

中国百种杰出学术期刊  
中国精品科技期刊  
中国科协优秀期刊  
中国科学院优秀科技期刊  
新中国 60 年有影响力的期刊  
国家期刊奖

ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

# 生态学报

## Acta Ecologica Sinica

(Shengtai Xuebao)

第 31 卷 第 4 期  
Vol.31 No.4  
**2011**



中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
科学出版社

主办  
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

# 生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 4 期      2011 年 2 月      (半月刊)

## 目 次

短期增温对青藏高原高寒草甸植物群落结构和生物量的影响 .....	李 娜,王根绪,杨 燕,等 (895)
三峡库区 9 种植物种子萌发特性及其在植被恢复中的意义 .....	陶 敏,鲍大川,江明喜 (906)
白蜡虫及其 3 种优势寄生蜂的时空生态位 .....	王自力,陈 勇,陈晓鸣,等 (914)
宁夏盐池荒漠草原步甲物种多样性 .....	贺 奇,王新谱,杨贵军 (923)
脂肪酸对中华哲水蚤摄食两种海洋微藻的指示作用 .....	刘梦坛,李超伦,孙 松 (933)
安徽菜子湖大型底栖动物的群落结构特征 .....	徐小雨,周立志,朱文中,等 (943)
乐清湾潮间带大型底栖动物群落分布格局及其对人类活动的响应 .....	彭 欣,谢起浪,陈少波,等 (954)
海蜇养殖对池塘底泥营养盐和大型底栖动物群落结构的影响 .....	冯建祥,董双林,高勤峰,等 (964)
竹巴笼矮岩羊 ( <i>Pseudois schaeferi</i> ) 昼间行为节律和时间分配 .....	刘国库,周材权,杨志松,等 (972)
干热河谷植物叶片,树高和种子功能性状比较 .....	郑志兴,孙振华,张志明,等 (982)
石羊河中游沙漠化逆转过程土壤种子库的动态变化 .....	马全林,张德魁,刘有军,等 (989)
基于 TM 影像、森林资源清查数据和人工神经网络的森林碳空间分布模拟 .....	汪少华,张茂震,赵平安,等 (998)
山地视觉景观的 GIS 评价——以广东南昆山国家森林公园为例 .....	裘亦书,高 峻,詹起林 (1009)
基于功能分类的城市湿地公园景观格局——以西溪湿地公园为例 .....	李玉凤,刘红玉,郑 因,等 (1021)
水分胁迫下丛枝菌根 AM 真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响 .....	贺学礼,高 露,赵丽莉 (1029)
农田灌溉对印度区域气候的影响模拟 .....	毛慧琴,延晓冬,熊 喆,等 (1038)
高大气 CO <sub>2</sub> 浓度下小麦旗叶光合能量利用对氮素和光强的响应 .....	张绪成,于显枫,马一凡,等 (1046)
豌豆过氧化氢酶在烟草叶绿体中的过量表达提高了植物的抗逆性 .....	王凤德,衣艳君,王海庆,等 (1058)
不同小麦品种对低温胁迫的反应及抗冻性评价 .....	王树刚,王振林,王 平,等 (1064)
基于遥感与模型耦合的冬小麦生长预测 .....	黄 彦,朱 艳,王 航,等 (1073)
喷施 ABA 对两个穗型不同小麦穗颈节伤流、穗部性状及产量的影响 .....	崔志青,尹燕枰,田奇卓,等 (1085)
“稻鸭共生”生态系统稻季 N、P 循环 .....	张 帆,隋 鹏,陈源泉,等 (1093)
红壤丘陵区粮食生产的生态成本 .....	李 晓,谢永生,张应龙,等 (1101)
甘南牧区草畜平衡优化方案与管理决策 .....	梁天刚,冯琦胜,夏文韬,等 (1111)
黄龙钙化滩流地物种-面积关系 .....	黄宝强,罗毅波,安德军,等 (1124)
杉木人工林细根寿命的影响因素 .....	凌 华,袁一丁,杨智杰,等 (1130)
长白落叶松林龄序列上的生物量及碳储量分配规律 .....	巨文珍,王新杰,孙玉军 (1139)
生物肥与甲壳素和恶霉灵配施对香蕉枯萎病的防治效果 .....	张志红,彭桂香,李华兴,等 (1149)
北京城区不同水质水体可培养细菌数量的季节动态变化 .....	高 程,黄满荣,陶 爽,等 (1157)
<b>专论与综述</b>	
整树水力导度协同冠层气孔导度调节森林蒸腾 .....	赵 平 (1164)
植物寄生对生态系统结构和功能的影响 .....	李钧敏,董 鸣 (1174)
加拿大一枝黄花的入侵机理研究进展 .....	杨如意,答树婷,唐建军,等 (1185)

# 豌豆过氧化氢酶在烟草叶绿体中的过量表达提高了植物的抗逆性

王凤德<sup>1</sup>, 衣艳君<sup>1</sup>, 王海庆<sup>2</sup>, 王学臣<sup>3</sup>, 刘家尧<sup>1,\*</sup>

(1. 青岛农业大学生命科学院, 山东青岛 266109; 2 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810008;  
3. 中国农业大学植物生理生化国家重点实验室, 北京 100193)

