

# 番茄糖基转移酶基因 *SIUDP* 提高拟南芥镉胁迫耐性的作用研究

张美玉, 马玉芳, 罗宇芳, 耿鑫鑫, 郭静, 张欣欣, 陈超, 金晓霞

(哈尔滨师范大学生命科学与技术学院植物生物学黑龙江省高校重点实验室/黑龙江省道地野生药材种质资源研究中心,

哈尔滨 150025)

**摘要:** 镉 (Cd) 胁迫严重限制了植物的生长, 因此筛选并鉴定与植物镉胁迫耐受性相关的基因显得尤为重要。前期, 我们通过转录组数据筛选获得番茄 UDP-糖基转移酶基因 (*SIUDP*), 其响应植株镉胁迫的反应。在本研究中, 我们首先克隆 *SIUDP* 基因的编码区全长序列, 基因表达分析表明, 其在叶片和果实中表达量较高, 并且受到镉胁迫诱导上调表达。酵母遗传转化试验表明, 含有 INVScl-pYES2-*SIUDP* 质粒的酵母菌株在不同浓度镉胁迫下表现出一定的耐受性。进一步构建 *SIUDP* 过表达载体转化模式植物拟南芥, 获得过表达拟南芥株系。当 *SIUDP* 过表达拟南芥植株暴露于镉胁迫 (40、60、80  $\mu\text{M}$ ) 时, 其存活率 >50%, 而野生拟南芥的存活率 <10%。60  $\mu\text{M}$  CdCl<sub>2</sub> 时, 与野生型植株相比, *SIUDP* 过表达拟南芥植株的丙二醛含量下降约 1.4 倍, 可溶性糖含量、超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性增加约 1.8、2、1.25 倍。这些结果表明, *SIUDP* 的过表达导致抗氧化酶系统的变化, 提高植株清除活性氧的能力, 降低膜脂过氧化的程度, 赋予植物更好的耐镉性。此外, 金属离子转运相关基因 (*ZIP1*、*IRT1*、*COPT2* 和 *CSD1*) 在过表达植株中的表达量约为野生型植株的 3.1、1.5、1.6、2.1 倍。上述结果表明, 番茄 *SIUDP* 基因可能通过活性氧清除系统和金属离子转运途径来提高植株对镉胁迫的耐受性。本研究为糖基转移酶基因在植物耐受镉胁迫中的作用研究提供一定的理论依据, 并为园艺植物抗性分子育种提供了候选基因。

**关键词:** 番茄; *SIUDP* 基因; 镉; 活性氧清除系统; 金属转运基因

## Study on the Effect of Tomato Glycosyltransferase Gene *SIUDP* in Improving Cadmium Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana* L.

ZHANG Meiyu, MA Yufang, LUO Yufang, GENG Xinxin, GUO Jing, ZHANG Xinxin, CHEN Chao, JIN Xiaoxia

(Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Plant Biology, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University Germplasm Resources/ Research

Center of Authentic Wild Medicinal Materials in Heilongjiang Province, Harbin 150025)

**Abstract:** Cadmium (Cd) stress severely limits plant growth. It is particularly important to identify genes improving the cadmium stress tolerance in plants. Based on the transcriptome datasets, we identified the tomato UDP-glycosyltransferase gene (*SIUDP*), which

收稿日期: 2023-10-24 修回日期: 2023-12-27 网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为植物生理与分子生物学, Email: 769905367@qq.com

通信作者: 金晓霞, 研究方向为植物生理与分子生物学, Email: xiaoxia6195@126.com

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (LH2021C052)

Foundation project: Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (LH2021C052)

---

responded to cadmium stress. In this study, we cloned the full-length coding region of *SIUDP* gene. *SIUDP* was highly expressed in leaves and fruits, and its expression was up-regulated by cadmium stress treatment. Transgenic yeast strains containing the transformed construct INVSc1-pYES2-*SIUDP* showed certain tolerance under different concentrations of cadmium stress. We conducted the stable transformation of *SIUDP* in *Arabidopsis Thaliana* and obtained the overexpressing *Arabidopsis* lines. Under cadmium stress (40, 60, 80  $\mu\text{M}$ ) treatment conditions, the transgenic plants showed the survival rate over 50%, while the survival rate of wild type was less than 10%. Under 60  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  stress treatment conditions, the malondialdehyde content in *SIUDP* transgenic plants decreased by ca. 1.4 times if compared with wild-type plants, and the soluble sugar content, while superoxide dismutase activity and peroxidase activity increased by about 1.8, 2, 1.25 times. These results indicated that overexpressing *SIUDP* modified the antioxidant enzyme system, increased the ability of plant to remove reactive oxygen species, reduced the degree of membrane lipid peroxidation, ultimately improving the cadmium stress tolerance in plants. In addition, the expression levels of metal ion transport-related genes (*ZIP1*, *IRT1*, *COPT2* and *CSD1*) in overexpressing plants were 3.1, 1.5, 1.6, 2.1 times than those in wild type plants. These results suggested that tomato *SIUDP* gene might enhance plant tolerance to cadmium stress through active oxygen scavenging system and metal ion transport pathway. This study provided a theoretical basis for deciphering the glycosyltransferase gene in plant tolerance to cadmium stress, and provided candidate genes in molecular breeding of horticultural plants with abiotic resistance.

