugarcane through biochemical markers against polyethyleneglycole[J]. Int J Sci Eng Res, 2013, 4(7):980-988
- [12] Abbas S R, Ahmad S D, Sabir S M, et al. Detection of drought tolerant sugarcane genotypes (*Saccharum officinarum*) using lipid peroxidation, antioxidant activity, glycine-betaine and proline contents[J]. J Soil Sci Plant Nut, 2014, 14(1):233-243
- [13] Evans H. Some aspects of the problem of drought resistance in sugarcane[J]. Proc Int Soc Sugar Cane Tech, 1935, 6:802-808
- [14] Malik K B. Some anatomical characteristics of sugarcane varieties in relation to drought resistance[J]. Agric Res, 1986, 11(1):43-49
- [15] 谭裕模. 甘蔗叶片脂肪酸及透性与抗旱性的关系[J]. 福建农学院学报, 1988, 17(3):211-215
- [16] Koehler P H, Moore P H, Jones A. Response of drip-irrigated sugarcane to drought stress[J]. Agron J, 1982, 74(5):906-911
- [17] Errabii T, Gandonou C B, Essalmani H, et al. Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought - induced osmotic stress and its subsequent relief[J]. Afr J Biotechnol, 2006, 5(16):1488-1493
- [18] Rhein A F D L, Santos D M M D, Carlin S D. Nitrate reductase enzyme activity and free proline contents in sugarcane roots under water and acid stress in soil[J]. Semina-Cienc Agrar, 2011, 32(4):1345-1359
- [19] Queiroz R J B, Ferraudo A S, Carlin S D, et al. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies[J]. Sci Agric, 2011, 68(4):469-476
- [20] 韩世键, 罗维钢, 周结琼, 等. 伸长后期干旱胁迫处理下不同甘蔗品种的抗旱差异评价[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(35):17044-17047
- [21] 邹成林. 壳寡糖对甘蔗干旱胁迫下生理生化及蛋白质差异表达的影响[D]. 南宁:广西民族大学, 2007
- [22] 陈少裕, 陈如凯, 陈启峰, 等. 自由基清除剂的保护作用与甘蔗的抗旱性[J]. 作物学报, 1994, 20(2):149-155
- [23] 刘洋, 姚艳丽, 林希昊, 等. 干旱胁迫对甘蔗近缘材料抗氧化系统酶活性的影响[J]. 西南农业学报, 2012, 25(3):852-855
- [24] 宋纯鹏, 王学路. 植物生理学[M]. 北京:科学出版社, 2009
- [25] Wahid A. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts [J]. J Plant Res, 2007, 120(2):219-228
- [26] Clements H F. Sugarcane crop logging and crop control: Principles and practices [M]. Honolulu: The University Press of Hawaii, 1980
- [27] Christopher P G, James A C, Olena K, et al. Temperature effect on carbon partitioning in two commercial cultivars of sugarcane[J]. Funct Plant Biol, 2010, 37(4):334-341
- [28] Ebrahim M K, Zingsheim O, Ei-Shourbagy M N, et al. Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperatures below and above optimum[J]. J Plant Physiol, 1998, 153(5-6):593-602
- [29] Srivastava S, Pathak A D, Gupta P S, et al. Hydrogen peroxide-scavenging enzymes impart tolerance to high temperature induced oxidative stress in sugarcane[J]. J Environ Biol, 2012, 33(3):657-661
- [30] Tai P Y P, Lentini R S. Freeze damage of Florida sugarcane [M]//Anderson D L. Sugarcane Handbook. Gainesville: Florida Cooperative Extension, 1998
- [31] Moore P H. Breeding for stress resistance[M]//Heinz D J. Sugarcane Improvement through Breeding. Amsterdam:Elsevier, 1987
- [32] Xin Z, Browse J. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures [J]. Plant Cell Environ, 2000, 23(9):893-902
