



李凤, 郭绪虎, 曹慧芬, 栗樊榕, 杨颖洁, 张东旭, 张永芳. 谷子 *SiDIR1* 基因的抗旱、耐盐功能分析[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(07): 96-104.
LI Feng, GUO Xuhu, CAO Huifen, LI Fanrong, YANG Yingjie, ZHANG Dongxu, ZHANG Yongfang. Functional analysis of foxtail millet *SiDIR1* gene associated with drought resistance and salt tolerance[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(07): 96-104.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.07.08

谷子 *SiDIR1* 基因的抗旱、耐盐功能分析

李 凤^{1,2} 郭绪虎^{1,2} 曹慧芬¹ 栗樊榕¹ 杨颖洁¹ 张东旭^{1,2} 张永芳^{1,2}

(1. 山西大同大学 农学与生命科学学院, 山西 大同 037009;

2. 山西大同大学 设施农业技术研发中心, 山西 大同 037009)

摘 要 为探究谷子 *SiDIR1* 基因的抗旱、耐盐生物学功能, 以‘豫谷 1 号’为试材, 对谷子 *nsLTP* 家族成员 *SiDIR1* 基因进行克隆, 构建过表达载体 pCAM-*SiDIR1*, 通过农杆菌介导的遗传转化法获得本氏烟草的过表达株系, 比较野生型 (WT) 和 *SiDIR1* 转基因烟草在正常条件 (无菌水, CK)、干旱 (0.033 mol/L PEG-6000) 和盐胁迫 (0.200 mol/L NaCl) 处理后的形态和生理指标的变化。结果表明: 在干旱和盐胁迫条件下, 过表达谷子 *SiDIR1* 基因能够显著降低烟草叶片的萎蔫指数, 并显著提高烟草叶片的表面积和地上部鲜重, 说明谷子 *SiDIR1* 基因的导入能够增强烟草植株的抗旱性和耐盐性; 过表达 *SiDIR1* 能够显著提高烟草叶片的叶绿素相对含量 (SPAD); 过表达 *SiDIR1* 能够显著提高烟草的过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性, 且显著降低烟草的丙二醛 (MDA) 的含量, 从而降低活性氧 (ROS) 的积累, 减少细胞膜的损伤。综上, 谷子 *SiDIR1* 基因在烟草中的异源表达能够有效提高植株对于干旱和盐胁迫的耐受性, 并且谷子 *SiDIR1* 基因可能通过保持叶绿素稳定, 激活植物的氧化应激, 缓解细胞氧化损伤来提高植株的抗旱和耐盐能力。

关键词 谷子; *SiDIR1*; 抗旱; 耐盐; 功能

中图分类号 S515

文章编号 1007-4333(2025)07-0096-09

文献标志码 A

Functional analysis of foxtail millet *SiDIR1* gene associated with drought resistance and salt tolerance

LI Feng^{1,2}, GUO Xuhu^{1,2}, CAO Huifen¹, LI Fanrong¹, YANG Yingjie¹,
ZHANG Dongxu^{1,2}, ZHANG Yongfang^{1,2}

(1. College of Agronomy and Life Sciences, Shanxi Datong University, Datong 037009, China;

2. Protected Agricultural Technology Development Center, Shanxi Datong University, Datong 037009, China)

Abstract To explore the biological function of foxtail millet *SiDIR1* involved in drought resistance and salt tolerance, a foxtail millet *nsLTP* family member, *SiDIR1*, was cloned using ‘Yugu 1’ as the material, and an overexpression vector pCAM-*SiDIR1* was constructed. The transgenic lines of *Nicotiana benthamiana* overexpressing *SiDIR1* were obtained through Agrobacterium-mediated genetic transformation method, and the changes of morphological and physiological indices of wild-type (WT) and *SiDIR1* transgenic plants were analyzed under the treatment of normal condition (sterile water, CK), drought (0.033 mol/L PEG-6000) and salt (0.200 mol/L NaCl) stress. The results showed that: Under drought and salt stress conditions, overexpression of millet *SiDIR1* gene in tobacco plants could significantly decrease the leaf wilting index, and significantly increase the leaf surface area and above-ground fresh weight, indicating that the introduction of millet *SiDIR1* gene into tobacco plants could enhance the drought resistance and salt

收稿日期: 2024-12-22

基金项目: 山西省基础研究计划 (202303021221167); 山西大同大学博士科研启动基金 (2017-B-18)

第一作者: 李凤 (ORCID: 0000-0003-1477-9089), 副教授, 主要从事植物逆境分子生物学与分子育种研究, E-mail: LF_sxdtdx@163.com

tolerance of plants; overexpression of *SiDIR1* could significantly increase the relative content of chlorophyll (SPAD) in tobacco leaves; overexpression of *SiDIR1* could significantly increase the activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD), and significantly decrease the content of malondialdehyde (MDA) in tobacco, thereby reducing the accumulation of reactive oxygen species (ROS) and the damage of cell membrane. In conclusion, the heterologous expression of *SiDIR1* in *N. benthamiana* could effectively improve the drought and salt tolerance of plants, and *SiDIR1* might improve the drought resistance and salt tolerance of plants by maintaining the stability of chlorophyll, activating the plant oxidative defense and alleviating the cellular oxidative damage.