**摘要:**通过构建融合番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽基因(*rbcS-3*)和 CAT 基因编码阅读框(ORF)的双元表达载体,采用农杆菌介导的叶圆盘转化法将融合基因转入烟草,使其能够定向导入叶绿体中发挥作用。在含有 50mg/L 潮霉素的培养基上筛选获得转 CAT 烟草 30 多个株系,并对其进行了分子生物学的验证和生理指标的检测。对获得的抗性植株用 PCR、RT-PCR、植株总蛋白 Western blot 和叶绿体蛋白 Western blot 分析表明,目的基因已经整合到烟草基因组中,并能正常表达,且在叶绿体 *rbcS-3* 转运肽的作用下能定向进入叶绿体中。对转基因植株生理指标的检测发现,在 20% PEG<sub>6000</sub> 模拟干旱条件下,野生型烟草的相对电导率提高幅度为 43.4%,而转 CAT 植株的相对电导率仅提高 8.8%,表明在干旱胁迫下转 CAT 烟草的质膜透性小于野生型烟草;经 20% PEG<sub>6000</sub> 处理后,野生型和转 CAT 基因烟草的叶绿素含量都下降,下降幅度分别为 68.0% 和 20.4%;另外,经 20% PEG<sub>6000</sub> 处理的野生型烟草叶片的 *Fv/Fm* 下降幅度为 5.3%,而转 CAT 基因烟草叶片的 *Fv/Fm* 下降幅度 0.9%,这些结果表明,在叶绿体中过量表达 CAT 对干旱胁迫下的细胞质膜、叶绿素和 PS II 具有一定的保护作用。此外,经 150 μmol/L 百草枯处理后发现,处理 3h 后,野生型烟草和转 CAT 烟草的相对电导率分别比对照提高 67.9% 和 13.5%,而野生型和转 CAT 烟草的 *Fv/Fm* 都下降,降幅分别为 23.7% 和 3.9%,这表明在百草枯氧化胁迫下转 CAT 烟草的质膜和 PS II 的损伤程度都小于野生型烟草。总之,豌豆 CAT 基因在烟草叶绿体中过量表达,提高了转基因烟草的抗旱性和抗氧化性。

**关键词:**烟草;豌豆过氧化氢酶基因;抗逆性

## Enhanced drought and photooxidation tolerance of transgenic tobacco plants overexpressing pea catalase in chloroplasts

WANG Fengde<sup>1</sup>, YI Yanjun<sup>1</sup>, WANG Haiqing<sup>2</sup>, WANG Xuechen<sup>3</sup>, LIU Jiayao<sup>1,\*</sup>

1 College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

2 Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810008, China

3 State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, China Agricultural University, Beijing 100193, China

**Abstract:** In order to study the effects of overexpressing pea catalase (CAT) in tobacco chloroplast on drought and photooxidation tolerance, a binary vector harboring the gene fusion of tomato *rbcS-3* and pea CAT was constructed, and the transgenic tobacco plants with high expression levels of *rbcS-3* and CAT in chloroplast were generated by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. Transformants were selected on the medium containing hygromycin (50 mg/L), and over 30 transgenic lines were obtained and used for further molecular and physiological determination. Analysis of the transgenic plants was performed by using PCR, RT-PCR and Western blotting approaches. The result indicated that the genes of *rbcS-3* and CAT were successfully integrated into tobacco genome, and the fusion protein was overexpressed in tobacco chloroplast by the help of *rbcS-3* targeting. The permeability of plasma membrane, *Fv/Fm* and the content of chlorophyll in tobacco leaves treated with 20% PEG<sub>6000</sub> and 150 μmol/L paraquat were measured. Compared to 43.4%

**基金项目:**国家自然科学基金项目(30170556, 30970240);山东省自然科学基金项目(2009ZR019E7);植物生理生化国家重点实验室开放课题(PPB08005);青岛农业大学高层次人才基金(630743)

收稿日期:2009-11-18; 修订日期:2010-09-16

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liujy07@yahoo.com.cn

increase of the electrical conductivity in wild type plants under the drought stress, the electrical conductivity was only increased 8.8% in the transgenic plants, indicating that the permeability of plasma membrane in transgenic plants was dramatically reduced. Although the chlorophyll levels in tobacco leaves were all decreased when treated with 20% PEG<sub>6000</sub>, but they were decreased by 68.0% and 20.4% in the wild type and transgenic plants respectively. In addition, under the drought stress, the *Fv/Fm* decreased 5.3% in wild type plants, but the decrease of *Fv/Fm* in transgenic plants was only 0.9%. These results indicated that overexpression of the pea CAT in chloroplast could protect plasma membrane, chlorophyll and PS II from injury under drought stress. Moreover, after 3h treatment with paraquat, the relative electrical conductivity in wild type plants was increased by 67.9%, but it was only increased by 13.5% in the transgenic plants. Whereas the *Fv/Fm* all decreased in wild type and transgenic plants after 3h treatment with paraquat, but the decrease was 23.7% in the wild type and 3.9% in the transgenic plants respectively. These data suggest that the extent of injury in transgenic plants was largely reduced under the paraquat stress. Overall, our results in the present study demonstrate that the transgenic tobacco plants overexpressing pea CAT in chloroplast enhance the drought and photooxidation tolerance.