- [33] Wang X M, Li W Q, Li M Y, et al. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures[J]. Physiol Plant, 2006, 126(1):90-96
- [34] Kaniuga Z. Chilling response of plants; importance of galactolipase, free fatty acids and free radicals [J]. Plant Biol, 2008, 10(2):171-184
- [35] Ruelland E, Vaultier M N, Zachowski A, et al. Cold signaling and cold acclimation in plants[J]. Adv Bot Res, 2009, 49:35-125
- [36] Sevillano L, Sanchez-Ballesta M T, Romojaro F, et al. Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species [J]. J Sci Food Agric, 2009, 89(4):555-573
- [37] Ahmad P, Sarwat M, Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants[J]. J Plant Biol, 2008, 51(3):167-173
- [38] Du Y C, Nose A, Wasano K. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzyme activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species[J]. Plant Cell Environ, 1999, 22(3):317-324
- [39] 周会, 雷敬超, 桂意云, 等. 甘蔗种质资源自然条件下耐寒性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6):968-973
- [40] 邓展云, 刘海斌, 张革民, 等. 2007-2008 年榨季广西甘蔗霜冻发生危害规律的调查[J]. 中国糖料, 2009(1):47-50
- [41] 钟思强, 黄树长, 刘任业. 2008 年初寒潮低温对广西甘蔗生产的影响[J]. 广西职业技术学院学报, 2009, 2(5):16-20
- [42] 李素丽, 杨丽涛, 李志刚, 等. 不同冷敏感型甘蔗茎尖  $Ca^{2+}$  和  $Ca^{2+}$ -ATP 酶活性对低温的响应[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(2):14-21
- [43] 彭绍光. 甘蔗育种学[M]. 北京:农业出版社, 1990
- [44] 孙富, 杨丽涛, 谢晓娜, 等. 低温胁迫对不同抗寒性甘蔗品种幼苗叶绿体生理代谢的影响[J]. 作物学报, 2012, 38(4):732-739
- [45] Du Y C, Nose A. Effects of chilling temperature on the activity of enzymes of sucrose synthesis and the accumulation of saccharides in leaves of three sugarcane cultivars differing in cold sensitivity [J]. Photosynthetica, 2012, 40(3):389-395
- [46] 黄巧玲, 黄杏, 孙富, 等. 低温胁迫对甘蔗叶绿体蛋白质及其相关基因表达的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(24):4978-4987
- [47] 牛俊奇, 檀小辉, 黄静丽, 等. 低温胁迫对不同耐寒型甘蔗蔗糖代谢相关酶基因表达及其酶活性的影响[J]. 南方农业学报, 2014, 45(9):1566-1573
- [48] Uehara N, Sasaki H, Aoki N, et al. Effects of the temperature lowered in the daytime and night-time on sugar accumulation in sugarcane[J]. Plant Prod Sci, 2009, 12(4):420-427
- [49] Jain R, Shrivastava A K, Solomon S, et al. Low temperature stress-induced biochemical changes affect stubble bud sprouting in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid) [J]. Plant Growth Regul, 2007, 53(1):17-23
- [50] Rasheed R, Wahid A, Ashraf M, et al. Role of proline and glycine-betaine in improving chilling stress tolerance in sugarcane buds at sprouting[J]. Int J Agric Biol, 2010, 12(1):1-8
- [51] Dasgan H Y, Aktas H, Abak K, et al. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses[J]. Plant Sci, 2002, 163(4):695-703
- [52] Leigh R A, Jones R G W. A hypothesis relating critical potassium

- concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell[J]. *New Phytol*, 1984, 97(1):1-13
- [53] Zhu J K. Plant salt tolerance[J]. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(2): 66-71
- [54] Ashraf M, Harris P. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants[J]. *Plant Sci*, 2004, 166(1):3-16