**Key words:** tomato; *SIUDP* gene; cadmium; active oxygen scavenging system; metal transport gene

重金属如镉 (Cadmium, Cd) 造成的土壤污染正在全球范围内受到广泛关注, 因为重金属不能被降解并在土壤中持续存在<sup>[1]</sup>。此外, 这些重金属易被植物吸收, 在人体组织中不断积累, 并通过食物链对人体健康产生负面影响<sup>[2-3]</sup>。目前, 植物已经进化出多种途径来承受重金属胁迫, 其中活性氧清除系统和金属离子转运途径在植物抵抗重金属引起的胁迫中起着重要作用<sup>[4-7]</sup>。糖基转移酶广泛分布在植物中, 在生物胁迫和非生物胁迫中起重要作用<sup>[8]</sup>。尿苷二磷酸 (UDP)-糖基转移酶 (UGTs) 是植物中最大的 GTs 超家族之一。这些酶有助于植物适应非生物胁迫<sup>[9]</sup>。例如, 新型糖基转移酶 *UGT2* 在调节水稻耐盐性方面起着重要作用, 在盐胁迫处理的水培条件下, 过表达 *UGT2* 的幼苗比野生型生长更好, 而突变株系则遭受更严重的生长抑制<sup>[10]</sup>。水稻基因 *GmUGT73F4* 能够与金属硫蛋白 4 (MT4) 相互作用, 响应盐、干旱、冷胁迫以及 ABA 诱导, 这可能是通过上调胁迫相关基因和清除活性氧 (ROS) 来实现的, 同时, *GmUGT73F4* 在增强植物种子活力和对非生物胁迫的耐受性方面发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。牵牛基因 *PhUGT51* 可以被盐胁迫快速诱导, 其过量表达导致耐盐性显著增加<sup>[12]</sup>。此前, 从冬凌草中扩增出 UDP-糖基转移酶基因 *IrUGT86A1*, 在氯化钠、茉莉酸甲酯和脱落酸 (ABA) 作用下可以调节 *IrUGT86A1* 基因在冬凌草中的表达<sup>[13]</sup>。UDP-糖基转移酶 (UGT) 在调节植物衰老和应对非生物胁迫方面发挥着关键作用<sup>[14]</sup>, 例如, 糖基转移酶基因 *UGT76B1* 可能在调节植物衰老中具有重要且特定的作用<sup>[15]</sup>。拟南芥 *AtUGT74E2* 基因的过表达可以促进拟南芥种子萌发<sup>[16]</sup>, 拟南芥 *UGT76C2* 基因表达使植物能够应对缺水并参与干旱胁迫<sup>[17]</sup>。同样, 茶树 UDP-葡萄糖基转移酶基因 *UGT91Q2*

---

表达受到冷胁迫的强烈诱导，并且特异性催化橙花叔醇的糖基化，茶树吸收空气中的橙花叔醇并将其转化为葡萄糖苷，从而增强茶树的冷胁迫耐受<sup>[18]</sup>。在吲哚-3-丁酸(IBA)的作用下拟南芥糖基转移酶基因 *UGT74E2* 被证明参与水分胁迫响应的调节<sup>[19]</sup>。

