

转*Ht1-FFT*基因油菜的获得及其耐旱性分析

宋楚媛^{1,2}, 梁玲娇^{1,2}, 刘卓彤^{1,2}, 刘春林^{1,2}, 阮颖^{1,2*}

¹作物表观遗传调控与发育湖南省重点实验室, 湖南农业大学, 湖南 长沙

²岳麓山实验室, 湖南 长沙

收稿日期: 2025年10月5日; 录用日期: 2025年11月3日; 发布日期: 2025年11月12日

摘 要

随着油菜种植区域向北大面积扩展, 苗期旱害成为了油菜生产上面临的重要挑战。本研究探讨了果聚糖合成酶基因*Ht1-FFT*对增强植株抗旱性的作用。通过遗传转化将基因导入油菜材料湘油15 (XY15)中, 筛选获得6个阳性植株, 经分子鉴定与表达分析证实, 该外源基因*Ht1-FFT*在转基因植株中实现了稳定整合和有效过表达。在干旱条件下, 转基因植株抗旱能力显著提高, 其体内积累更高的果聚糖, 果聚糖积累量与耐旱性之间均呈正相关; 同时脯氨酸含量、叶片相对含水量、相对电导率及丙二醛等膜稳定性生理胁迫指标也得到改善, 这些说明*Ht1-FFT*的表达有效增强了转基因油菜的抗旱能力, 这为油菜耐旱育种提供了新的方法与新的种质资源。

关键词

Ht1-FFT, 果聚糖, 油菜, 耐旱

The Obtaining of Transgenic Rapeseed with *Ht1-FFT* Gene and Its Drought Tolerance Analysis

Chuyuan Song^{1,2}, Linjiao Liang^{1,2}, Zhuotong Liu^{1,2}, Chunlin Liu^{1,2}, Ying Ruan^{1,2*}

¹Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Epigenetic Regulation and Development, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan

²Yuelu Mountain Laboratory, Changsha Hunan

Received: October 5, 2025; accepted: November 3, 2025; published: November 12, 2025

Abstract

With the large-scale northward expansion of rapeseed cultivation, drought stress at the seedling

*通讯作者。

文章引用: 宋楚媛, 梁玲娇, 刘卓彤, 刘春林, 阮颖. 转 *Ht1-FFT* 基因油菜的获得及其耐旱性分析[J]. 农业科学, 2025, 15(11): 1319-1328. DOI: 10.12677/hjas.2025.1511166

stage has become a major challenge in rapeseed production. This study investigates the role of the fructan synthase gene *Ht1-FFT* in enhancing drought tolerance in plants. Through genetic transformation, the gene was introduced into the rapeseed cultivar Xiangyou 15 (XY15), and six positive transgenic plants were selected and identified. Molecular identification and expression analysis confirmed the stable integration and effective overexpression of the exogenous gene *Ht1-FFT* in the transgenic plants. Under drought conditions, the transgenic plants exhibited significantly improved drought resistance, accompanied by higher fructan accumulation. A positive correlation was observed between fructan accumulation and drought tolerance. Additionally, physiological stress indicators related to membrane stability, including proline content, leaf relative water content, relative electrical conductivity, and malondialdehyde content, were also improved. These results demonstrate that the expression of *Ht1-FFT* effectively enhances drought tolerance in transgenic rapeseed, providing a new approach and germplasm resources for drought-tolerant rapeseed breeding.

Keywords

Ht1-FFT, Fructan, *Brassica napus*, Drought Tolerance

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

油菜(*Brassica napus*)是全球重要的油料作物,其种子可用于食用油和生物柴油生产,压榨后的菜籽饼可作为优质饲料和有机肥[1][2]。在我国,油菜产业市场需求巨大,提升产量和品质是油菜育种的重点,但受气候条件限制、种植技术及品种抗逆性不足等因素影响,生产潜力尚未充分发挥,规模化推广面临显著挑战[3]。尤其是干旱胁迫严重制约油菜产量,因此利用基因工程技术选育抗旱新种质,已成为油菜生物技术育种的重要方向。

果聚糖(Fructan)是一类由蔗糖经果糖基转移酶催化合成的功能性多糖,因其结构多样,使得该类水溶性化合物能发挥多种生理功能,如增强植物的耐旱性与耐寒性[4]。另外,果聚糖降解生成的单糖可增加液泡内的溶质浓度,从而提升植物对多种逆境胁迫的耐受能力。在含果聚糖植物的分布具有明显的地域差异——仅约 15% 的被子植物及冷季型牧草以其作为主要储存碳水化合物,且这类植物更多分布于干旱和寒冷地区,在热带、多雨或水生环境中则相对稀少[5][6]。果聚糖在植物体内以蔗糖为底物,经由蔗糖:蔗糖 1-果糖基转移酶(1-SST)、果聚糖:果聚糖 1-果糖基转移酶(1-FFT)和蔗糖:果聚糖 6-果糖基转移酶(6-SFT)等关键酶催化合成,并储存于液泡中,由果聚糖外水解酶(FEH)主导降解[7]。