**Key Words:** tobacco; pea catalase gene; stress tolerance

干旱胁迫是自然条件下植物经常遇到的逆境之一。在干旱胁迫时植物体内水分代谢失调,气孔导度减小,阻碍空气中的 CO<sub>2</sub> 进入,使得 CO<sub>2</sub> 供应不足,碳代谢不能正常运行,影响植物的生长发育<sup>[1]</sup>。而且,干旱胁迫还会对植物造成氧化胁迫伤害,干旱时植物 CO<sub>2</sub> 同化速率降低,光合作用利用的光能减少,此时光合组织吸收的光能将大量过剩,过剩的光能如不及时有效地耗散,就会通过多种途径在植物体内形成有毒的活性氧<sup>[2]</sup>,如 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、·OH 等。因此,干旱逆境在本质上也是一种氧化逆境<sup>[1]</sup>。在植物的长期进化过程中,为了应对氧化胁迫在体内形成了一套由酶促(SOD、APX、CAT 等)和非酶促(抗坏血酸、谷胱甘肽等)组成的活性氧清除系统,其中 SOD 可将 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,而 CAT 和 APX 等则可将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 转化为无毒的 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>。但在干旱胁迫条件下,高水平的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 常导致 APX 活性发生钝化,而 CAT 活性基本不受影响<sup>[3]</sup>,因此 CAT 在维持干旱胁迫条件下的活性氧平衡中具有重要的作用。已有研究表明,将细菌 CAT 在烟草叶绿体中过量表达不仅提高了百草枯处理下的氧化胁迫抗性还提高了对干旱胁迫的抗性<sup>[3]</sup>; SOD 和 CAT 在大白菜叶绿体中的过量共表达提高了对 SO<sub>2</sub> 和盐所造成的胁迫抗性<sup>[4]</sup>。本研究利用农杆菌介导的叶盘转化法将由番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽编码序列和豌豆过氧化氢酶基因组成的 *tr-cat* 融合基因导入烟草中,获得了在叶绿体中过量表达 CAT 的转基因烟草,通过对转基因烟草进行抗干旱和光氧化胁迫特性分析,为更深入地研究植物的抗逆机制提供重要理论依据,为通过抗逆基因工程手段提高植物对干旱等环境适应能力和改善生态环境提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

所用烟草为普通烟草品种黄苗榆 (*Nicotina tabacum* cv. Huang miaoyu),经 10% 次氯酸钠消毒后播种于 MS 基本培养基中,取 5—6 片真叶期植株的上部叶作为转化材料。植物表达载体质粒为 pCMW101,融合后的载体含有番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽基因(*rbcS-3*)、豌豆过氧化氢酶(CAT)基因以及潮霉素磷酸转移酶基因(*HPT*),融合基因由花椰菜花叶病毒的 35S 启动子驱动,用农杆菌侵染烟草叶片获得转基因植株。

### 1.2 转基因植株的鉴定

以 *rbcS-3* 和 CAT 融合基因序列为模版设计特异性引物,序列为 AP1: 5'-GCCAGCTCA TGGCTTCTTCAG-TAATG-3'和 AP2: 5'-GCCTGCAGTTAAATGCTAGGCCTCATG-3'。用上述特异性引物对潮霉素筛选得到的抗性苗提取总 DNA,进行 PCR 分析,利用 PCR 检测结果初步筛选出转基因烟草植株。提取 PCR 检测为阳性植株的总 RNA,进行 RT-PCR 反应。根据 Aebi 的方法<sup>[5]</sup>测定 CAT 酶活性;采用分离叶绿体蛋白并进行 Western blot 方法检测外源 CAT 在转基因烟草中的分布。叶绿体分离参考 Smeekens S 方法<sup>[6]</sup>,Western blot 按骆爱玲

等方法<sup>[7]</sup>进行。

### 1.3 PEG<sub>6000</sub>和百草枯处理

取转 CAT 基因的株系,经 10% 次氯酸钠消毒后播种于含 50mg/L 潮霉素的 MS 培养基中,野生型烟草经 10% 次氯酸钠消毒后播种于 MS 基本培养基中,待幼苗长出 2 片真叶时移栽到装有洗净的河沙的塑料盆中,浇灌 Hogland 营养液。待幼苗长出 5 片真叶时,切取少量转基因株系叶片提取 DNA 并进行 PCR 检测,对 PCR 检测阳性植株以及野生型植株用 PEG<sub>6000</sub>或者百草枯处理。PEG<sub>6000</sub>处理浓度为 20% (用 1/2Hogland 营养液配置,从 5% PEG<sub>6000</sub>处理开始,隔天增加 5%,至终浓度为 20%),20% PEG<sub>6000</sub>处理 3d,以 1/2Hogland 营养液作为对照。百草枯处理是利用喷雾器将 150 $\mu$ mol/L 百草枯均匀喷洒在烟草叶子表面,以水珠不滴下为准,光强为 300 $\mu$ mol $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ s<sup>-1</sup>,处理时间为 3h,以蒸馏水作为对照。上述每个处理设 3 个重复。