Keywords foxtail millet; *SiDIR1*; drought resistance; salt tolerance; function

近年来,全球变暖日益加剧,极端气候频现,干旱和盐害已成为制约我国农业发展的主要非生物胁迫因素^[1-2]。干旱和盐胁迫导致的植物细胞缺水、离子毒害、高渗及氧化胁迫等问题会使植物整个生理及代谢过程发生紊乱,严重威胁植物的生长发育^[3-4]。谷子(*Setaria italica*, $2n = 2x = 18$)属于抗旱稳产作物,在我国北方干旱和半干旱地区作为膳食主食被广泛种植^[5-6]。谷子根系发达、叶面积较小且密被绒毛、输导组织发达,此外,谷子具有较高的光合速率和水分利用效率,能够通过渗透调节物质的积累和抗氧化酶活性的调节来应对逆境胁迫^[1]。谷子基因组小,生长周期短,已成为功能基因组研究中新的候选模式作物^[5]。进行谷子抗逆基因功能研究对于推动我国旱地和盐碱地的有效开发利用,实现谷子产业提质增效以及保障国家粮食安全方面具有重要意义。

目前已有一系列谷子候选抗逆基因被鉴定出来,例如 *SiARDP*^[7]、*SiLTP*^[2,8-9] 及 *SiASR4*^[10] 等。其中,谷子脂质转移蛋白基因 *SiLTP1* 能够通过激活植株的抗氧化途径来调控谷子的耐盐响应^[2]。转录因子 *SiARDP* (ABA 响应的 DREB 结合蛋白基因) 可与谷子 *SiLTP* 和 *SiASR4* 基因的启动子结合来上调其表达,进而调控谷子的抗旱性和耐盐性^[8,10]。N6-甲基腺苷(m6A)“阅读器”*SiYTH1* 可通过调控与气孔开合和活性氧(ROS)清除相关基因的 mRNA 稳定性来增强谷子的抗旱性^[11]。此外,由于内源生物钟的节律会调控植物的生长发育和逆境响应,通过谷子干旱胁迫与生物钟之间“串扰”图谱的绘制也能促进一系列关键基因的挖掘^[12]。

植物脂质转运蛋白(plant LTPs)是一类小分子(6.5~10.5 kU)、含量丰富(占可溶性蛋白含量质量百分数为4%左右)、碱性(pI 8.8~10)分泌型蛋白,

在植物中分布广泛,能够在离体条件下进行生物膜之间磷脂和脂肪酸的转运^[9,13]。因其对各种脂质分子具有广泛的亲和性,所以常被称为非特异性脂质转运蛋白(non-specific lipid transfer proteins, nsLTPs)。所有的 nsLTPs 具有 8 个半胱氨酸残基构成的保守结构(C-X_n-C-X_n-CC-X_n-CXC-X_n-C-X_n-C, 8 CM),由 4 个二硫键连接起来,形成稳定的疏水空腔,用于结合脂肪酸、磷脂、糖脂、角质单体等多种脂质分子。所有 nsLTPs 的 N 端都具有 1 个由 21~27 个氨基酸残基组成的信号肽结构,引导蛋白到达质外体空间^[9,13]。*nsLTP* 基因不仅在植物生长发育过程(例如角质层蜡质合成、胚胎发育、种子发育和萌发等)中起着重要的调节作用,还参与多种生物及非生物胁迫的应答^[13]。已有研究表明,*nsLTP* 基因可以通过参与角质层蜡质的形成^[14],降低叶片的蒸腾速率^[15],响应水杨酸和茉莉酸甲酯信号转导^[16],激活胁迫应答相关基因的表达^[17],提高抗氧化酶活性、降低活性氧积累^[4,15]、积累渗透调节物质^[8]、增加侧根数量^[18]等途径来增强植株的抗旱性或耐盐性。

Li 等^[9]研究发现,谷子含有 45 个 *nsLTP* 成员, *SinsLTP3* (Seita. 2G106800) 是 1 个编码区为 312 bp 的 Type IV 亚家族成员,编码 103 个氨基酸残基,含有 1 个外显子,不含有内含子,与拟南芥诱导抗性缺陷基因 *DIR1* (defective in induced resistance 1, At5g48485) 为同源基因,因此将 *SinsLTP3* 命名为 *SiDIR1*^[9]。*SiDIR1* 呈现一定的组织器官特异性表达模式,在根部和茎部表达量较高,且能响应干旱、盐和低温胁迫的诱导^[9]。目前关于谷子 *SiDIR1* 基因抗旱耐盐功能方面的研究鲜见报道。本研究从谷子品种‘豫谷 1 号’叶片中克隆谷子 *SiDIR1* 基因,利用同源重组法构建过表达载体,通过农杆菌介导的遗传转化法获得本氏烟草 (*Nicotiana*

benthamiana)的过表达株系,测定干旱和盐胁迫下 *SiDIR1*转基因植株的形态和生理指标,旨在探究谷子 *SiDIR1*基因响应干旱和盐胁迫的功能,以期为谷子抗逆分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

谷子品种‘豫谷1号’种子由中国农科院作物研究所提供。本氏烟草种子购自陕西博瑞德生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 *SiDIR1*的克隆和过表达载体构建

谷子‘豫谷1号’种子直播到混合基质(ω_{营养土}: ω_{蛭石}=2:1)中,置于人工气候箱(28℃光照/23℃黑

暗,14 h光照/10 h黑暗)中培养3周,之后对谷子幼苗叶片进行取样,于液氮中速冻,并置于-80℃冰箱保存。使用美国OMEGA公司的EZNA® Plant RNA Kit提取谷子叶片的总RNA,测定RNA浓度与纯度后,使用南京诺唯赞生物科技股份有限公司的HiScript®II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)Kit合成cDNA。以cDNA为模板,通过PCR克隆*SiDIR1*,引物序列见表1,引物由美国ABI公司的Primer Express Software v2.0设计,由中国华大基因科技有限公司合成,退火温度为55℃。采用同源重组法,利用中国近岸蛋白质科技股份有限公司的NovoRec®Plus One Step PCR Cloning Kit将扩增的*SiDIR1*基因连接至pART-CAM质粒的*Xho* I和*Xba* I酶切位点处,构建重组质粒pCAM-SiDIR1,并转化大肠杆菌用于测序验证。