研究证实,自 1995 年大麦 6-SFT 基因被成功克隆以来[8],研究人员通过将不同来源的果聚糖合成关键基因导入非积累型植物,显著增强了作物的抗逆能力。在抗寒方面,果聚糖通过酶解释放果糖,降低细胞冰点,减少冰晶形成,从而保护细胞膜完整性[9]。早期,转枯草芽孢杆菌果聚糖酶合成基因(sacB)的番茄表现出良好的抗寒性状[10];转 *Lr-6-SFT* [11]、*CMM-6-SFT* [12]、*HS-6-SFT* [13] 的烟草均提高对寒冷胁迫的抵御能力,表现为可溶性蛋白和抗氧化酶活性提高。在抗旱方面,转菜蓟 1-SST/1-FFT 基因的马铃薯抗旱性增强且脯氨酸含量上升[14];转苜蓿 1-SST 的烟草[15]及转冰草 *AC1-FFT* 的黑麦草[16]也均表现出更高的果聚糖积累与抗旱能力;小麦的 *Ta6-SFT* 转入油菜在干旱胁迫下增强了转基因植株的抗旱性[17]。此外,果聚糖还参与耐盐碱[18][19]、耐缺氧[20]及耐重金属[21]等胁迫响应,通过调控抗氧化酶活性和信号通路系统性诱导植物的广谱抗性[22]。综上,果聚糖通过合成与降解的动态平衡,在植物应对干

旱、寒冷等多种非生物胁迫中发挥核心作用，为作物抗逆遗传改良提供了有效途径。

菊芋是一种强耐旱植物，主要原因是果聚糖含量高。本研究将从抗旱性强的植株菊芋“青芋 1 号”中克隆的果聚糖：果聚糖-1-果糖基转移酶基因 *Ht1-FFT* 转入综合性状优良的甘蓝型油菜 XY15 自交系材料，通过 35S 启动子的调控使 *Ht1-FFT* 在转基因油菜中过表达，对 *Ht1-FFT* 转基因油菜进行抗旱性分析，为提高油菜抗旱性和扩大其栽培进行有益探讨。

2. 材料与amp;方法

2.1. 试验材料

甘蓝型油菜材料“湘油 15”种子来自于湖南农业大学作物表观遗传调控与发育重点实验室。菊芋材料“青芋 1 号”来自青海大学农林科学院青海省蔬菜遗传与生理重点实验室。根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) GV3101，大肠杆菌(*Escherichia coli*)感受态 DH5α 菌株，植物表达载体 pFGC5941，由作物表观遗传与发育重点实验室保存。

2.2. 试验方法

2.2.1. 引物设计

从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上查询菊芋 1-FFT 基因的 CDS 序列，自起始密码子 ATG 开始到终止密码子 TAA 全长 1848bp，根据 CDS 序列和 pFGC5941 载体上常用酶切位点分析，选取 *Nco*I 和 *Bam*HI 作为双酶切位点，利用诺唯赞在线网站(<https://crm.vazyme.com/cetool/singlefragment.html>)单片段克隆模式设计带有载体同源序列的扩增引物，使用 Primer Premier5.0 软件设计各种 PCR 检测引物(表 1)。

Table 1. Primer sequences used in plasmids construction and RT-PCR

表 1. 载体构建和 RT-PCR 所需引物序列

引物名称 Primer names	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	目的 Aims
1-FFT-F	TTACATTTACAATTACCATGGATGCAAACCCCTGAACCCCTT	目的片段克隆 Target fragment cloningt
1-FFT-R	CTCTAGACTCACCTAGGATCCTTAAAAAGGGTATTGATGAATTGGTG	
BnaActin2-F	GTCTTCTCTGCTCTTCTCA	RT-PCR 内参
BnaActin2-R	CCATTCCAGTTCCATTGTC	RT-PCR reference
RT1-fft-F	GTATCGGGTTACGGTGCGAT	RT-PCR 引物
RT1-fft-R	TTCCTCAACGGGCCAATGAA	RT-PCR primer
35S-F	CTATCCTTCGCAAGACCCTTC	检测表达框
OE1-FFT-R	TTCCTCAACGGGCCAATGAA	Detection expression frame
PPT-F	CTGTGCCTCCAGGGACT	检测 PPT 元件
PPT-R	CGACCTCGTCCGTCTGC	To detect PPT fragments

2.2.2. pFGC5941-1-FFT 质粒构建

以菊芋叶片为材料，用总 RNA 提取试剂盒 Eastep® Super Total RNA Extraction Kit 提取 RNA，使用反转录试剂盒反转录成 cDNA。以 cDNA 为模板，使用诺唯赞的高保真 DNA 聚合酶，1-FFT-F 和 1-FFT-R 引物进行产物扩增，扩增得到 *Ht1-FFT* 基因的 CDS 序列。电泳切胶通过胶回收试剂盒回收目标片段，

将回收片段连接到 pEASY-Blunt, 通过热激法转化感受态大肠杆菌 DH5 α , 挑取单菌落进行 PCR 检测, 选取阳性克隆具有卡那霉素(Kan)抗性的单菌落摇菌 12 h, 提取质粒送公司测序。并同时用 *Nco*LI 和 *Bam*HI 酶对 pFGC5941 载体进行双酶切, 回收得到线性化目的载体。使用诺唯赞同源重组试剂将目的片段与线性化载体 50℃, 5 min 进行连接后立即置于冰上冷却, 将连接产物通过热激法转化感受态大肠杆菌 DH5 α , 挑取 PCR 检测为阳性克隆的菌落, 扩大培养, 用质粒试剂盒提取质粒一份保存一份送公司进行测序, 对比分析测序结果, 如无误得到 pFGC5941-1-FFT 质粒, 测序由长沙有康生物技术公司完成。