- [55] Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu J K. Understanding and improving salt tolerance in plants[J]. *Crop Sci*, 2005, 45(2):437-448
- [56] 马文月. 植物抗盐性研究进展[J]. *农业与技术*, 2004, 24(4): 95-99
- [57] 许祥明, 叶和春, 李国风. 植物抗盐机理的研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(4):379-387
- [58] Maas E V. Salt tolerance of plants[J]. *Adv Stud Behav*, 1986, 40(9):277-322
- [59] Cha-Um S, Chuencharoen S, Mongkolsiriwatana, C, et al. Screening sugarcane (*Saccharum* sp.) genotypes for salt tolerance using multivariate cluster analysis[J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2012, 110(110):23-33
- [60] Cha-um S, Chantawong S, Mongkolsiriwatana C, et al. Field screening of sugarcane (*Saccharum* spp.) mutant and commercial genotypes for salt tolerance[J]. *Not Bot Horti Agrobo*, 2013, 41(1): 286-293
- [61] Avinash K, Ashok A N, Krunal P C. Differential responses to salinity stress of two varieties (Co 671 and Co86032) of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. *Afr J Biotechnol*, 2012, 11(37):9028-9035
- [62] Gomathi R, Thandapani P V. Salt stress in relation to nutrient accumulation and quality of sugarcane genotypes[J]. *Sugar Tech*, 2005, 7(1):39-47
- [63] Lynch J, Lauchli A. Potassium transport in salt-stressed barley roots[J]. *Planta*, 1984, 161(4):295-301
- [64] Aftab F, Munir N. Enhancement of salt tolerance in sugarcane by ascorbic acid pretreatment[J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(10): 18362-18370
- [65] Gomathi R, Thandapani P V. Sugar metabolism and carbon partitioning of sugarcane genotypes under salinity stress condition[J]. *Sugar Tech*, 2004, 6(6):151-158
- [66] Wiedenfeld B. Effects of irrigation water salinity and electrostatic water treatment for sugarcane production[J]. *Agr Water Manage*, 2008, 95(1):85-88
- [67] Patade V Y, Bhargava S, Suprasanna P. Salt and drought tolerance of sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, and antioxidant defense[J]. *J Plant Interact*, 2011, 6(4):275-282
- [68] 郭莺, 余爱丽, 张木清. 甘蔗斑茅的杂交利用及其杂种后代鉴定系列研究(三)—拔地拉与斑茅耐盐性差异分析[J]. *热带作物学报*, 2005, 26(2):88-93
- [69] Gandonou C B, Bada F, Abrini J, et al. Free proline, soluble sugars and soluble proteins concentration as affected by salt stress in two sugarcane (*Saccharum* sp.) cultivars differing in their salt tolerance[J]. *Int J Biol Chem Sci*, 2012, 5(6):2441-2453
- [70] Ashraf M, Rahmatullah, Afzal M, et al. Alleviation of detrimental effects of NaCl by silicon nutrition in salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. *Plant Soil*, 2010, 326(1):381-391
- [71] Gomathi R, Vasantha S, Shiyamala S, et al. Differential accumulation of salt induced proteins in contrasting sugarcane genotypes[J]. *J Biol Sci*, 2013, 6(1):7-11
- [72] Munir N, Naz S, Aslam F, et al. Effect of various levels of ascorbic acid pretreatment on alleviation of salt stress in salt sensitive sugarcane genotype spf-213[J]. *J Agr Res*, 2013, (3):267-276
- [73] 蔡囊, 李吉跃, 李永杰. 土壤重金属污染下植物效应研究进展[J]. *广东林业科技*, 2009, 25(2):71-77