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 是世界上最重要的园艺作物之一，其产量和需求量非常巨大，作为设施栽培的重要园艺蔬菜，其受到镉胁迫的污染影响也很严重<sup>[20]</sup>，因此研究番茄的镉 (Cd) 抗性机制非常重要。尽管已有一些对植物 UGT 的功能研究报道 (如拟南芥、水稻、玉米和小麦)，但研究 UGT 在番茄镉耐受性中作用的报告很少。本研究通过前期转录组数据筛选获得的番茄 UGT 基因 (*SIUDP*)，其响应番茄植株的镉胁迫应答。进一步研究发现，在镉胁迫下，*SIUDP* 基因的表达显著增强。此外，在拟南芥中过表达 *SIUDP* 基因可以调节可溶性糖和 MDA 含量，以及 POD 和 SOD 的活性，以提高植物对镉胁迫的耐受性。基于本研究结果，我们推测番茄中的 *SIUDP* 基因通过调节抗氧化酶系统和金属离子转运途径来增强植株镉胁迫耐受性，本研究为糖基转移酶基因在植物抵抗镉胁迫中的作用研究提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1. 试验材料

本试验使用的植物材料是实验室保存的番茄商品种‘红罗成’和哥伦比亚野生型拟南芥。将‘红罗成’种子置于 1: 1 的泥炭土和蛭石混合物中，置于温室，培养条件为温度 22–26 °C，光照 16 h，避光 8 h，且相对湿度保持在 60–70%。

### 1.2. *SIUDP* 基因的克隆与生物信息学分析

将番茄 *SIUDP* 基因克隆到 PGM-T 载体中形成 PGM-T-*SIUDP*。引物设计见表 1，使用 NCBI 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行序列比对并利用 MEGA5.0 软件构建系统发育进化树。

### 1.3. *SIUDP* 的组织特异性表达分析

为研究 *SIUDP* 在不同组织中的表达量，选用浓度为 50 μM CdCl<sub>2</sub> 胁迫番茄植株 12 h，取胁迫后的主茎、侧茎、叶、根、花和果实，为研究不同浓度镉胁迫下 *SIUDP* 表达的变化，采用浓度为 20、40、60、80 和 100 μM 的 CdCl<sub>2</sub> 胁迫番茄植株 12 h，取胁迫后番茄植株根和叶；此外，为研究镉胁迫下不同时间点 *SIUDP* 表达的变化，采用 50 μM CdCl<sub>2</sub> 胁迫番茄植株，取胁迫后 1、2、3、4 和 5 d 植株的根和叶，测定 *SIUDP* 基因的表达量。基因表达量分析都采用荧光定量 PCR 进行，并进行三次生物学重复和三次技术重复。

### 1.4. RNA 分离和实时荧光定量 PCR

使用 FOREGENE 测定法从番茄叶和根中分离总 RNA，并使用 ReverTra Ace™ qPCR RT 试剂盒合成 cDNA。相对表达量采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算，使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。

### 1.5. 转 *SIUDP* 基因酵母的镉胁迫抗性分析

将番茄 *SIUDP* 基因克隆到 pYES2 质粒中，并将重组质粒转化为酿酒酵母 INVSc1 菌株。使用测序方法筛选出阳性克隆。采用浓度为 0  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ 、40  $\mu\text{mol/L}$ 、60  $\mu\text{mol/L}$ 、80  $\mu\text{mol/L}$ 、100  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{CdCl}_2$  分别处理 INVSC1-PYES2 和含有 INVSc1-pYES2-*SIUDP* 重组质粒的酵母菌株，研究添加镉对酵母菌株生长的影响。

### 1.6. 过表达 *SIUDP* 基因载体的构建和转基因拟南芥的生成

利用花序侵染法，通过将含有 pGM-*SIUDP* 重组质粒的根癌农杆菌侵染野生型拟南芥而获得转基因拟南芥植株。在含有抗生素培养基上筛选转基因植物并进行 PCR 鉴定。将转基因拟南芥植株置于含有不同浓度镉（0、40、60 和 80  $\mu\text{M}$ ）的 MS 培养基中，研究镉胁迫对转基因拟南芥植株发芽率和萌发后表型的影响。

### 1.7. 转基因植株生理响应指标的测量

选取生长 35 d 的拟南芥叶片，用 60  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{CdCl}_2$  处理野生型和转 *SIUDP* 基因的拟南芥，测定生理响应指标。主要测定 SOD 活性<sup>[21]</sup>和 POD 活性<sup>[22]</sup>，MDA 含量<sup>[23]</sup>和可溶性糖含量<sup>[24]</sup>。

### 1.8. 定量与活性氧清除系统和金属转运相关的基因

采用 qRT-PCR 对重金属胁迫下转基因拟南芥的活性氧清除系统基因（*CSD1*，*GSH1*）和金属离子转运基因（*ZIP1*，*IRT1*，*COPT2*）进行定量表达分析，引物设计见表 1。