2.2.3. 根癌农杆菌转化

采用电击转化法, 将过表达载体 pFGC5941-1-FFT 质粒转化至根癌农杆菌 GV3101 中, 加入无抗性的 YEB 培养液复苏 2~3 h 后, 将菌株涂布于含有 50 μ g/mL 卡那霉素、50 μ g/mL 利福平和 50 μ g/mL 庆大霉素的 YEB 培养基上, 将平板放置于 28℃培养箱中培养 2~3 d 后, 挑取单个菌落进行阳性克隆的 PCR 鉴定。

2.2.4. 油菜下胚轴的遗传转化

将油菜(XY15)的种子经酒精和升汞表面消毒后, 均匀播种于发芽培养基中, 于黑暗条件下培养 6~7 d。取生长后的下胚轴, 切取约 0.8 cm 长的下胚轴外植体作为遗传转化的外植体。用携带 pFGC5941-1-FFT 质粒的农杆菌 GV3101 (OD₆₀₀ 值介于 0.3~0.5)菌液浸泡下胚轴外植体 15 min, 之后弃去菌液, 将外植体置于无菌滤纸上仔细吸干表面残留菌液。随后, 将下胚轴置于共培养培养基表面, 在 24℃下黑暗培养 40~48 h。共培养结束后, 将外植体转移至愈伤组织诱导培养基, 置于 24℃、16 h 光照/8 h 黑暗的培养室中培养 21 d 左右, 期间每一周更换一次新鲜的愈伤组织诱导培养基。待愈伤组织形成后, 将其转入分化培养基中诱导芽再生, 每两周更换一次分化培养基, 直至分化出新生叶芽。将生长至一定大小的芽切下, 转接至生根培养基中培养 15~20 d 以促进生根。之后将已生根幼苗移栽至蛭石中进行炼苗, 培养一周左右, 最终定植于土壤中继续生长。

2.2.5 抗性苗的 DNA 水平与表达检测

用 CTAB 法从 XY15 和抗性苗的叶片中分别提取 DNA。用正向引物 35S-F, 反向引物 OE1-FFT-R 进行转基因分子鉴定(表 1), 同时用 *BnaActin2*-F, *BnaActin2*-R 引物检测提取的 DNA 质量, 用 PPT-F, PPT-R 检测抗 PPT 的 *Bar* 基因。PCR 扩增体系 15 μ L: DNA 模版 1.0 μ L, 上、下游引物(10 pmol/L)各 0.2 μ L, dd H₂O 6.1 μ L, Buffer 7.5 μ L。PCR 反应程序: 95℃, 5 min; 95℃, 15 s; 58℃, 15 s; 72℃, 20 s; 28 个循环; 72℃后终延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶检测。油菜叶片材料使用试剂盒提取 RNA, 进行反转录得到 cDNA。使用半定量引物 RT1-fft-F, RT1-fft-R 检测转基因植株叶片中 *Ht1-FFT* 基因的表达水平, 同时以油菜 *BnaActin2* 作为内参基因。

2.2.6. 油菜干旱及复水处理

将转基因阳性苗从小花钵移栽到高 28 cm $\times$ 15.5 cm 的兰花盆中, 在 25℃, 16 h/8 h (光/暗)光周期的生长室中培养生长 12 d。选取与对照组(XY15)长势相对一致的转基因 *Ht1-FFT* 过表达油菜 3 株 OEF-1, OEF-4, OEF-6 进行干旱胁迫处理。控水开始前每个花盆均匀浇水 200 mL 后停止浇水, 7 d 后复水, 每天每个花盆浇水 200 mL。处理组分别在 0 d, 干旱 7 d 及复水 2 d 取样, 进行后续测定。

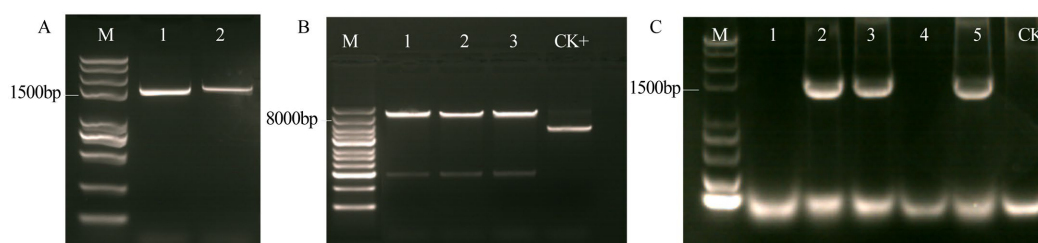
2.2.7. 转基因油菜的抗旱生理指标检测

油菜样品取样后立即采用烘干法[23]测定叶片相对含水量, 采用浸泡法[23]测定叶片相对电导率, 使用 Megazyme 果聚糖试剂盒测定油菜果聚糖含量, 并使用索莱宝(Solarbio)脯氨酸含量检测试剂盒、丙二醛含量检测试剂盒测定油菜脯氨酸和丙二醛含量, 具体操作流程参考产品说明书。