- [74] Misra P, Nath K, Tandon P K. Effect of heavy metals (Ni and Pb) stress on sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. *Res Environ Life Sci*, 2010, 3(4):183-188
- [75] Jain R, Srivastava S, Solomon S, et al. Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.) [J]. *Acta Physiol Plant*, 2010, 32(5):979-986
- [76] 杨曙, 吴星, 黄渝岚, 等. 高锰诱导甘蔗幼苗缺铁的成因分析[J]. *广东农业科学*, 2015, 42(10):16-20
- [77] Fornazier R F, Ferreira R R, Vitoria A P, et al. Effects of cadmium on antioxidant enzyme activities in sugarcane[J]. *Biol Plantarum*, 2002, 45(1):91-97
- [78] Fornazier R F, Ferreira R R, Pereira G J G, et al. Cadmium stress in sugar cane callus cultures: effect on antioxidant enzymes[J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2002, 71(2):125-131
- [79] Sereno M L, Almeida R S, Nishimura D S, et al. Response of sugarcane to increasing concentrations of copper and cadmium and expression of metallothionein genes[J]. *J Plant Physiol*, 2007, 164(1):1499-1515
- [80] Dedemo G C, Vantini J D S, Gimenez D F R, et al. Detection by cDNA-AFLP analysis of differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive sugarcane cultivars[C]// San Diego; International Plant and Animal Genome Conference Xx, 2012
- [81] Vantini J S, Dedemo G C, Jovino Gimenez D F, et al. Differential gene expression in drought-tolerant sugarcane roots[J]. *GMR*, 2015, 14(2):7196-7207
- [82] Pedrozo C A, John J, Jorge A D S, et al. Differential morphological, physiological, and molecular responses to water deficit stress in sugarcane[J]. *J Plant Breed Crop Sci*, 2015, 7(7):225-231
- [83] Prabu G, Kawar P G, Pagariya M C, et al. Identification of Water Deficit Stress Upregulated Genes in Sugarcane[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2011, 29(2):291-304
- [84] 李长宁, 谢金兰, 王维赞, 等. 水分胁迫下甘蔗差异表达基因筛选及激素相关基因分析[J]. *作物学报*, 2015, 41(7): 1127-1135
- [85] Rodrigues F A, Laia M D, Zingaretti S M. Analysis of gene expression profiles under water stress in tolerant and sensitive sugarcane plants[J]. *Plant Sci*, 2009, 176(2):286-302
- [86] Rodrigues F A, Graca J P D, Laia M L D, et al. Sugarcane genes differentially expressed during water deficit[J]. *Biol Plantarum*, 2011, 55(1):43-53
- [87] Rocha F R, Papini-Terzi F S, Jr M Y N, et al. Signal transduction-related responses to phytohormones and environmental challenges in sugarcane[J]. *BMC Genomics*, 2007, 8(1):71
- [88] Zhou G, Yang L T, Li Y R, et al. Proteomic Analysis of osmotic stress-responsive proteins in sugarcane leaves[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2012(2):349-359
- [89] Gentile A, Ferreira T H, Mattos R S, et al. Effects of drought on the microtranscriptome of field-grown sugarcane plants [J]. *Planta*, 2013, 237(3):783-798
- [90] 郭晋隆. PEG胁迫下甘蔗 RNA Seq 定量分析与差异表达基因鉴定[D]. 福州:福建农林大学, 2013
- [91] 程志远, 李穆, 石莹, 等. 利用高通量测序分析甘蔗的抗旱响应机制[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(9):2018-2028