### 1.4 质膜透性、叶绿素含量以及 PS II 最大光化学效率的测定

烟草质膜透性测定参考 Yang 等方法<sup>[8]</sup>;叶绿素含量测定参考赵世杰等方法<sup>[9]</sup>;将烟草幼苗暗适应 30min 后用植物效率分析仪(Plant Efficiency Analyser, Handy PEA)测定 PS II 最大光化学效率  $F_v/F_m$ ,数据由仪器自动生成。每个处理 5 个重复。

### 1.5 转基因烟草 CAT 活性检测

(1)CAT 的提取:取烟草叶片 1g,避开中脉,用液氮在研钵中研成粉末,随后在研钵中放入少量石英沙和 2mL 提取缓冲液,在冰上匀浆,经两步离心(12000g 6min 和 26900g 16min),上清液即为酶的粗提液。

(2)CAT 活性测定:先将 0.1mL 酶液与 2.9mL 反应液混合,在 30 $^{\circ}$ C 水浴保温 10min 使温度稳定后,加入 1.0mL 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,立即摇匀,以空白管调 0,在 240nm 波长下读光密度,反应 3min 再读光密度,求出光密度在 3min 内的变化值,以每分钟 A<sub>240</sub> 变化 0.01 为 1 个单位,计算 CAT 活力(每个样品设 5 个重复)。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草的转化及转化植株的分子检测

用农杆菌 LBA4404 转化烟草共获得 45 株抗潮霉素再生植株。对再生植株进行 PCR 扩增,有 70% 以上呈 PCR 阳性,图 1 所示为部分结果。对部分 PCR 阳性植株进行 RT-PCR 分析,大部分被检测植株呈 RT-PCR 阳性。上述结果表明目的基因已经整合到烟草基因组中并能够在转化植株中转录表达。

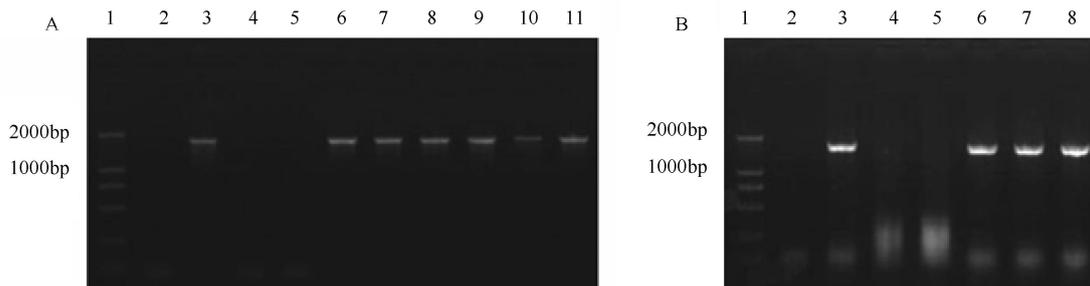


图 1 转基因植株的 PCR (A) 和 RT-PCR (B) 检测

Fig. 1 PCR (A) and RT-PCR (B) testing of transgenic plants

A 1: DL2000 Maker 2: 水对照 3: 质粒对照 4: 野生型植株 5—11: 转基因植株

B 1: DL2000 Maker 2: 水对照 3: 质粒对照 4: 野生型植株 5—8: 转基因植株

### 2.2 目的蛋白的叶绿体定位

利用 Percoll 密度梯度离心提取分离叶绿体,然后利用低渗涨破的方法进行破碎,离心提叶绿体蛋白,利用 CAT 专一性抗体进行 western blot 检测,检测结果如图 2。从图中可以看出,在上样量相同(40 $\mu$ g 蛋白)的情况下,野生型烟草仅表现出很弱的条带,由于叶绿体中不含有 CAT,推测野生型烟草具有弱带的原因可能存在于内源 CAT 的污染,而转基因植株的条带明显比未转化植株浓,这表明目的蛋白在番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽的作用下,能够在叶绿体中表达。

### 2.3 转基因烟草 CAT 活性分析

Western blot 检测结果证明了 CAT 蛋白在转基因植株叶绿体中积累,为了进一步证明 CAT 的活性,选取 RT-PCR 阳性的部分植株检测了 CAT 活性,结果表明转基因植株 T<sub>0</sub>-14 过氧化氢酶活性比 WT 的高 1.85 倍(图 3),这表明目的基因能够在转基因株系中表达,并表现出较高的酶活性。

### 2.4 PEG<sub>6000</sub> 处理对烟草叶片质膜透性、叶绿素含量和 PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )的影响

相对电导率是衡量植物细胞质膜透性的重要指标,20% PEG<sub>6000</sub> 处理前后野生型和转基因烟草相对电导率的测定结果(图 4A)表明,经 PEG<sub>6000</sub> 处理后两种基因型烟草的相对电导率都有所增加,但野生型烟草的提高幅度明显大于转基因植株。野生型烟草的提高幅度为 43.4%,而转基因植株的相对电导率仅提高 8.8%。

从图 4B 中还可以看出,经 20% PEG<sub>6000</sub> 处理后,与对照相比,野生型和转 CAT 基因烟草的叶绿素含量都下降,下降幅度分别为 68.0% 和 20.4%,转基因株系下降幅度明显小于野生型。