3. 结果与分析

3.1. 植物表达载体 pFGC5941-Ht1-FFT 的构建

以菊芋 cDNA 为模板, 采用引物 1-FFT-F 和引物 1-FFT-R 扩增得到带 pFGC5941 酶切位点同源臂的 *Ht1-FFT* CDS 片段。结果表明, 扩增产物大小与预期一致, 约为 1848 bp (图 1(A))。将扩增得到的目的片段回收产物与酶切后的 pFGC5941 线性化片段(图 1(B))相连接, 并转化大肠杆菌。利用设计好的载体特异性引物 35S-F 和 1-FFT-R 对转化的单菌落进行菌落 PCR 验证(图 1(C)), 结果显示阳性菌落的扩增片段大小与预期一致。经过测序分析, 确认插入片段的序列及方向均正确, 通过同源重组克隆连接的方法构建了 *Ht1-FFT* 过表达载体。

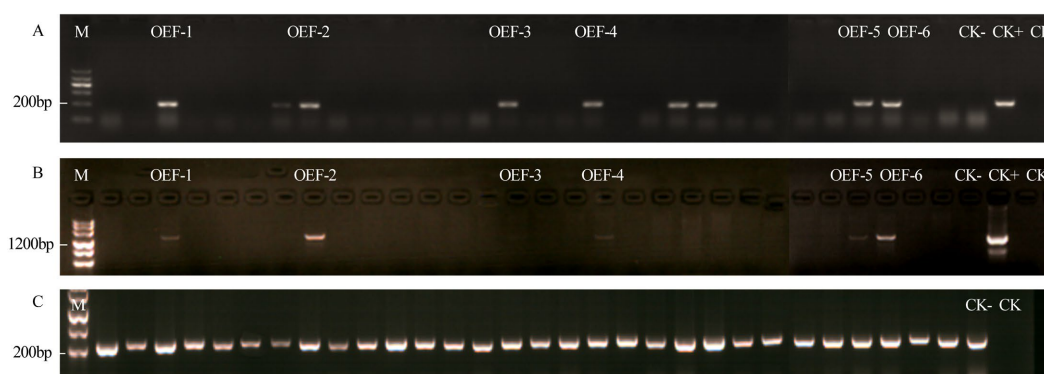


Note: (A) Amplification of the *Ht1-FFT* fragment, M: DS5000 DNA Marker, Lanes 1~2: *Ht1-FFT* fragment; (B) Double digestion of pFGC5941, M: 1 kb DNA Ladder Marker, Lanes 1~3: Linearized pFGC5941 fragment, CK+: Positive control plasmid; (C) Verification of positive colonies, M: DS5000 DNA Marker, Lanes 2, 3, 5: Positive colonies, CK: Blank control (ddH₂O). 注: (A) *Ht1-FFT* 片段扩增, M: DS5000 DNA Marker, 1~2: *Ht1-FFT* 片段; (B) pFGC5941 双酶切, M: 1 kb DNA Ladder Marker, 1~3: pFGC5941 线性化片段, CK+: 阳性对照质粒; (C) 阳性菌落验证, M: DS5000 DNA Marker, 2, 3, 5: 阳性菌落, CK: 空白对照(蒸馏水)。

Figure 1. Electrophoresis results of the pFGC5941-Ht1-FFT vector construction

图 1. pFGC5941-Ht1-FFT 载体构建电泳图

3.2. T₀ 转基因植株的 PCR 检测与 *Ht1-FFT* 表达检测



Note: (A) Detection of *Bar* gene. CK-: negative control (XY15), CK+: as positive control (successfully constructed vector), CK: blank control (ddH₂O), M: DL2000 DNA Marker; (B) Detection of the *Ht1-FFT* expression cassette. CK-: negative control (XY15), CK+: positive control (successfully constructed vector), CK: blank control (ddH₂O), M: DL2000 DNA Marker; (C) DNA electrophoresis of BnaActin2 in resistant seedlings. CK-: negative control (XY15), CK+: positive control (successfully constructed vector), CK: blank control (ddH₂O), M: DL2000 DNA Marker. 注: (A) *Bar* 基因检测, CK-: 阴性对照 (XY15), CK+: 阳性对照(构建成功的载体), CK: 空白对照(蒸馏水), M: DL2000 DNA Marker; (B) *Ht1-FFT* 表达框检测, CK-: 阴性对照, CK+: 阳性对照(XY15), CK: 空白对照(蒸馏水), M: DL2000 DNA Marker; (C) 抗性苗 DNA BnaActin2 电泳图, CK-: 阴性对照(XY15), CK: 空白对照(蒸馏水), M: DL2000 DNA Marker。

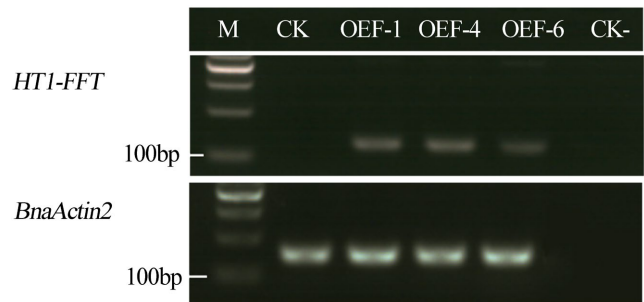
Figure 2. PCR detection of transgenic plant resistant seedlings