表 1 引物序列汇总

Table 1 Summary of primer sequences

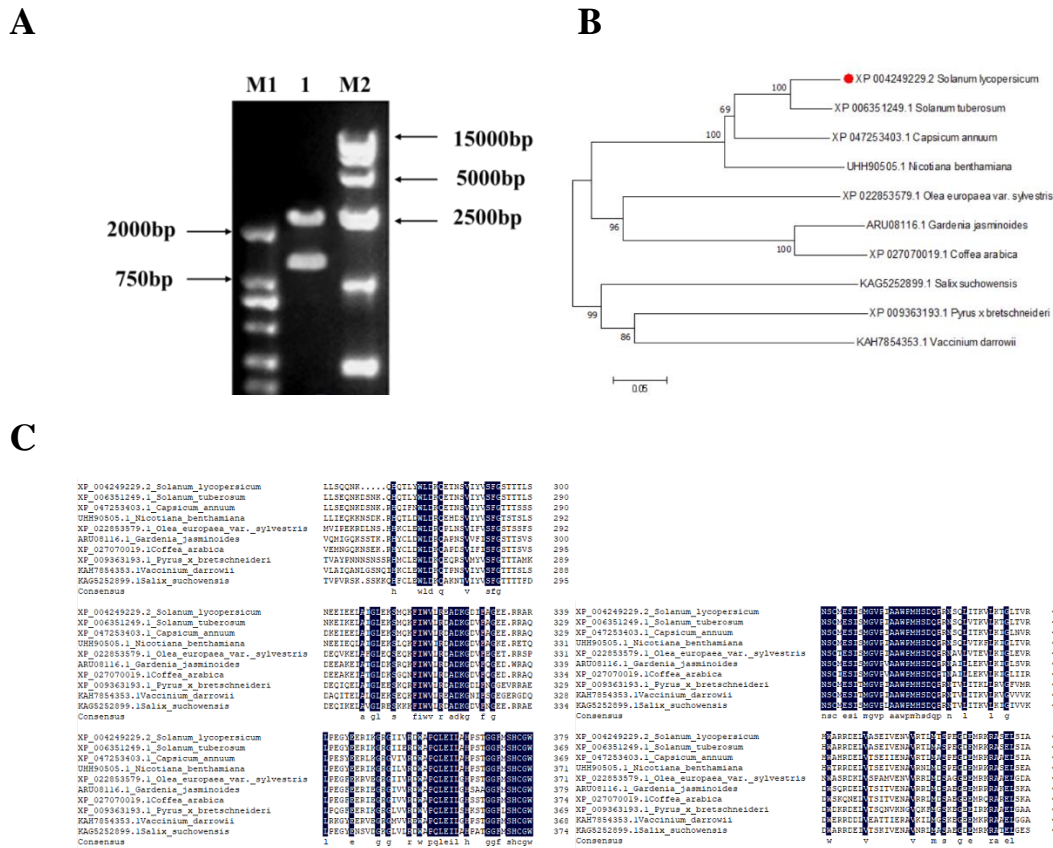
引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	用途 Use
<i>SIUDP-F</i>	AATGGAGGGAGTGAC	过表达载体构建
<i>SIUDP-R</i>	AAAGTGTTCCAGGTC	过表达载体构建
<i>SIUDP-D-F</i>	GGGGTACCAAGTTGCTGTGGTTATGGTG ( <i>Kpn</i> I)	过表达载体构建
<i>SIUDP-D-R</i>	AACTGCAGAAAGGGGTGCCAGTAGG ( <i>Pst</i> I)	过表达载体构建
<i>SIUDP-MF</i>	GGGGTACCATGGCATCAACAACAAACCATGT AAAT ( <i>Kpn</i> I)	构建酵母重组质粒
<i>SIUDP-MR</i>	GCTCTAGACTATCTAGTGATGTGGCAACAA AAGAT ( <i>Xba</i> I)	构建酵母重组质粒
Gene expression		
<i>SActin11-qF</i>	AAGATCCCATTCGTCCCCAT	内参引物
<i>SActin11-qR</i>	CAAGAGCCTCAAGGAGAGTTGG	内参引物
<i>SIUDP-qF</i>	GAGCAACAGTAATGGAGGGAGTGAC	实时定量 PCR 分析
<i>SIUDP-qR</i>	TTCTCCGTAAAGTGTTCAGGTC	实时定量 PCR 分析