$F_v/F_m$  表示 PS II 最大或潜在光化学效率, $F_v/F_m$  的下降程度可以指示叶绿体 PS II 的受损程度。经 20% PEG<sub>6000</sub> 处理的野生型和转 CAT 基因烟草叶片的  $F_v/F_m$  都下降,下降幅度分别为 5.3% 和 0.9%(图 4C),表明在干旱胁迫条件叶绿体 PS II 都受到损伤,但根据下降幅度的大小可以看出在干旱胁迫条件下野生型烟草的损伤程度要大于转基因烟草。

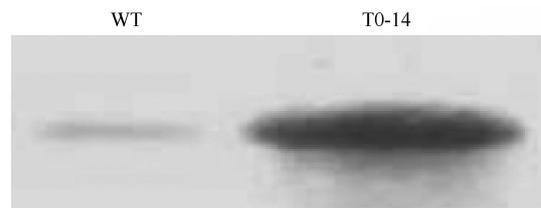


图 2 转基因烟草 CAT 酶的分布

Fig. 2 Distribution of CAT enzyme in transgenic plants

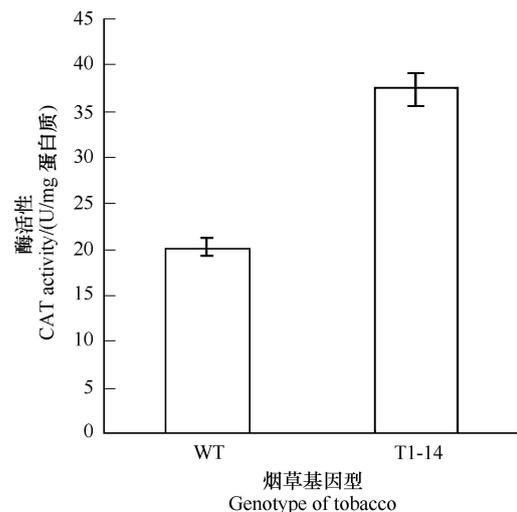


图 3 转基因烟草 T1—14 的 CAT 酶活性

Fig. 3 Activity of CAT enzyme in transformants T1—14

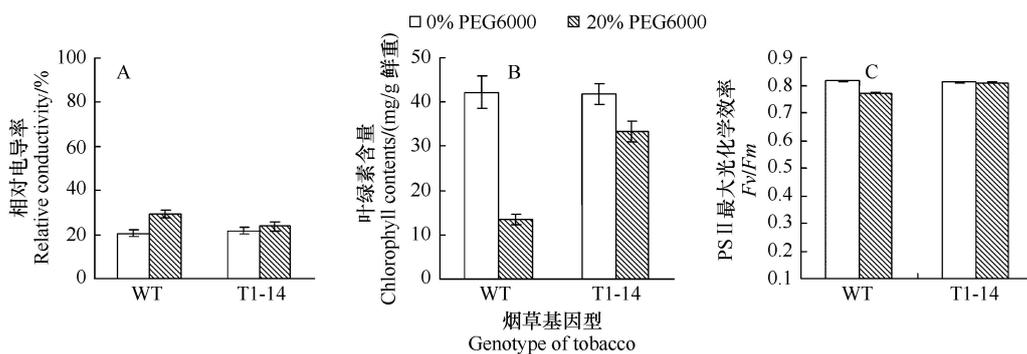


图 4 20% PEG<sub>6000</sub> 对野生型和转基因烟草细胞质膜透性(A)、叶绿素含量(B)和  $F_v/F_m$  (C) 的影响

Fig. 4 Effect of 20% PEG<sub>6000</sub> on Relative conductivity (A), Chlorophyll contents (B) and  $F_v/F_m$  (C) in Wild-type and Transgenic plants

### 2.5 百草枯对烟草叶片质膜透性和 PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )的影响

百草枯是一种有效的广谱型灭草剂,其有效成分为甲基紫精。甲基紫精是高度水溶性的二价阳离子,很容易扩散进入叶绿体。由于其具有很强的负氧还电势(-0.446V),可作为 PS I 的电子受体,阻断叶绿体 PS I 的电子传递,产生  $O_2^{\cdot-}$ ,引起活性氧的积累。从图 5A 中可以看到,经 150  $\mu\text{mol/L}$  百草枯处理后,野生型和转 Cat 烟草叶片的相对电导率都有不同程度的提高,反映在质膜透性上两种基因型烟草的质膜透性都提高,但

提高幅度存在着差异,百草枯处理 3h 后,野生型烟草和过量表达 CAT 烟草的相对电导率分别比对照提高 67.9% 和 13.5%,表明 CAT 在烟草叶绿体中的过量表达提高了百草枯介导的氧化胁迫条件下质膜的稳定性。