图 2. 转基因植株抗性苗的 PCR 检测

借助农杆菌介导的甘蓝型油菜下胚轴遗传转化, 480 个外植体, 得到 34 株抗性油菜。进一步对 34 株抗性苗进行 PCR 分子检测(图 2), 确认获得了 6 株转基因植株, 阳性率为 17.6%。为便于后续研究中表述, 将这 6 个独立转化株系统一命名为 OEF-1, OEF-2, OEF-3, OEF-4, OEF-5, OEF-6。

3.3. 转基因植株中 *Ht1-FFT* 转录水平的表达分析

为确认转基因的成功导入, 在干旱处理前对选定株系进行了半定量 RT-PCR 分析。结果显示(图 3), *Ht1-FFT* 基因在过表达株系 OEF-1、OEF-4 和 OEF-6 中均有转录表达, 但在非转基因对照 XY15 中无表达。

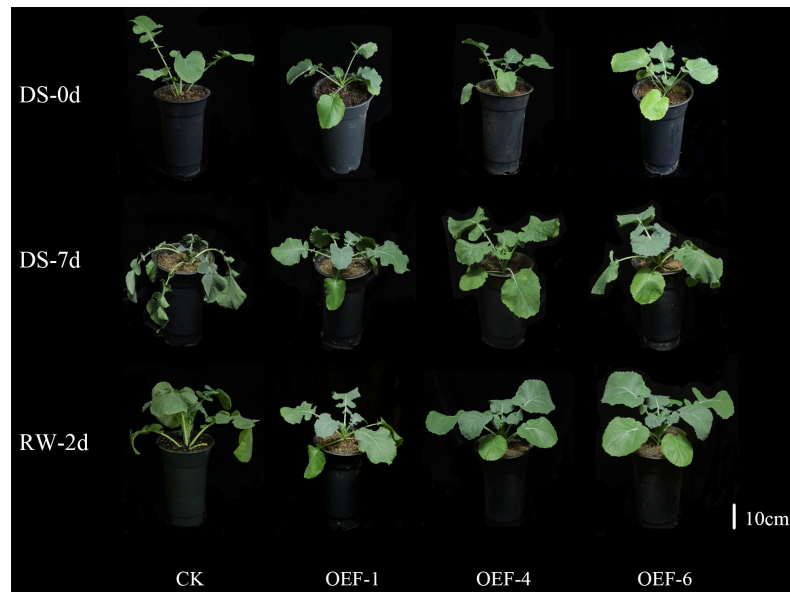


Note: M: LD Marker 2 DNA Marker; CK: XY15 control; CK-: Blank control (ddH₂O). 注: M: LD Marker 2 DNA Marker, CK: 对照组(XY15), CK-: 空白对照(蒸馏水)。

Figure 3. Semi-quantitative RT-PCR analysis of transgenic *Brassica napus*
图 3. 转基因油菜半定量 RT-PCR 分析

3.4. 转基因植株的抗旱性分析

3.4.1. 干旱胁迫及复水转基因植株形态变化分析



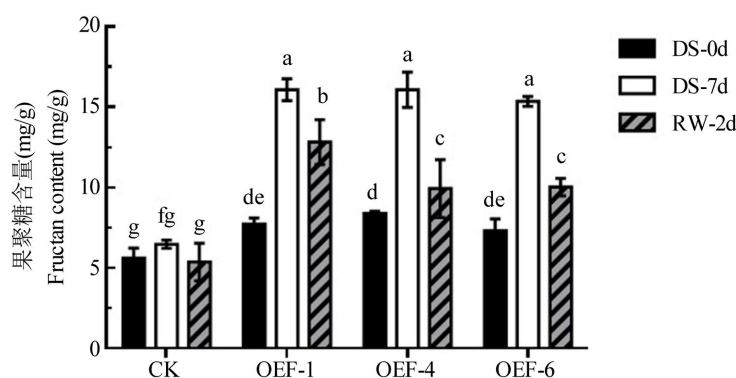
Note: DS-0 d: 0 days of drought stress; DS-7 d: 7 days of drought stress; RW-2 d: 2 days of re-watering; CK: Control group (XY15); OEF-1, OEF-4, OEF-6: Transgenic rapeseed lines. 注: DS-0 d: 干旱胁迫 0 天; DS-7 d: 干旱胁迫 7 天; RW-2 d: 复水 2 天; CK: 对照组(XY15); OEF-1, OEF-4, OEF-6: 转基因油菜株系。

Figure 4. Morphological changes in transgenic rapeseed under drought stress and rewatering
图 4. 干旱胁迫及复水转基因油菜的形态变化

结合干旱胁迫 0 d、7 d 及复水 2 d 后转基因植株的形态变化(图 4)可以看出,在正常水分条件下(DS-0 d),各株系叶片无明显差异。干旱处理 7 d 后,对照组(XY15)表现出更为明显的叶片萎蔫和卷曲现象,而转基因株系(OEF-1、OEF-4、OEF-6)的萎蔫程度明显低于 XY15。复水 2 d 后,所有植株叶片均恢复直立状态,其中转基因株系不仅恢复较快,且叶片舒展程度更好,叶色恢复更为明显,表明其具有较强的水分恢复能力。综上推测, *Ht1-FFT* 基因的过表达有助于提高甘蓝型油菜对干旱胁迫的耐受能力,并在缓解干旱伤害及促进复水恢复中发挥积极作用。