<i>AtActin7-qF</i>	TCGTTTCGCTTTCCTTAG	内参引物
<i>AtActin7-qR</i>	CTTACCATTCCAGTTCC	内参引物
<i>ZIPI1-qF</i>	AGACACCATAAAGCCACTCA	实时定量 PCR 分析
<i>ZIPI1-qR</i>	TTTCCTGTAGCCTAAACCAC	实时定量 PCR 分析
<i>IRT1-qF</i>	TGGGTCTTGGCGGTTGTATC	实时定量 PCR 分析
<i>IRT1-qR</i>	CCGAATGGTGTGTACCGC	实时定量 PCR 分析
<i>COPT2-qF</i>	CCTTTCGTATTTGGTGATGCT	实时定量 PCR 分析
<i>COPT2-qR</i>	AAACACCTGCGTTAAAGGAC	实时定量 PCR 分析
<i>CSDI1-qF</i>	TCCATGCAGACCCTGATGAC	实时定量 PCR 分析实时定量 PCR 分析
<i>CSDI1-qR</i>	CCTGGAGACCAATGATGCC	实时定量 PCR 分析
<i>GSH1-qF</i>	TTTGAGCAGTATGTTGACTACGCAC	实时定量 PCR 分析
<i>GSH1-qR</i>	GCAGTTCACCAGGGAGACAGG	实时定量 PCR 分析

## 2 结果与分析

### 2.1. 番茄 *SIUDP* 基因的克隆和生物信息学分析

为了验证 *SIUDP* 基因的克隆结果，提取重组质粒，使用 *Kpn I* 与 *Pst I* 酶进行酶切验证，随后对质粒进行测序。结果表明，*SIUDP* 基因序列长度为 1486 bp（图 1-A），该序列与马铃薯关系最密切，其次是烟草和栀子花（图 1-B）。此外，*SIUDP* 蛋白序列与多种植物的序列相似，例如马铃薯，胡椒，烟草等，表明该蛋白序列具有高度保守性（图 1-C）。



A: *SIUDP* 基因克隆重组质粒鉴定; B: *SIUDP* 进化树分析; C: *SIUDP* 蛋白的氨基酸序列比对结果 (M1: 2000 标记; M2: 15000 标记; 1: *SIUDP*)

---

基因克隆重组质粒。进化树中的红点代表本研究中克隆基因所编码的蛋白质)

A: *SIUDP* gene cloning recombinant plasmid identification; B: *SIUDP* evolutionary tree analysis; C: Amino acid sequence alignment of *SIUDP* protein

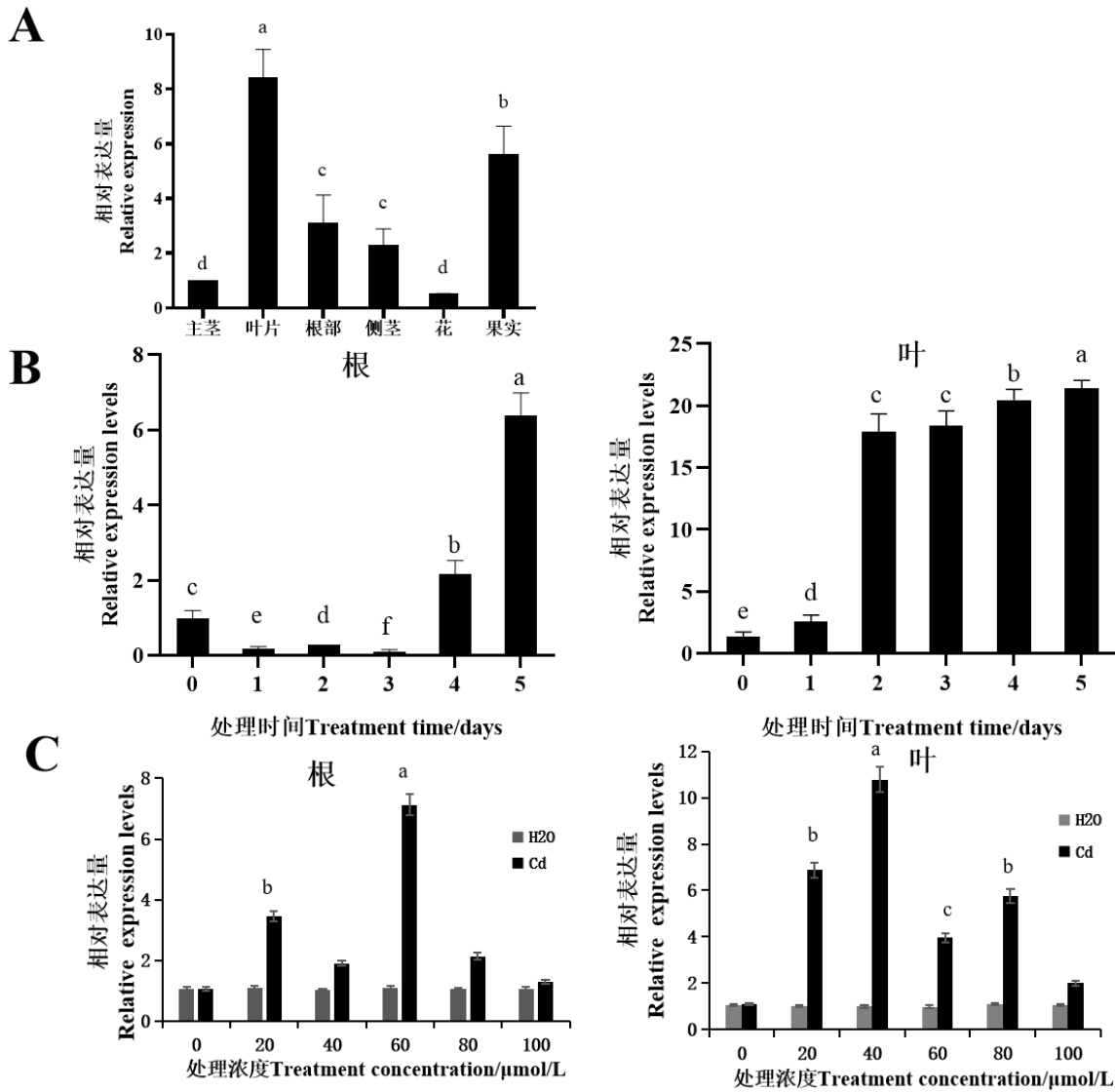
(M1:2000 labeling; M2:15000 marks; 1: *SIUDP* gene clone recombinant plasmid. The red dots in the evolutionary tree represent the proteins encoded by the cloned genes in this study)