表1 本研究所使用的引物序列
Table 1 Primer sequences used in this study

名称 Name	序列(5'→3') Sequences	引物用途 Purposes of primer
<i>SiDIR1</i> -F ₁	ATTTGGAGAGGACACGCTCGAGATGGCAAAGGCCCAGGCA	克隆 <i>SiDIR1</i> 基因
<i>SiDIR1</i> -R ₁	CTCATTAAGCAGGACTCTAGATCAGCAGTTGGCTGGCATC	
<i>SiDIR1</i> -F ₂	CGCACAATCCCACTATCCTT	<i>SiDIR1</i> 转基因烟草PCR鉴定
<i>SiDIR1</i> -R ₂	CGGTTGATGTTCGATCCTGTAG	
β- <i>actin</i> -F	CTCCGTCTTGACTTGGCAGG	<i>SiDIR1</i> 转基因烟草qRT-PCR鉴定
β- <i>actin</i> -R	ACAATTTCCCGCTCAGCTGA	
<i>SiDIR1</i> -F ₃	CCTGTGCCGGTACAAGAACG	
<i>SiDIR1</i> -R ₃	GGCATCGCAAGACCACACTT	

1.2.2 烟草的遗传转化及分子鉴定

将重组质粒pCAM-SiDIR1转入农杆菌菌株GV3101中,采用叶盘法^[19]对本氏烟草进行农杆菌介导的*SiDIR1*过表达遗传转化。具体操作为:将本氏烟草种子消毒并播于MS培养基上,1~2个月后取无菌苗的细嫩叶片剪成小块(去掉边缘及主脉),浸入*SiDIR1*转基因农杆菌菌液中,侵染后置于共培养基培养基(MS+1 mg/L 6-BA,pH 5.8),黑暗培养2~3 d。之后将外植体转移到芽诱导分化培养基(MS+1 mg/L 6-BA+300 mg/L Timentin+50 mg/L卡那霉素,pH 5.8)上。生芽后将芽切至生根培养基(1/2 MS+300 mg/L Timentin +0.5 mg/L

IAA + 50 mg/L卡那霉素,pH 5.8)中诱导生根,形成完整小植株。

使用北京全式金生物技术股份有限公司的TransDirect Plant Tissue PCR Kit提取再生植株的基因组DNA,采用PCR法检测阳性植株,退火温度为52℃,扩增的目的片段为329 bp。利用德国QIAGEN公司的RNeasy Plant Mini Kit提取阳性植株叶片的RNA,使用美国Invitrogen公司的SuperScript™ III Reverse Transcriptase Kit进行cDNA的合成。利用美国Thermo Fisher Scientific公司的ABI ViiA™ 7 Real Time PCR System进行qRT-PCR试验,烟草内参基因为β-*actin* gene

(JQ256516.1),退火温度为 59 ℃。*SiDIR1* 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [20] 方法计算。

1.2.3 植物材料的处理和取样

将野生型(WT)和过表达 *SiDIR1* 的本氏烟草种子播于MS培养基,置于人工气候箱(24~26 ℃,相对湿度(RH)50%~70%,16 h光照/8 h黑暗)中培养,2周后将幼苗移栽到混合基质($w_{\text{营养土}}:w_{\text{蛭石}}=2:1$)中继续培养2周。配制 0.033 mol/L(20%,质量分数)的PEG-6000模拟干旱胁迫和 0.200 mol/L的NaCl模拟盐胁迫,随机挑取生长良好且一致的烟草植株进行胁迫处理,对照(CK)使用无菌水处理。3 d后对烟草植株进行形态鉴定,并采鲜样进行生理指标的测定。每个样品采集自3株独立植株,进行3次生物学重复。

1.2.4 相关形态和生理指标的测定

根据植株形态分级统计萎蔫程度,并计算植株的萎蔫指数^[21];使用千分称称量烟草植株的地上部鲜重;利用北京雅欣理仪科技有限公司的Yaxin-1241叶面积仪测定烟草叶片的表面积。

采用日本Konica Minolta公司的SPAD-502 Plus叶绿素仪测定烟草叶片的叶绿素相对含量(SPAD)。采用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)的活性,利用氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)的活性,采用硫代巴比妥酸法测定膜脂过氧化物丙二醛(MDA)的含量^[22]。

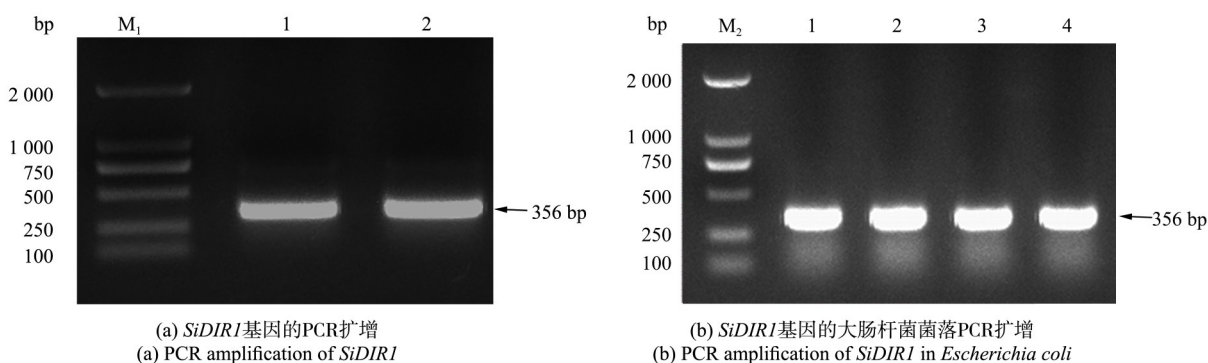
1.2.5 数据处理

采用Excel软件处理数据和作图。使用SPSS 25.0软件,通过单因素方差分析(one-way ANOVA)和Tukey HSD法分析显著性差异($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 *SiDIR1* 的克隆及载体构建

克隆获得 356 bp 的 *SiDIR1* 基因条带(图 1(a)),将 *SiDIR1* 基因与过表达载体 pART-CAM 相连接,转化大肠杆菌后挑单克隆进行菌落PCR鉴定(图 1(b))。阳性菌液送样测序后结果与预期相符,如此完成 pCAM-*SiDIR1* 重组载体的构建。



M_1 , 分子标记 DL2000, 1~2 为扩增样本。 M_2 , 分子标记 DL2000, 1~4 为扩增样本。
 M_1 , marker DL2000; 1-2, amplification samples. M_2 , marker DL2000; 1-4, amplification samples.