3.4.2. 转基因植株中果聚糖含量变化

干旱胁迫处理前,转基因油菜中果聚糖含量显著高于未转基因对照材料(图 5),其中转果聚糖合成酶基因 *Ht1-FFT* 的植株在正常条件下已积累一定量的果聚糖。干旱胁迫 7 d 后,转基因株系果聚糖含量较 0 d 显著上升($p < 0.05$),增幅分别为 OEF-1: 108.01%、OEF-4: 91.86%、OEF-6: 109.70%,含量达 15.36~16.09 mg/g; 未转基因材料虽也上升 21.29%,但与 0 d 无显著差异。复水 2 d 后,转基因植株果聚糖含量显著下降,但仍显著高于对照; 未转基因材料果聚糖含量变化不显著。



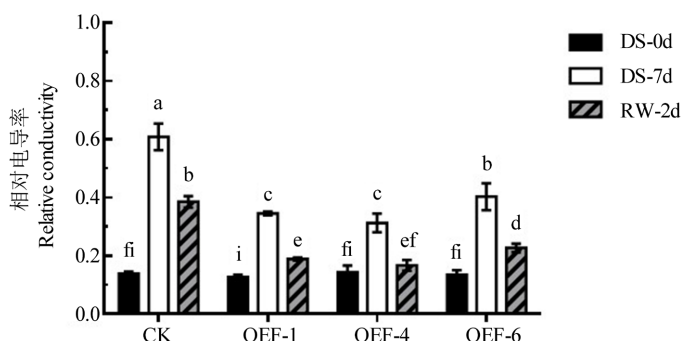
Data are presented as mean $\pm$ SD ($n = 3$); Lowercase letters indicate significant differences (LSD, $P < 0.05$). 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示($n = 3$); 小写字母表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。

Figure 5. The effect of drought stress and rewatering on fructan content in *Brassica napus*

图 5. 干旱胁迫及复水对油菜果聚糖含量的影响

3.4.3. 油菜叶片生理生化指标的影响

1) 转基因植株相对电导率和丙二醛含量



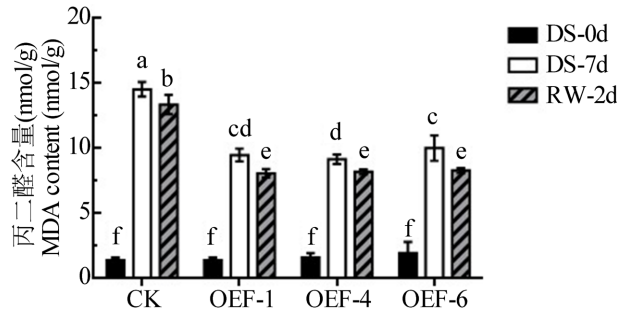
Data are presented as mean $\pm$ SD ($n = 3$); Lowercase letters indicate significant differences (LSD, $P < 0.05$). 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示($n = 3$); 小写字母表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。

Figure 6. Effects of drought stress and rewatering on relative electrolyte leakage in *Brassica napus*

图 6. 干旱胁迫及复水对油菜相对电导率的影响

干旱胁迫 7 d 时各转基因植株的相对电导率低于对照, 且具显著差异(图 6), 说明转基因植株在干旱胁迫下的细胞膜稳定性较好, 膜结构没有受到严重的破坏。复水 2 d 后, 各植株包括未转基因对照的相对电导率大幅降低, 各转基因植株的相对电导率仍低于对照。

干旱胁迫 7 d 时, 各转基因植株的丙二醛含量均显著低于对照(图 7), 说明转基因株系的 MDA 积累均普遍低于对照, 细胞膜损伤程度较低。复水 2 d 后, 与干旱胁迫 7 d 时相比各植株包括未转基因对照的 MDA 含量降低, 但与干旱 0 d 相比, 复水 2 d 时所有材料的 MDA 含量仍显著高于初始水平, 对照组 MDA 含量为初始值的 9.5 倍, 转基因株系则为 4.2 至 5.7 倍, 显示出转基因株系在短期复水后对 MDA 清除及叶片恢复能力优于对照组, 但未完全恢复至初始状态, 这可能与 MDA 对逆境胁迫响应慢有关。



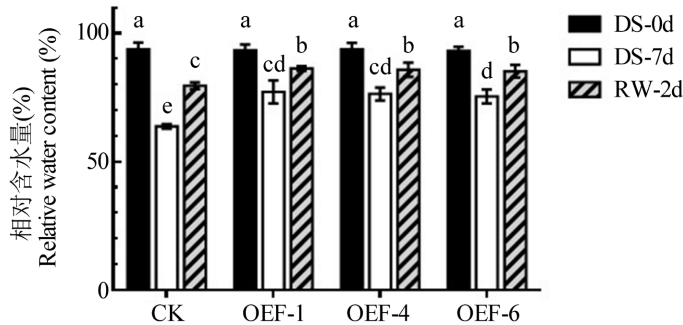
Data are presented as mean $\pm$ SD ($n = 3$); Lowercase letters indicate significant differences (LSD, $P < 0.05$). 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示($n = 3$); 小写字母表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。

Figure 7. Effects of drought stress and rewatering on MDA Content in *Brassica napus*