### 图 1 重组质粒的双酶切鉴定和 *SIUDP* 蛋白的生物信息学分析

Fig 1. Double digestion identification of recombinant plasmid and bioinformatics analysis of *SIUDP* protein

#### 2.2. 镉胁迫下番茄 *SIUDP* 基因表达模式分析

选用浓度为 50  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  胁迫番茄植株 12 h, 发现 *SIUDP* 基因在所有组织中均有表达, 特别是在叶和果实中的表达高于其他组织, *SIUDP* 基因在叶中的表达量是主茎的 8.4 倍; 在果实中的表达量是主茎的 5.8 倍; 根和侧茎的表达量约是主茎的 3 倍。(图 2-A)。此外, 镉胁迫 2 d 后, *SIUDP* 基因在番茄叶片中的表达量比对照高 17.5 倍 (最大值为 22.1 倍), 在番茄植株的根系中, 与对照根相比, 镉胁迫 4 d 后 *SIUDP* 基因表达量增加, 在镉胁迫 5 d 后表现出 6.2 倍 (图 2-B)。用浓度为 20、40、60、80 和 100  $\mu\text{M}$  的  $\text{CdCl}_2$  胁迫番茄植株 12 h, 60  $\mu\text{M}$  镉胁迫后, *SIUDP* 基因在番茄根中的表达量比对照高 7 倍 (最大值为 7.6), 40  $\mu\text{M}$  镉胁迫后, *SIUDP* 基因在番茄叶片中的表达量比对照高 11.2 倍 (最大值为 11.2) (图 2-C)。这些结果表明, 镉胁迫上调了 *SIUDP* 基因在叶片和根系中的表达。



A: *SIUDP* 基因在番茄不同组织中的表达模式; B: 不同时间镉处理下番茄中 *SIUDP* 基因的表达; C: 不同镉浓度处理下番茄中 *SIUDP* 基因的表达;

数值是具有标准误差线的三个重复的平均值, 不同的字母在  $P < 0.05$  时表示显著差异

A: Expression patterns of *SIUDP* gene in different tissues of tomato; B: Expression of *SIUDP* gene in tomato treated with cadmium at different time; C:

Expression of *SIUDP* gene in tomato treated with different cadmium concentrations; The value is the average of the three replicates with a standard error line.