图1 谷子 *SiDIR1* 的克隆

Fig. 1 Gene cloning of foxtail millet *SiDIR1*

2.2 *SiDIR1* 转基因烟草的筛选及鉴定

SiDIR1 基因转化烟草,获得再生植株(图2)。经PCR鉴定,获得16株阳性植株(图3)。从中挑选6个表型良好的 *SiDIR1* 转基因株系进行qRT-PCR检测,发现 *SiDIR1-1* 和 *SiDIR1-12* 这2个株系中 *SiDIR1* 基因的表达量高于其他株系(图4),可用于后续抗旱耐盐性鉴定。

2.3 *SiDIR1* 转基因烟草在干旱和盐胁迫下的表型鉴定

由图5可知,对照(CK)的野生型(WT)和 *SiDIR1*

转基因烟草植株的长势一致,而在干旱(0.033 mol/L PEG-6000)和盐胁迫(0.200 mol/L NaCl溶液)处理3 d后,WT的叶片发生萎蔫,萎蔫指数显著高于CK,而转基因株系 *SiDIR1-1* 和 *SiDIR1-12* 均未出现萎蔫症状。在干旱和盐胁迫下,WT的叶片生长受到抑制,叶片表面积分别比CK下降46.44%和40.20% ($P<0.05$),而 *SiDIR1* 转基因植株叶片生长的受抑制程度较低,其中, *SiDIR1-1* 株系分别下降20.38%和22.16% ($P<0.05$), *SiDIR1-12* 株系分别下降23.17%和18.51% ($P<0.05$) (图5(c))。此外,在干旱和盐胁迫

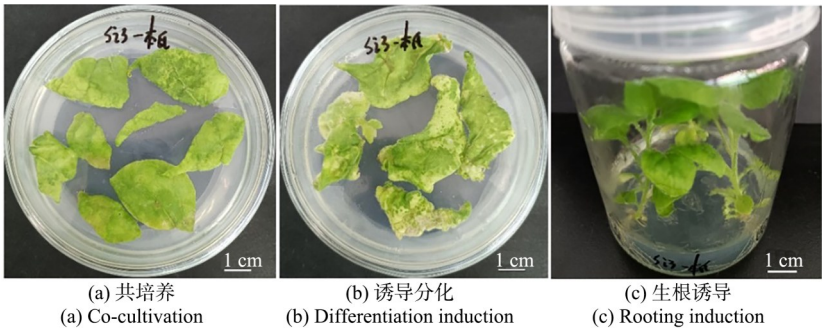
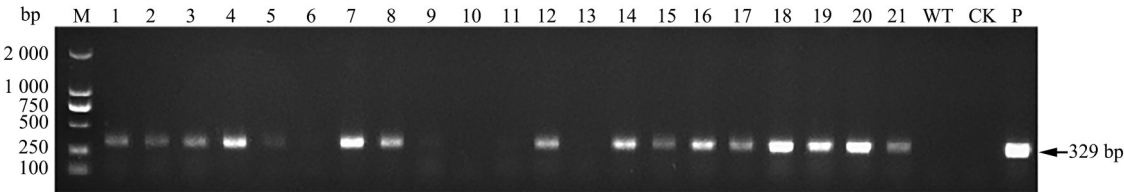


图2 本氏烟草的*SiDIR1*遗传转化

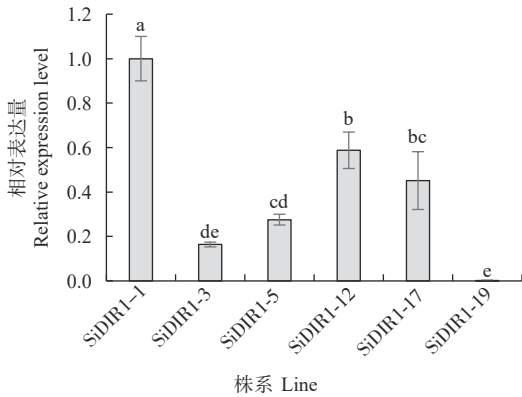
Fig. 2 *SiDIR1* gene transformation of *N. benthamiana*



M, DL2000; 1~21, T_0 代株系; WT, 阴性对照(野生型); CK, 空白对照(ddH₂O); P, 阳性对照(*SiDIR1*转基因农杆菌)。
M, DL2000; 1~21, T_0 generation plant; WT, negative control (wild type); CK, blank control (ddH₂O); P, positive control (*SiDIR1* transgenic *Agrobacterium tumefaciens*).