- [92] Park J W, Benatti T R, Marconi T, et al. Cold responsive gene expression profiling of sugarcane and *Saccharum spontaneum* with functional analysis of a cold inducible *Saccharum* homolog of NOD26-like intrinsic protein to salt and water stress[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(5):51-56
- [93] Nogueira F T S, Rosa V E D, Menossi M, et al. RNA expression profiles and data mining of sugarcane response to low temperature[J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(4):1811-1824
- [94] Menossi M, Silva-Filho M C, Vincentz M, et al. Sugarcane functional genomics: gene discovery for agronomic trait development [J]. *Int J Plant Genomic*, 2008: 458732. doi: 10.1155/2008/458732

- [95] 陈香玲,李杨瑞,杨丽涛,等.低温胁迫下甘蔗抗寒相关基因的cDNA-SCOT差异显示[J].生物技术通报,2010(8):120-124
- [96] Pagariya M C,Devarumath R M,Kawar P G. Biochemical characterization and identification of differentially expressed candidate genes in salt stressed sugarcane [J]. Plant Sci, 2012, 184 (3): 1-13
- [97] Bottino M C,Rosario S,Grativol C,et al. High-throughput sequencing of small RNA transcriptome reveals salt stress regulated microRNAs in sugarcane[J]. PLoS ONE, 2013, 8(3): e59423
- [98] Patade V Y,Bhargava S,Suprasanna P. Halopriming mediated salt and iso-osmotic PEG stress tolerance and gene expression profiling in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(10): 9563-9572
- [99] Iskandar H M,Widyaningrum D,Suhandono S. Cloning and characterization of *P5CSI* and *P5CS2* genes from *Saccharum officinarum* L. under drought stress[J]. J Trop Crop Sci, 2014, 1(1): 23-30
- [100] 张积森,陈由强,郭春芳,等.甘蔗水分胁迫响应的 $\delta$ -鸟氨酸转氨酶基因克隆及分子特征分析[J].热带作物学报, 2009, 30(8): 1062-1068
- [101] 余爱丽.斑茅抗性评价及其*BADH*基因的克隆表达[D].福州:福建农林大学,2004
- [102] 刘金仙,阙友雄,郭晋隆,等.甘蔗胚胎晚期丰富蛋白基因(*LEA*)cDNA全长克隆及表达特性[J].农业生物技术学报, 2009, 17(5): 836-842
- [103] Su Y C,Guo J L,Ling H,et al. Isolation of a novel peroxisomal catalase gene from sugarcane, which is responsive to biotic and abiotic stresses[J]. PLoS ONE, 2014, 9(1): e84426
- [104] Wang S ,Zhang K K,Huang X,et al. Cloning and functional analysis of thylakoidal ascorbate peroxidase (*TAPX*) gene in sugarcane[J]. Sugar Tech, 2015, 17(4): 356-366
- [105] 王盛.甘蔗铜/锌超氧化物歧化酶基因的克隆和功能分析[D].南宁:广西大学,2013
- [106] Que Y X,Liu J X,Xu L P,et al. Molecular cloning and expression analysis of a zeta-class glutathione S-transferase gene in sugarcane[J]. Afr J Biotechnol, 2011, 10(39): 7567-7576
- [107] Geethalakshmi S,Barathkumar S,Prabu G. The MYB, transcription factor family genes in sugarcane (*Saccharum* sp.) [J]. Plant Mol Biol Rep, 2015, 33(3): 512-531
- [108] Liu J X,Que Y X,Guo J L,et al. Molecular cloning and expression analysis of a WRKY transcription factor in sugarcane[J]. Afr J of Biotechnol, 2012, 11(24): 6434-6444
- [109] Nogueira F T S,Schlögl P S,Camargo S R,et al. SsNAC23, a member of the NAC domain protein family, is associated with cold, herbivory and water stress in sugarcane [J]. Plant Sci, 2005, 169(1): 93-106
- [110] Trujillo L E,Sotolongo M,Menendez C,et al. SodERF3, a novel sugarcane ethylene responsive factor (ERF), enhances salt and drought tolerance when overexpressed in tobacco plants[J]. Plant Cell Physiol, 2008, 49(4): 512-525