Different letters in  $P < 0.05$  indicates a significant difference

图 2 重金属镉胁迫下番茄幼苗 *SIUDP* 基因表达模式分析

Fig. 2 Analysis of *SIUDP* gene expression patterns in tomato seedlings under heavy metal Cd stress

### 2.3. 镉胁迫下重组酵母菌株的耐镉性分析

将 pYES2 空载体和重组质粒 pYES2-*SIUDP* 分别转入酵母感受态 INVSC1 中, 20  $\mu\text{mol/L}$  Cd 处理时 INVSC1-pYES2 和 INVSC1-pYES2-*SIUDP* 没有显著差别, 100  $\mu\text{mol/L}$  Cd 处理时含有 INVSc1-pYES2-*SIUDP* 质粒的酵母菌株比 80  $\mu\text{mol/L}$  Cd 处理时含有 INVSc1-pYES2-*SIUDP* 质粒的酵母菌株长势较弱, 在 100  $\mu\text{mol/L}$

处理时对照在稀释 1000 倍下菌落未发现生长，而 INVSC1-pYES2-*SIUDP* 在菌落仍可以生长。(图 3)。挑取酵母感受态细胞 INVSC1 的 pYES2-*SIUDP* 和 pYES2 单菌落摇菌，OD<sub>600</sub> 值进行测定，对酵母在 Cd 胁迫下进行定量分析。随着 Cd 胁迫浓度的增加，酵母 OD<sub>600</sub> 的值不断降低，但 pYES2-*SIUDP* 一直高于 pYES2，且高浓度时达到差异显著性 (图 4)。结果显示随着重金属 Cd 的处理浓度逐渐升高，*SIUDP* 基因显著提高了酵母对 Cd 胁迫的抗性。