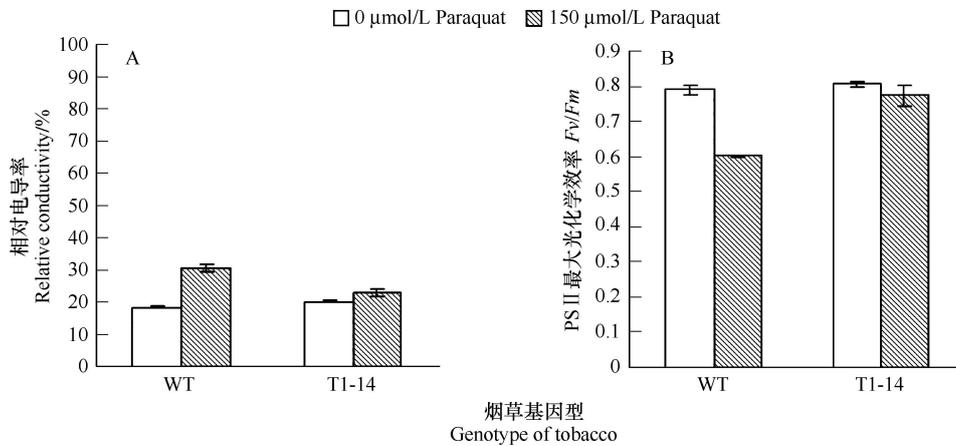


图 5 150 μmol/L 百草枯对野生型和转基因烟草细胞质膜透性 (A) 和  $F_v/F_m$  (B) 的影响

Fig. 5 Effect of 150 μmol/L Paraquat on Relative conductivity (A) and  $F_v/F_m$  (B) in Wild-type and Transgenic plants

与对照相比,经 150 μmol/L 百草枯处理 3h 后,野生型和转 CAT 烟草的  $F_v/F_m$  都下降,降幅分别为 23.7% 和 3.9% (图 5B),说明 CAT 在叶绿体中的过量表达对百草枯氧化胁迫下的叶绿体 PS II 具有一定的保护作用。

### 3 讨论

在干旱和光氧化胁迫时产生的活性氧,如不及时清除可导致膜脂过氧化、碱基突变、DNA 链断裂和蛋白质的损伤<sup>[10]</sup>,对植物体产生毒害作用。本实验结果表明,在烟草叶绿体中过量表达豌豆 CAT 能明显降低 PEG<sub>6000</sub> 处理和百草枯处理所造成的细胞膜损伤,减少叶绿素的降解以及提高叶绿 PS II 的稳定性,因而具有较强的干旱和光氧化抗性。

在植物体中,不但过量的  $H_2O_2$  本身对植物就有毒害作用,而且更重要的是如果  $H_2O_2$  在植物体内累积得不到及时的清除,将可能通过 Haber-weiss 反应或 Fenton 反应生成毒性更大的  $\cdot OH$ 。一般情况下  $O_2^{\cdot -}$ 、 $H_2O_2$  不能直接启动膜脂过氧化,然而,通过进一步反应生成的  $\cdot OH$  则可在其形成位点以扩散控制速率与大多数有机化合物反应启动膜脂过氧化<sup>[11]</sup>。Willekens H 等<sup>[13]</sup>的研究表明,CAT 是  $C_3$  植物中  $H_2O_2$  清除的关键酶,而且是  $C_3$  植物耐受胁迫所必需的。他们用只有野生型 10% CAT 活性的转基因烟草作为材料进行研究发现,活性低的植物对盐和除草剂等环境胁迫特别敏感,离子渗漏、膜脂过氧化加重,光合色素破坏,导致光合活性和 PS II 效率降低。相反,利用基因工程的方法将细菌 CAT 在烟草叶绿体中过量表达不仅提高了百草枯处理下的氧化胁迫抗性还提高了对干旱胁迫的抗性<sup>[3]</sup>;SOD 和 CAT 在大白菜叶绿体中的过量共表达同样可提高对  $SO_2$  和 NaCl 所造成的胁迫抗性<sup>[4]</sup>。在本研究中通过番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽的作用将在烟草细胞质中过量表达的 CAT 定位到叶绿体中不仅提高了转基因植株对干旱胁迫抗性还提高了对光氧化胁迫抗性,其机制可能在于植物体内较高的 CAT 活性可以及时有效地清除干旱和光氧化胁迫下产生的  $H_2O_2$ ,减少了活性氧对植物体造成的伤害。

因此本研究构建了番茄 RuBP 羧化酶小亚基转运肽基因 (*rbcS-3*) 和 CAT 基因编码阅读框 (ORF) 的双元表达载体,并将其成功导入了烟草基因组,获得转基因烟草植株,并证明在烟草叶绿体中过量表达了 CAT。同时抗逆生理结果表明了转基因植株与对照相比,具有较高的 PS II 最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、较高的叶绿素含量以及较低的细胞质膜透性,能够提高转基因植株的抗旱性和抗光氧化性。这为提高植物对于干旱和高光强环境的适应能力及其机制研究提供了资料,也为通过基因工程手段培育抗旱植物来改善干旱生态环境打下了基础。