图3 *SiDIR1*转基因烟草的PCR鉴定

Fig. 3 PCR identification of *SiDIR1* transgenic tobacco plants



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

图4 转基因烟草株系的*SiDIR1*表达量检测

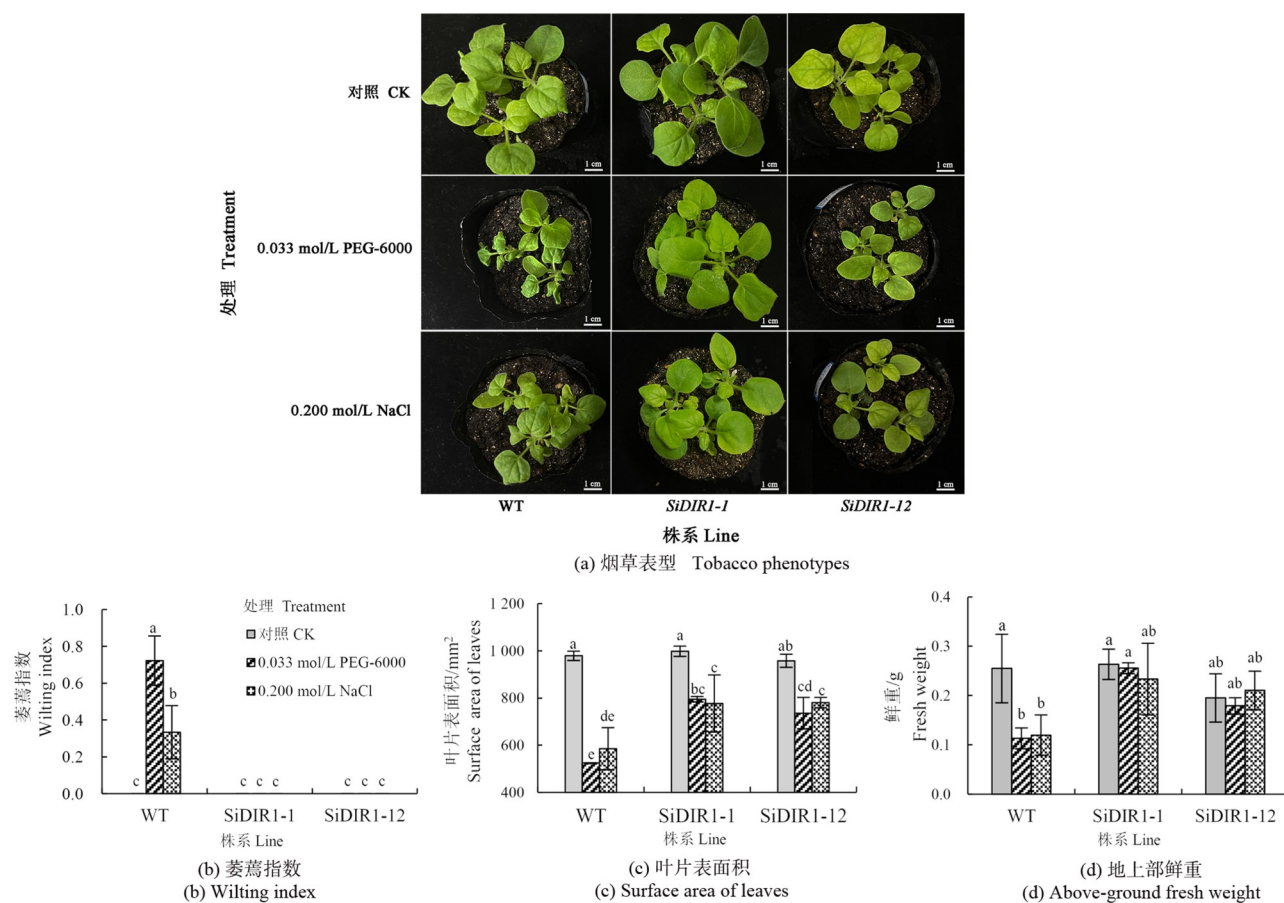
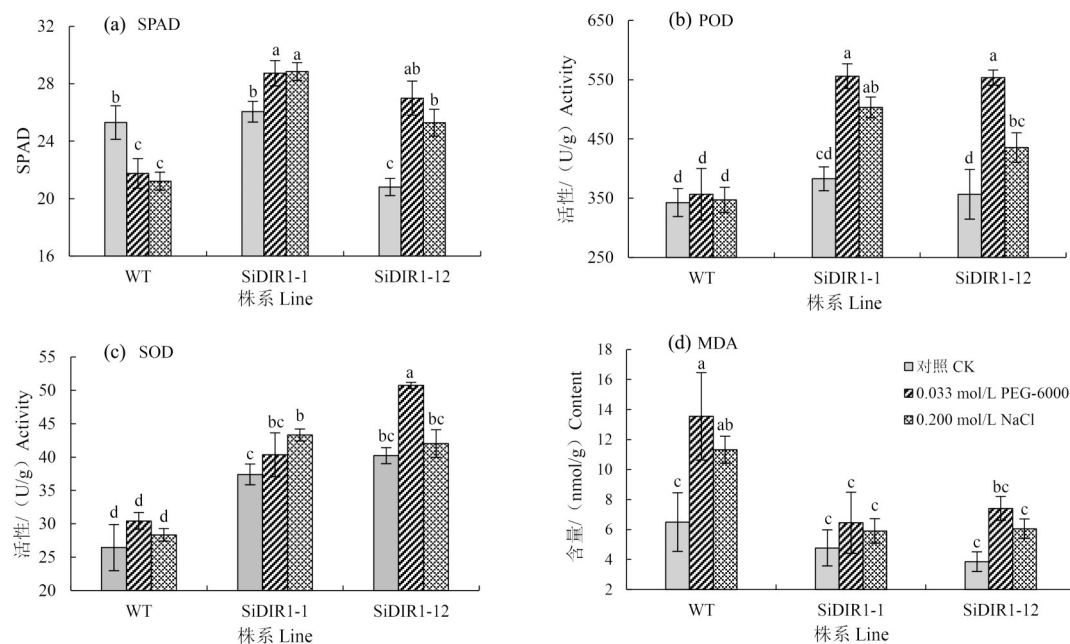
Fig. 4 Detection of *SiDIR1* expression levels in transgenic tobacco lines

下,WT 的地上部鲜重分别比CK下降55.60%和52.94% ($P<0.05$),而*SiDIR1*转基因植株则未发生显著降低(图5(d))。由此可见,*SiDIR1*的导入能够降低干旱和盐胁迫下烟草植株的萎蔫程度和生长受抑制程度。

2.4 *SiDIR1*转基因烟草对干旱和盐胁迫的生理响应

由图6可知,在干旱(0.033 mol/L PEG-6000)