图 7. 干旱胁迫及复水对油菜丙二醛含量的影响

2) 转基因植株相对含水量和脯氨酸含量

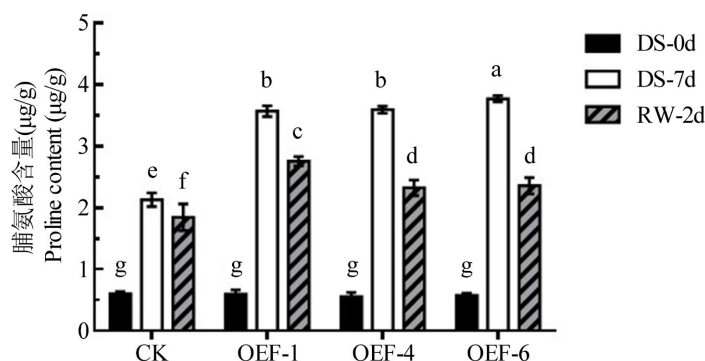
干旱胁迫 7 d 时各转基因植株的相对含水量和脯氨酸含量高于对照组, 具有显著差异(图 8; 图 9), 说明这些转基因植株在干旱胁迫下的保水效果较好, 脯氨酸积累得越多。脯氨酸的大量积累可以提高植株渗透调节能力, 越有利于维持较高的相对含水量, 同时, 相对含水量较高的植株, 其生理代谢活动受干旱影响较小, 也有更强的能力来合成脯氨酸保护植株的细胞结构免受氧化破坏。复水 2 d 后, 与干旱胁迫 7 d 时相比各植株包括未转基因对照的相对含水量大幅升高, 各转基因植株的相对含水量仍高于对照, 各植株脯氨酸含量有所下降, 未转基因的对照组的 Pro 含量由 2.13 $\mu\text{g/g}$ 降至 1.85 $\mu\text{g/g}$, 降幅约 13.29%, 转基因组株系的下降幅度为 22.79%~37.41%, 说明复水后干旱得到缓解脯氨酸部分降解。



Data are presented as mean $\pm$ SD ($n = 3$); Lowercase letters indicate significant differences (LSD, $P < 0.05$). 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示($n = 3$); 小写字母表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。

Figure 8. Effects of drought stress and rewatering on relative water content in *Brassica napus*

图 8. 干旱胁迫及复水对油菜相对含水量的影响



Data are presented as mean $\pm$ SD ($n = 3$); Lowercase letters indicate significant differences (LSD, $P < 0.05$). 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示($n = 3$); 小写字母表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。

Figure 9. Effects of Drought Stress and Rewatering on Proline Content in *Brassica napus*

图 9. 干旱胁迫及复水对油菜脯氨酸含量的影响

4. 讨论

本研究结果表明, 过量表达 *Ht1-FFT* 基因可显著提高油菜果聚糖含量, 并有效增强其抗旱性。具体而言, 果聚糖含量与相对电导率和丙二醛(MDA)含量呈负相关, 表明果聚糖有助于维持细胞膜完整性, 减轻干旱引起的膜损伤。在干旱胁迫下, 转基因植株中较高的果聚糖积累与较低的膜透性及氧化损伤密切相关, 该结果与甜菜中的研究一致, 提示果聚糖可能通过清除活性氧或直接稳定膜结构来缓解膜脂过氧化[24][25]。值得注意的是, 果聚糖含量与脯氨酸含量呈显著正相关($r = 0.844, p < 0.01$), 表明两者在响应干旱胁迫中可能存在协同作用, 且与相对含水量也呈正向变化趋势。这表明果聚糖可能作为渗透调节物质, 与脯氨酸协同作用以维持细胞水分平衡[26][27]。此外, 果聚糖在油菜中的累积也可能通过激活脯氨酸合成通路, 促进其在干旱条件下的积累, 从而增强转基因植株在干旱胁迫下的组织水合状态与生理活性。尽管 35S 组成型启动子可实现果聚糖的持续积累并赋予广谱抗逆性, 但其非特异性表达可能伴随植株生长代价。有研究表明, 与 35S 启动子相比, rd29A 等诱导型启动子能更有效提升植物的抗旱性[28], 体现出精准时空调控的优势。未来研究若能采用类似于 rd29A 胁迫诱导型启动子驱动 *Ht1-FFT*, 将有望实现果聚糖的“按需合成”, 即在干旱胁迫时启动其合成途径, 从而在维持抗逆能力的同时, 优化植物在生长与防御之间的资源分配, 是更具应用潜力的改良策略。

综上所述, 本研究不仅从表型层面验证了 *Ht1-FFT* 基因在提高油菜抗旱性中的作用, 还从机制层面将果聚糖积累与细胞膜保护及渗透调节两大核心过程联系起来, 为通过基因工程定向改良作物抗逆性提供了理论依据与技术路径。

基金项目

国家自然科学基金委联合重点项目(U20A2028), 校级科学研究项目(25KJ004)。

参考文献

- [1] 王辽卫, 孙恒, 丁艳明, 等. 全球生物柴油产业发展现状及其对我国植物油安全的影响[J]. 中国油脂, 2024, 49(5): 8-13.
- [2] 陈云梅, 赵欢, 肖厚军, 等. 化肥氮减量配施生物炭和菜籽饼对玉米-白菜养分吸收、氮素利用及产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2022(6): 115-122.
- [3] 何微, 李俊, 王晓梅, 等. 全球油菜产业现状与我国油菜产业问题、对策[J]. 中国油脂, 2022, 47(2): 1-7.
- [4] 许欢欢, 康健, 梁明祥. 植物果聚糖的代谢途径及其在植物抗逆中的功能研究进展[J]. 植物学报, 2014, 49(2):