**致谢:**本工作得到中国科学院上海植物生理生态研究所张洪霞研究员、美国马里兰大学董春海博士的帮助,特此致谢。

#### References:

- [ 1 ] Gu H P, Zhu C S, Chen X, Zhang Z L, Li X. The relationship between tolerance-drought and tolerance-photooxidation in soybean [ *Glycine max* (L.) *merrill* ]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1998, 20(3): 51-55.
- [ 2 ] Foyer C H, Lelandais M, Kunert K J. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 1994, 92(4): 696-717.
- [ 3 ] Shikanai T, Takeda T, Yamauchi H, Sano S, Tomizawa K T, Yokota A, Shigeoka S. Inhibition of ascorbate peroxidase under oxidative stress in tobacco having bacterial catalase in chloroplasts. *FEBS Letters*, 1998, 428: 47-51.
- [ 4 ] Tseng M J, Liu C W, Yiu J C. Enhanced tolerance to sulfur dioxide and salt stress of transgenic Chinese cabbage plants expressing both superoxide dismutase and catalase in chloroplasts. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45: 822-833.
- [ 5 ] Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 1984, 105: 121-126.
- [ 6 ] Smeekens S, Macdonald F D, Buchanan B B. Studies on the entry of fructose-2,6-bisphosphate into chloroplasts. *Plant Physiology*, 1989, 89: 1270-1274
- [ 7 ] Luo A L, Wang J W, Li J G. A simple method for protein blotting and immunoassay. *Chinese Bulletin of Botany*, 1995, 12(2): 63-64.
- [ 8 ] Yang G, Rhodes D, Joly R J. Effects of high temperature on membrane stability and chlorophyll fluorescence in glycine betaine-deficient and glycine betaine-containing maize lines. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1996, 23: 437-443.
- [ 9 ] Zhao S J, Liu H S, Dong X C. *Plant Physiology Experiments*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1998: 68-72.
- [ 10 ] Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis//DJ Kyle, CB Osmond, CJ Arntzen, eds. *Photoinhibition*. Amsterdam: Elsevier, 1987: 227-287.
- [ 11 ] Jiang M Y, Yang W Y, Xu J, Chen Q Y. Osmotic stress-induced oxidative injury of rice seedlings. *Acta Agronomica Sinica*, 1994, 20(6): 733-738.
- [ 12 ] Willekens T, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, van Montagu M, Inze D, van Camp W. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defense in C3 plant. *The EMBO Journal*, 1997, 16(16): 4806-4816.

#### 参考文献:

- [ 1 ] 顾和平, 朱成松, 陈新, 张震林, 李霞. 大豆抗旱性和抗氧化特性相互关系的研究. *中国油料作物学报*, 1998, 20(3): 51-55.
- [ 7 ] 骆爱玲, 王继伟, 李佳格. 一种简便快速的蛋白质免疫印渍法介绍. *植物学通报*, 1995, 12(2): 63-64.
- [ 9 ] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1998: 68-72.
- [ 11 ] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 渗透胁迫诱导水稻幼苗的氧化伤害. *作物学报*, 1994, 20(6): 733-738.

CONTENTS

Short-term effects of temperature enhancement on community structure and biomass of alpine meadow in the Qinghai-Tibet Plateau ... LI Na, WANG Genxu, YANG Yan, et al (895)

Effects of submergence on seed germination of nine annual plant species in the Three Gorges Reservoir region and their implication to vegetation restoration ... TAO Min, BAO Dachuan, JIANG Mingxi (906)

Temporal-spatial niches of Chinese White Wax Scale insect (*Ericerus pela*) and its three dominant parasitoid wasps ... WANG Zili, CHEN Yong, CHEN Xiaoming, et al (914)

Species diversity of carabid beetles in desert-steppe in Yanchi of Ningxia, China ... HE Qi, WANG Xinpu, YANG Guijun (923)

Identification of trophic relationships between marine algae and the copepod *Calanus sinicus* in a fatty acid approach ... LIU Mengtan, LI Chaolun, SUN Song (933)

Community structure of macrozoobenthos in Caizi Lake, China ... XU Xiaoyu, ZHOU Lizhi, ZHU Wenzhong, et al (943)

The community distribution pattern of intertidal macrozoobenthos and the responses to human activities in Yueqing Bay ... PENG Xin, XIE Qilang, CHEN Shaobo, et al (954)

The effects of jellyfish (*Rhopilema esculentum* Kishinouye) farming on the sediment nutrients and macrobenthic community ... FENG Jianxiang, DONG Shuanglin, GAO Qinfeng, et al (964)

Diurnal activity rhythm and time budgets of the Dwarf Blue Sheep (*Pseudois schaeferi*) in Zhubalong Nature Reserve ... LIU Guoku, ZHOU Caiquan, YANG Zhisong, et al (972)

Comparison of leaf, height and seed functional traits of species in dry-hot valleys ... ZHENG Zhixing, SUN Zhenhua, ZHANG Zhiming, et al (982)

Dynamics of soil seed banks in the reversion process of desertification in the middle reaches of the Shiyang River ... MA Quanlin, ZHANG Dekui, LIU Youjun, et al (989)

Modelling the spatial distribution of forest carbon stocks with artificial neural network based on TM images and forest inventory data ... WANG Shaohua, ZHANG Maozhen, ZHAO Pingan, et al (998)

The GIS-based visual landscape evaluation in mountain area: a case study of Mount Nan-kun National Forest Park, Guangdong Province ... QIU Yishu, GAO Jun, ZHAN Qilin (1009)

A functional classification method for examining landscape pattern of urban wetland park: a case study on Xixi Wetland Park, China ... LI Yufeng, LIU Hongyu, ZHENG Nan, et al (1021)

Effects of AM fungi on the growth and drought resistance of *Seriphidium minchinense* under water stress ... HE Xueli, GAO Lu, ZHAO Lili (1029)