和盐胁迫(0.200 mol/L NaCl)处理下,WT叶片的SPAD 比对照(CK)分别下降14.01%和16.16% ($P<0.05$);而*SiDIR1*转基因植株的SPAD 则出现上升的趋势,其中*SiDIR1-1*株系的SPAD在干旱和盐胁迫下比CK分别升高10.28%和10.75% ($P<0.05$),而*SiDIR1-12*株系的SPAD 分别升高29.74%和21.52% ($P<0.05$)。在干旱和盐胁迫下,WT叶片的POD活性均与CK无显著差异;而

图 5 干旱和盐胁迫处理下野生型 (WT) 和 *SiDIR1* 转基因烟草株系的表型和形态指标的变化Fig. 5 Changes of phenotypes and morphological indices of wild type (WT) and *SiDIR1* transgenic tobacco lines under drought and salt stress treatment图 6 干旱和盐胁迫处理下 WT 和 *SiDIR1* 转基因烟草株系生理指标的变化Fig. 6 Changes of physiological indices of WT and *SiDIR1* transgenic tobacco lines under drought and salt stress treatment

2种胁迫后的 *SiDIR1* 转基因植株的 POD 活性均显著高于 CK, 其中 *SiDIR1-1* 株系分别升高 45.26% 和 31.45% ($P < 0.05$), *SiDIR1-12* 株系分别升高 55.18% 和 22.10% ($P < 0.05$) (图 6(b))。此外, 在干旱和盐胁迫下 WT 的 SOD 活性均与 CK 无显著差异; 而 2 种胁迫后的 *SiDIR1* 转基因植株的 SOD 活性均高于 CK, 其中盐胁迫下的 *SiDIR1-1* 株系比 CK 高 15.76% ($P < 0.05$), 干旱胁迫下的 *SiDIR1-12* 株系比 CK 高 26.16% ($P < 0.05$) (图 6(c))。干旱和盐胁迫处理下的 WT 叶片的 MDA 含量分别比 CK 高 108.43% 和 74.26% ($P < 0.05$); 而 2 种胁迫后的 *SiDIR1* 转基因植株叶片的 MDA 含量水平与 CK 相比无显著差异 (图 6(d))。由此可见, *SiDIR1* 的导入能使烟草植株在干旱和盐胁迫下保持较高的 SPAD 和 POD、SOD 活性, 以及较低的 MDA 含量。

3 讨 论

诱导抗性缺陷蛋白 DIR1 属于 Type IV 亚家族, 是 nsLTP 家族的重要成员^[9]。在拟南芥中, DIR1 是参与系统获得性抗性 (Systemic acquired resistance, SAR) 相关的长距离信号传导^[23-24]。植物在 SAR 诱导后, DIR1 会从局部病菌感染的叶片转移到远处未感染的叶片, 激活植物的抗病防御响应^[25]。Li 等^[9]研究发现, 谷子 *DIR1* 基因的表达能够被干旱和盐胁迫诱导, 推测其可能参与谷子的干旱和盐胁迫抗性防御响应。本研究结果表明, 干旱和盐胁迫处理后, WT 的水分亏缺, 叶片、叶柄及茎的幼嫩部分均发生下垂, 植株叶片的生长受到显著抑制; 而 *SiDIR1* 转基因株系在 2 种胁迫处理下未发生萎蔫, 叶面积与 CK 相比虽下降, 但植株生长的受抑制程度较低, 说明谷子 *SiDIR1* 基因的导入能显著提高烟草植株的抗旱性和耐盐性。

本研究也对干旱和盐胁迫处理下 WT 和 *SiDIR1* 转基因烟草植株的生理响应进行比较分析。其中, 叶绿素是参与光合作用中光能吸收与转化过程的重要物质, 外界环境的变化会调节植物叶片的叶绿素含量, 保证光合系统的正常运行^[26]。当植物遭遇干旱或盐胁迫等逆境条件时, 植物的叶绿体会受到损伤, 特别是 NaCl 会提高叶绿素酶的活性并减少合成前体谷氨酸的含量, 从而使叶绿素的分解加快以及合成减少, 导致叶绿素含量的降低^[27], 因此叶绿素含量是一种与植物抗旱、耐盐性密切相关的

重要指标^[28]。本研究发现, WT 在干旱和盐胁迫处理后 SPAD 呈显著下降趋势, 说明 WT 的叶绿素合成和积累受到影响。*SiDIR1* 转基因植株在干旱和盐胁迫处理下叶片的 SPAD 升高, 说明其叶绿素未发生分解, 其含量的升高可能是由于叶片内相对含水量的降低导致叶绿素浓度相对升高。逆境损伤会引起植物体内 ROS 的过度积累, 对植物造成氧化伤害, 植物可以通过激活体内的抗氧化酶例如 SOD、POD 等的活性来维持细胞 ROS 稳态, 帮助植物抵御不利环境的影响, 保持植物正常生长^[3,29]。通过测定抗氧化酶的活性, 可以评估植物对特定胁迫的响应和适应能力, 从而鉴定植株的抗逆性^[3,29]。此外, 植物在遭受逆境胁迫后会发生膜脂过氧化, MDA 是膜脂氧化的最终分解产物, 其含量能够反映植物在逆境条件下的损伤程度, 是评估植株抗逆性的重要指标^[30]。在本研究中, 干旱和盐胁迫处理后 *SiDIR1* 转基因植株的 POD、SOD 活性均显著升高, MDA 含量则显著降低, 与 Xu 等^[15]、Zhang 等^[31]、Xiao 等^[4] 在烟草或拟南芥等模式植物中的研究结果相似, 说明 *SiDIR1* 能够通过增强烟草植株的抗氧化酶活性来降低 ROS 物质的积累, 降低细胞的氧化损伤, 从而提高烟草植株的抗旱性和耐盐性。今后, 本研究将利用 *SiDIR1* 过表达和 CRISPR-Cas9 敲除谷子株系, 筛选调控 *SiDIR1* 基因响应逆境胁迫的转录因子, 深入研究谷子 *SiDIR1* 基因对干旱和盐胁迫的响应及其信号转导分子机制。