- 209-220.
- [5] 范荣, 胡涛. 果糖基转移酶表达相关影响因素的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2008(S1): 93-95.
- [6] Sharma, S. and Tripathi, P. (2019) Gut Microbiome and Type 2 Diabetes: Where We Are and Where to Go? *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **63**, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.10.003>
- [7] 李慧娟, 孙建全, 李俊峰. 高等植物果聚糖合成途径、相关基因和功能的研究进展[J]. 中国农学通报, 2007(9): 186-191.
- [8] Sprenger, N., Bortlik, K., Brandt, A., Boller, T. and Wiemken, A. (1995) Purification, Cloning, and Functional Expression of Sucrose: Fructan 6-Fructosyltransferase, a Key Enzyme of Fructan Synthesis in Barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**, 11652-11656. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.25.11652>
- [9] 孙永梅, 刘丽杰, 冯明芳, 等. 植物在低温胁迫下的糖代谢研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2015, 46(7): 95-102, 108.
- [10] 王关林, 李铁松, 方宏筠, 等. 番茄转果聚糖合成酶基因获得抗寒植株[J]. 中国农业科学, 2004, 37(8): 1193-1197.
- [11] 贺晓岚, 王建伟, 李文旭, 等. 大赖草 6-SFT 基因的克隆及其转基因烟草抗旱和抗寒性分析[J]. 作物学报, 2016, 42(3): 389-398.
- [12] 陈真真, 周国勤, 陈金平, 等. 低温处理下转果聚糖合成酶基因对烟草抗逆相关生理指标的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 58-61.
- [13] 陈真真, 周国勤, 陈新宏, 等. 转华山新麦草果聚糖合成酶基因对烟草相关生理指标的影响[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(9): 95-98.
- [14] Hellwege, E.M., Gritscher, D., Willmitzer, L. and Heyer, A.G. (1997) Transgenic Potato Tubers Accumulate High Levels of 1-Kestose and Nystose: Functional Identification of a Sucrose Sucrose 1-Fructosyltransferase of Artichoke (*Cynara scolymus*) Blossom Discs. *The Plant Journal*, **12**, 1057-1065. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1997.12051057.x>
- [15] 李慧娟, 尹海英, 张学成, 等. 转蔗糖: 蔗糖-1-果糖基转移酶基因提高烟草的耐旱性[J]. 山东大学学报(理学版), 2007(1): 89-94.
- [16] 张小芸, 何近刚, 孙学辉, 等. 转果聚糖合成关键酶基因多年生黑麦草的获得及抗旱性的提高[J]. 草业学报, 2011, 20(1): 111-118.
- [17] 李淑洁, 张正英. Ta6-SFT 基因对油菜的转化及抗旱性分析[J]. 草业学报, 2014, 23(5): 161-167.
- [18] 李辉, 康健, 赵耕毛, 等. 盐胁迫对菊芋干物质和糖分积累分配的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 160-170.
- [19] Sharbatkhari, M., Shobbar, Z., Galeshi, S. and Nakhoda, B. (2016) Wheat Stem Reserves and Salinity Tolerance: Molecular Dissection of Fructan Biosynthesis and Remobilization to Grains. *Planta*, **244**, 191-202. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2497-3>
- [20] Albrecht, G., Kammerer, S., Praznik, W. and Wiedenroth, E.M. (1993) Fructan Content of Wheat Seedlings (*Triticum aestivum* L.) under Hypoxia and Following Re-Aeration. *New Phytologist*, **123**, 471-476. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03758.x>
- [21] Frossard, R., Stadelmann, F.X. and Niederhauser, J. (1989) Effects of Different Heavy Metals on Fructan, Sugar and Starch Content of Ryegrass. *Journal of Plant Physiology*, **134**, 180-185. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(89\)80052-5](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(89)80052-5)
- [22] 水晨. 利云型果聚糖介导的植物抗病机制研究及其代谢相关基因的克隆[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2022.
- [23] 樊金娟, 阮燕晔. 植物生理学实验教程[M]. 第2版. 北京: 中国农业大学出版社, 2015.
- [24] 梁文洁. 蔗糖-果糖基转移酶 SST 基因转入甜菜产生果聚糖的研究[D]: [硕士学位论文]. 石河子: 石河子大学, 2017.
- [25] Zhou, Q., Sun, H., Zhang, G., Wang, J. and Tian, J. (2023) Gene Co-Expression Analysis Reveals the Transcriptome Changes and Hub Genes of Fructan Metabolism in Garlic under Drought Stress. *Plants*, **12**, Article 3357. <https://doi.org/10.3390/plants12193357>
- [26] van den Ende, W. (2013) Multifunctional Fructans and Raffinose Family Oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, **4**, Article 247. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00247>
- [27] 张林, 陈翔, 吴宇, 等. 脯氨酸在植物抗逆中的研究进展[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2023, 51(1): 42-51.
- [28] 李淑洁, 李静雯, 张正英. Ta6-SFT 在烟草中的逆境诱导型表达及抗旱性[J]. 作物学报, 2014, 40(6): 994-1001.