Modeled impact of irrigation on regional climate in India ... MAO Huiqin, YAN Xiaodong, XIONG Zhe, et al (1038)

The responses of photosynthetic energy use in wheat flag leaves to nitrogen application rates and light density under elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ... ZHANG Xucheng, YU Xianfeng, MA Yifan, et al (1046)

Enhanced drought and photooxidation tolerance of transgenic tobacco plants overexpressing pea catalase in chloroplasts ... WANG Fengde, YI Yanjun, WANG Haiqing, et al (1058)

Evaluation of wheat freezing resistance based on the responses of the physiological indices to low temperature stress ... WANG Shugang, WANG Zhenlin, WANG Ping, et al (1064)

Predicting winter wheat growth based on integrating remote sensing and crop growth modeling techniques ... HUANG Yan, ZHU Yan, WANG Hang, et al (1073)

Effects of spraying ABA on bleeding intensity in neck-panicle node, spike traits and grain yields of two different panicle-type winter wheat ... CUI Zhiqing, YIN Yanping, TIAN Qizhuo, et al (1085)

Nitrogen and phosphorus cycling from rice-duck mutual ecosystem during late rice growth season ... ZHANG Fan, SUI Peng, CHEN Yuanquan, et al (1093)

Initial exploration of the ecological costs of food production in the hilly red soil region of Southern China ... LI Xiao, XIE Yongsheng, ZHANG Yinglong, et al (1101)

Optimization strategy and management decision-making in balancing forage and livestock in Gannan pastoral area ... LIANG Tiangang, FENG Qisheng, XIA Wentao, et al (1111)

Species-area relationship in travertine area in Huanglong valley, Sichuan ... HUANG Baoqiang, LUO Yibo, AN Dejun, et al (1124)

Influencing factors of fine root lifespans in two Chinese fir plantations in subtropical China ... LING Hua, YUAN Yiding, YANG Zhijie, et al (1130)

Age structure effects on stand biomass and carbon storage distribution of *Larix olgensis* plantation ... JU Wenzhen, WANG Xinjie, WANG Xinjie (1139)

Effects on controlling banana Fusarium wilt by bio-fertilizer, chitosan, hymexazol and their combinations ... ZHANG Zhihong, PENG Guixiang, LI Huaxing, et al (1149)

Seasonal dynamics of culturable bacterium numbers in freshwater bodies of different water quality in Beijing ... GAO Cheng, HUANG Manrong, TAO Shuang, et al (1157)

**Review and Monograph**

On the coordinated regulation of forest transpiration by hydraulic conductance and canopy stomatal conductance ... ZHAO Ping (1164)

Impacts of plant parasitism on structure and function of ecosystems ... LI Junmin, DONG Ming (1174)

Invasion mechanisms of *Solidago canadensis* L.: a review ... YANG Ruyi, ZAN Shuting, TANG Jianjun, et al (1185)

# 2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊\*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任:孔红梅

执行编辑:刘天星 段 靖

生态学报  
(SHENGTAI XUEBAO)  
(半月刊 1981 年 3 月创刊)  
第 31 卷 第 4 期 (2011 年 2 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA  
(Semimonthly, Started in 1981)  
Vol. 31 No. 4 2011

**编 辑** 《生态学报》编辑部  
地址:北京海淀区双清路 18 号  
邮政编码:100085  
电话:(010)62941099  
www.ecologica.cn  
shengtaixuebao@rcees.ac.cn

**主 编** 冯宗炜  
**主 管** 中国科学技术协会  
**主 办** 中国生态学会  
中国科学院生态环境研究中心  
地址:北京海淀区双清路 18 号  
邮政编码:100085

**出 版** 科 学 出 版 社  
地址:北京东黄城根北街 16 号  
邮政编码:100717

**印 刷** 北京北林印刷厂  
**发 行** 科 学 出 版 社  
地址:东黄城根北街 16 号  
邮政编码:100717  
电话:(010)64034563  
E-mail:journal@cspg.net

**订 购** 全国各地邮局  
**国外发行** 中国国际图书贸易总公司  
地址:北京 399 信箱  
邮政编码:100044

**广告经营** 京海工商广字第 8013 号  
**许 可 证**

**Edited** by Editorial board of  
ACTA ECOLOGICA SINICA  
Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China  
Tel:(010)62941099  
www.ecologica.cn  
Shengtaixuebao@rcees.ac.cn

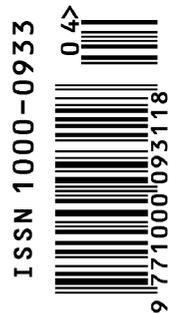
**Editor-in-chief** FENG Zong-Wei  
**Supervised** by China Association for Science and Technology  
**Sponsored** by Ecological Society of China  
Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS  
Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China

**Published** by Science Press  
Add:16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China

**Printed** by Beijing Bei Lin Printing House,  
Beijing 100083, China

**Distributed** by Science Press  
Add:16 Donghuangchenggen North  
Street, Beijing 100717, China  
Tel:(010)64034563  
E-mail:journal@cspg.net

**Domestic** All Local Post Offices in China  
**Foreign** China International Book Trading  
Corporation  
Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China



ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元