4 结 论

本研究从谷子中克隆了诱导抗性缺陷基因 *SiDIR1*, 该基因编码区为 312 bp, 编码 103 个氨基酸。*SiDIR1* 在烟草中过表达能够显著降低干旱和盐胁迫下烟草叶片的萎蔫指数, 提高烟草叶片的表面积和地上部鲜重, 且 *SiDIR1* 的过表达可显著提高 2 种胁迫下植株叶片的 SPAD 和 SOD、POD 活性, 降低 MDA 含量, 说明谷子 *SiDIR1* 基因能够通过保持叶绿素稳定, 激活植物的抗氧化途径, 减少细胞氧化损伤来增强烟草的抗旱耐盐能力。

参考文献 References

- [1] 李红英, 程鸿燕, 郭昱, 段明, 马芳芳. 谷子抗旱机制研究进展[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2018, 38(1): 6-10
Li H Y, Cheng H Y, Guo Y, Duan M, Ma F F. Progress in the

- mechanisms of drought tolerance in foxtail millet[J]. *Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition*, 2018, 38(1): 6-10 (in Chinese)
- [2] 孟凡花, 刘敏, 沈傲, 刘炜. 脂质转移蛋白 *SiLTP1* 基因参与谷子耐盐响应初探[J]. 作物学报, 2025, 51(1): 58-67
Meng F H, Liu M, Shen A, Liu W. Preliminary investigation of the *SiLTP1*: A lipid transfer protein gene involved in the salt tolerance of foxtail millet[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2025, 51(1): 58-67
- [3] 张斌. 大豆转录因子 GmMYC₂L 参与植物耐盐性调控[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(7): 1182-1190
Zhang B. Soybean transcription factor GmMYC₂L is involved in the regulation of plant salt tolerance [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 40(7): 1182-1190 (in Chinese)
- [4] Xiao Y X, Xiao C, He X J, Yang X, Tong Z, Wang Z Q, Sun Z H, Qiu W M. A novel non-specific lipid transfer protein gene, *CmnsLTP6.9*, enhanced osmotic and drought tolerance by regulating ROS scavenging and remodeling lipid profiles in Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume) [J/OL]. *Plants*, (2023-11-20). DOI: doi. org/10.3390/plants12223916
- [5] Zhang G Y, Liu X, Quan Z W, Cheng S F, Xu X, Pan S K, Xie M, Zeng P, Yue Z, Wang W L, Tao Y, Bian C, Han C L, Xia Q J, Peng X H, Cao R, Yang X H, Zhan D L, Hu J C, Zhang Y X, Li H N, Li H, Li N, Wang J Y, Wang C C, Wang R Y, Guo T, Cai Y J, Liu C Z, Xiang H T, Shi Q X, Huang P, Chen Q C, Li Y R, Wang J, Zhao Z H, Wang J. Genome sequence of foxtail millet (*Setaria italica*) provides insights into grass evolution and biofuel potential [J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(6): 549-554
- [6] 李顺国, 刘斐, 刘猛, 程汝宏, 夏恩君, 刁现民. 中国谷子产业和种业发展现状与未来展望[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 459-470
Li S G, Liu F, Liu M, Cheng R H, Xia E J, Diao X M. Current status and future prospective of foxtail millet production and seed industry in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(3): 459-470 (in Chinese)
- [7] Li C, Yue J, Wu X W, Xu C, Yu J J. An ABA-responsive DRE-binding protein gene from *Setaria italica*, *SiARDP*, the target gene of SiAREB, plays a critical role under drought stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(18): 5415-5427
- [8] Pan Y L, Li J R, Jiao L C, Li C, Zhu D Y, Yu J J. A non-specific *Setaria italica* lipid transfer protein gene plays a critical role under abiotic stress[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2016-11-24). DOI: doi. org/10.3389/fpls.2016.01752
- [9] Li F, Fan K, Guo X H, Liu J X, Zhang K, Lu P. Genome-wide identification, molecular evolution and expression analysis of the non-specific lipid transfer protein (nsLTP) family in *Setaria italica* [J/OL]. *BMC Plant Biology*, (2022-11-28). DOI: doi. org/10.1186/s12870-022-03921-1
- [10] Li J R, Dong Y, Li C, Pan Y L, Yu J J. *SiASR4*, the target gene of SiARDP from *Setaria italica*, improves abiotic stress adaption in plants[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2017-01-12). DOI: doi. org/10.3389/fpls.2016.02053
- [11] Luo W W, Tang Y X, Li S L, Zhang L L, Liu Y W, Zhang R L, Diao X M, Yu J J. The m6 A reader SiYTH1 enhances drought tolerance by affecting the messenger RNA stability of genes related to stomatal closure and reactive oxygen species scavenging in *Setaria italica* [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(12): 2569-2586
- [12] Yi F, Huo M Y, Li J R, Yu J J. Time-series transcriptomics reveals a drought-responsive temporal network and crosstalk between drought stress and the circadian clock in foxtail millet [J]. *The Plant Journal*, 2022, 110(4): 1213-1228
- [13] Li F, Fan K, Ma F L, Yue E K, Bibi N, Wang M, Shen H, Hasan M M, Wang X. Genomic identification and comparative expansion analysis of the *non-specific lipid transfer protein* gene family in *Gossypium* [J/OL]. *Scientific Reports*, (2016-12-15). DOI:10.1038/srep38948
- [14] Cameron K D, Teece M A, Smart L B. Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(1): 176-183
- [15] Xu Y, Zheng X X, Song Y Z, Zhu L F, Yu Z P, Gan L M, Zhou S M, Liu H M, Wen F J, Zhu C X. NtLTP4, a lipid transfer protein that enhances salt and drought stresses tolerance in *Nicotiana tabacum* [J/OL]. *Scientific Reports*, (2018-06-11). DOI:10.1038/s41598-018-27274-8
- [16] Chen Y, Ma J J, Zhang X, Yang Y T, Zhou D G, Yu Q, Que Y X, Xu L P, Guo J L. 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 Technology*, 2017, 19(1): 17-25
- [17] Guo C K, Ge X C, Ma H. The rice *OsDIL* gene plays a role in drought tolerance at vegetative and reproductive stages [J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 82(3): 239-253
- [18] Yang Y X, Li P, Liu C, Wang P, Cao P J, Ye X F, Li Q C. Systematic analysis of the non-specific lipid transfer protein gene family in *Nicotiana tabacum* reveal its potential roles in stress responses [J]. *Plant Physiology Biochemistry*, 2022, 172: 33-47
- [19] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程[M]. (第2版). 北京: 科学出版社, 2014
Wang G L, Fang H J. *Plant Genetic Engineering* [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2014 (in Chinese)
- [20] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCt} method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408
- [21] 刘凤娟, 郭李维, 高丽朴, 王清. 温度和湿度对芹菜流通过程中品质的影响[J]. 农产品加工·学刊, 2011(3): 14-19
Liu F J, Guo L W, Gao L P, Wang Q. Effect of temperature and humidity on quality of celery in circulation process [J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2011(3): 14-19 (in Chinese)
- [22] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006
Gao J F. *Experimental Guidance for Plant Physiology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese)
- [23] Champigny M J, Isaacs M, Carella P, Faubert J, Fobert P R, Cameron R K. Long distance movement of DIR1 and investigation of the role of DIR1-like during systemic acquired resistance in *Arabidopsis* [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2013-07-04). DOI: doi. org/10.3389/fpls.2013.00230
- [24] Carella P, Kempthorne C J, Wilson D C, Isaacs M, Cameron R K. Exploring the role of DIR1, DIR1-like and other lipid transfer proteins during systemic immunity in *Arabidopsis* [J]. *Physiological and molecular plant pathology*, 2017, 97: 49-57
- [25] Isaacs M, Carella P, Faubert J, Champigny M J, Rose J K C, Cameron R K. Orthology analysis and *in vivo* complementation studies to elucidate the role of DIR1 during systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana* and *Cucumis sativus* [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2016-05-03). DOI:doi. org/10.3389/fpls.2016.00566
- [26] 师焕婷, 杨龙飞, 唐华苹, 王鹏飞, 康国章, 韩巧霞. 小麦苗期外施脯氨酸增强抗旱性的生理机制研究[J/OL]. 中国农业科技导报, (2024-11-12).