- [111] Schlögl P S,Kobarg J,Moreau V H,et al. Expression, purification and characterization of a novel bzip protein from sugarcane[J]. Plant Sci, 2004, 167(3): 583-595
- [112] 成伟,郑艳茹,葛丹凤,等.甘蔗转录激活因子*ScCBF1*基因的克隆与表达分析[J].作物学报, 2015, 41(5): 717-724
- [113] 刘金仙,阙友雄,郑益凤,等.甘蔗锌指蛋白基因的克隆和表达分析[J].农业生物技术学报, 2009, 17(4): 707-712
- [114] 谭秦亮,李长宁,杨丽涛等.甘蔗ABA信号转导关键酶*SoS-nRK2.1*基因的克隆与表达分析[J].作物学报, 2013, 39(12): 2162-2170
- [115] 黄杏,杨丽涛,张保青,等.甘蔗脱落酸胁迫成熟诱导蛋白基因(*SoASR*)的克隆和表达分析[J].生物技术通报, 2013, 36(2): 93-99
- [116] Li C N,Srivastava M K,Nong Q,et al. Molecular cloning and characterization of *SoNCED*, a novel gene encoding 9-cis-epoxy-carotenoid dioxygenase from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. Genes Genom, 2013, 35(1): 101-109
- [117] 李黎,滕峥,刘开雨,等.甘蔗MAP激酶基因*SoMAPK*克隆与生物信息学分析[J].南方农业学报, 2012, 43(6): 727-732
- [118] 黄珑,苏炜华,张玉叶,等.甘蔗*CIPK*基因的同源克隆与表达[J].作物学报, 2015, 41(3): 499-506
- [119] 谢晓娜,杨丽涛,王盛,等.甘蔗NADP异柠檬酸脱氢酶基因(*SoNADP-IDH*)的克隆与表达分析[J].中国农业科学, 2015, 48(1): 185-196
- [120] 宋修鹏,张保青,黄杏,等.甘蔗S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因(*ScSAM*)的克隆及表达[J].作物学报, 2014, 40(6): 1002-1010
- [121] 宋修鹏,黄杏,莫凤连,等.甘蔗苯丙氨酸解氨酶基因(*PAL*)的克隆和表达分析[J].中国农业科学, 2013, 46(14): 2856-2868
- [122] 刘金仙,阙友雄,郭晋隆,等.甘蔗S-腺苷蛋氨酸脱羧酶基因*Sc-SAMDC*的克隆和表达分析[J].中国农业科学, 2010, 43(7): 1448-1457
- [123] 张积森,郭春芳,王冰梅,等.甘蔗水分胁迫响应相关醛脱氢酶基因的克隆及其表达特征分析[J].中国农业科学, 2009, 42(8): 2676-2685
- [124] 牛俊奇,王爱勤,黄静丽,等.甘蔗可溶性酸性转化酶(*SoSAH*)基因的克隆及表达分析[J].中国农业科学, 2013, 46(24): 5248-5260
- [125] 谢晓娜,张小秋,邵敏,等.甘蔗类异黄酮还原酶(*IRL*)基因的克隆与表达分析[J].生物技术通报, 2014(11): 130-137
- [126] Andrade L M,Benatti T R,Nobile P M,et al. Characterization, isolation and cloning of sugarcane genes related to drought stress [J]. BMC Proceedings, 2014, 8(S4): 110
- [127] 苏炜华,刘峰,黄珑,等.甘蔗Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup>反向运转体基因的克隆与表达分析[J].作物学报, 2016, 42(7): 1074-1082
- [128] Guo J L,Xu L P,Fang J P,et al. A novel dirigent protein gene with highly stem-specific expression from sugarcane, response to drought, salt and oxidative stresses[J]. Plant Cell Res, 2012, 31(10): 1801-1812
- [129] Guo J L,Xu L P,Su Y C,et al. *ScMT2-1-3*, a metallothionein gene of sugarcane, plays an important role in the regulation of heavy metal tolerance/accumulation [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013(1): 86-89
- [130] Augustine S M,Narayan J A,Syamaladevi D P,et al. *Erianthus arundinaceus*, HSP70 (*EaHSP70*) overexpression increases drought and salinity tolerance in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid) [J]. Plant Sci, 2015, 232: 23-34
- [131] Chen Y, Ma J J, Zhang X, et al. A novel non-specific lipid transfer protein gene from sugarcane (*NsLTPs*), obviously responded to abiotic stresses and signaling molecules of SA and MeJA [J]. Sugar Tech, 2017, 19(1): 17-25
- [132] Que Y X, Liu J X, Xu L P, et al. Molecular cloning and characterization of a cytoplasmic cyclophilin gene in sugarcane [J]. Afr J Biotechnol, 2011, 10(42): 8213-8222