DOI:doi.org/10.13304/j.nykjdb.2024.0378

Shi H T, Yang L F, Tang H P, Wang P F, Kang G Z, Han Q X. Study on physiological mechanism of drought resistance enhanced by proline application outside seedling stage of wheat[J/OL]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, (2024-11-12). DOI:doi.org/10.13304/j.nykjdb.2024.0378

- [27] 孙聪, 郭金丽. 盐胁迫下欧李叶片叶绿素代谢与超微弱发光的关系[J]. *果树学报*, 2023, 40(7): 1411-1420

Sun C, Guo J L. The relationship between chlorophyll metabolism and ultraweak luminescence of leaves under salt stress in *Cerasus humilis*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(7): 1411-1420 (in Chinese)

- [28] 高守舆, 刘文静, 李钰莹, 向清源, 许佳俊, 舒蕾淇, 李肇中. 苗期白羊草对盐胁迫的生理生化响应及其耐盐阈值的界定[J]. *草业学报*, 2025, 34(3): 164-174

Gao S Y, Liu W J, Li Y Y, Xiang Q Y, Xu J J, Shu L Q, Li Z Z. Physiological and biochemical responses of *Bothriochloa ischaemum* seedlings to salt stress at seedling stage and definition of salt tolerance threshold[J].

Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(3): 164-174 (in Chinese)

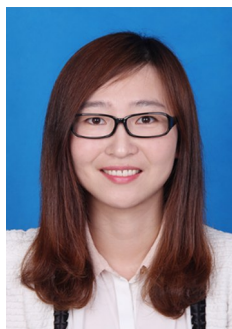
- [29] Wang W, Zhang X P, Deng F N, Yuan R, Shen F F. Genome-wide characterization and expression analyses of *superoxide dismutase (SOD)* genes in *Gossypium hirsutum* [J/OL]. *BMC Genomics*, (2017-05-12). DOI:10.1186/s12864-017-3768-5

- [30] 史志坤, 张怡雪, 宋子燕, 张开明, 李永华, 李菲. 菊花 *CmMYB15-like* 基因抗旱性功能鉴定[J]. *植物遗传资源学报*, 2025, 26(2): 369-379

Shi Z K, Zhang Y X, Song Z Y, Zhang K M, Li Y H, Li F. Drought resistance function identification of *Chrysanthemum CmMYB15-like* gene[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2025, 26(2): 369-379 (in Chinese)

- [31] Zhang P G, Hou Z H, Chen J, Zhou Y B, Chen M, Fang Z W, Ma Y Z, Ma D F, Xu Z S. The non-specific lipid transfer protein GmL tpI3 is involved in drought and salt tolerance in soybean[J/OL]. *Environmental and Experimental Botany*, (2022-02-22). DOI: doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104823

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 李凤, 博士, 山西大同大学副教授, 主要从事植物逆境分子生物学与分子育种研究。主持山西省基础研究计划面上项目(202303021221167)和青年项目(201801D221239)各1项、山西省高等学校科技创新项目(2021L379)1项、山西省高校教学改革创新立项项目1项(J20231025), 参与国家及省部级各类科研项目7项; 以第一作者和通讯作者身份发表学术论文10篇, 其中SCI论文6篇, 中文核心2篇。