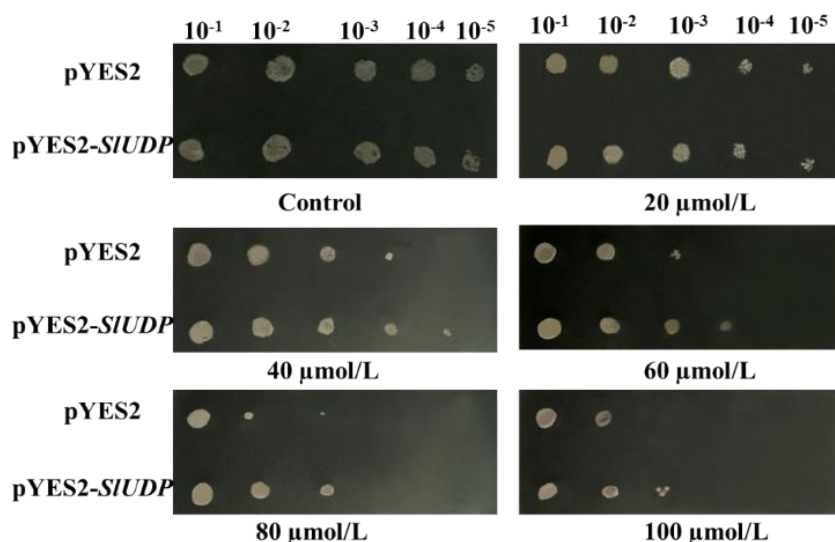


图 3 转 *SIUDP* 基因酵母在不同胁迫处理后的表型分析

Fig.3 Phenotype analysis of yeast with *SIUDP* gene after different stress

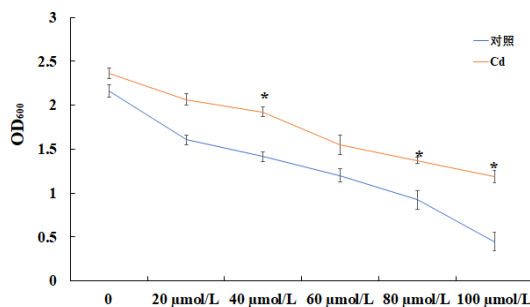


图 4 转 *SIUDP* 基因酵母在镉胁迫处理后的存活率分析

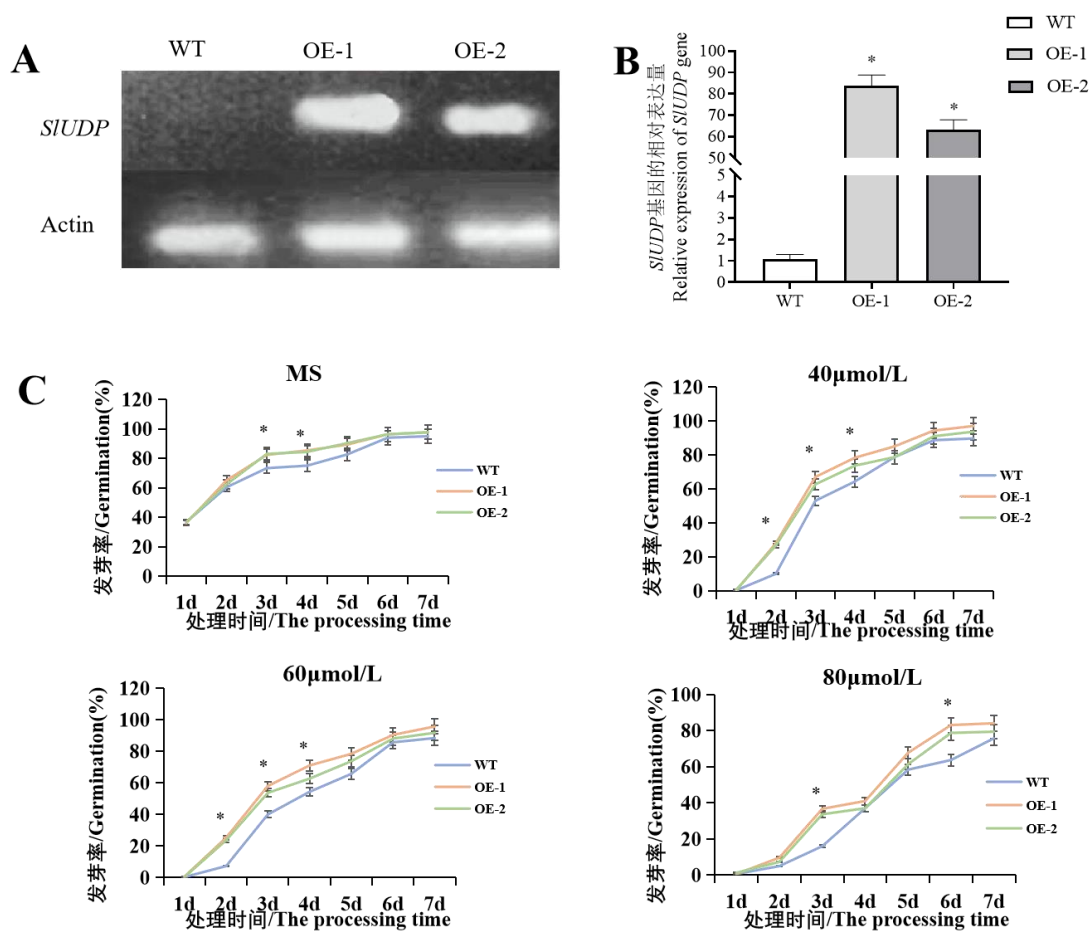
Fig. 4 Survival rate of *SIUDP* transgenic yeast under Cd stress

#### 2.4. 过表达转基因拟南芥种子萌发耐镉性鉴定

以 *SIUDP* 特异引物进行半定量 RT-PCR 分析，只有抗性植株 OE-1、OE-2 出现了目的条带，且 *SIUDP* 的表达量相对较高，表明 *SIUDP* 基因在拟南芥植株中超量表达成功 (图 5A)。进一步利用荧光定量 PCR 分析表明，*SIUDP* 基因在 OE-1 和 OE-2 中的表达水平是野生型植株的 80 倍 (图 5B)。在第 3 d 时比较 *SIUDP* 过表达拟南芥株系与野生型的发芽率，40 μM CdCl<sub>2</sub> 处理条件下，*SIUDP* 过表达拟南芥发芽率是野生型的 1.2



倍；60  $\mu\text{M}$  Cd 胁迫下，过表达拟南芥植株发芽率是野生型的 1.58 倍；而 80  $\mu\text{M}$  Cd 胁迫下是野生型的 1.9 倍（图 5-C）。这些结果表明，*SIUDP* 基因可能减弱镉胁迫对种子发芽率的抑制作用。



A: 半定量 PCR 验证试验; B: qRT-PCR 验证试验; C: 镉胁迫下的发芽试验; 标记: 竖线表示生物重复的标准差, 星号表示处理组和对照组之间三次重复的平均值差异显著 (\*  $P < 0.05$ )

A: semi-quantitative PCR validation test; B: qRT-PCR validation test; C: Germination test under cadmium stress; Markers: The vertical line indicates the standard deviation of the biological replicates, and the asterisk indicates the significant difference in the mean of the three replicates between the treatment and control groups (\*  $P < 0.05$ )

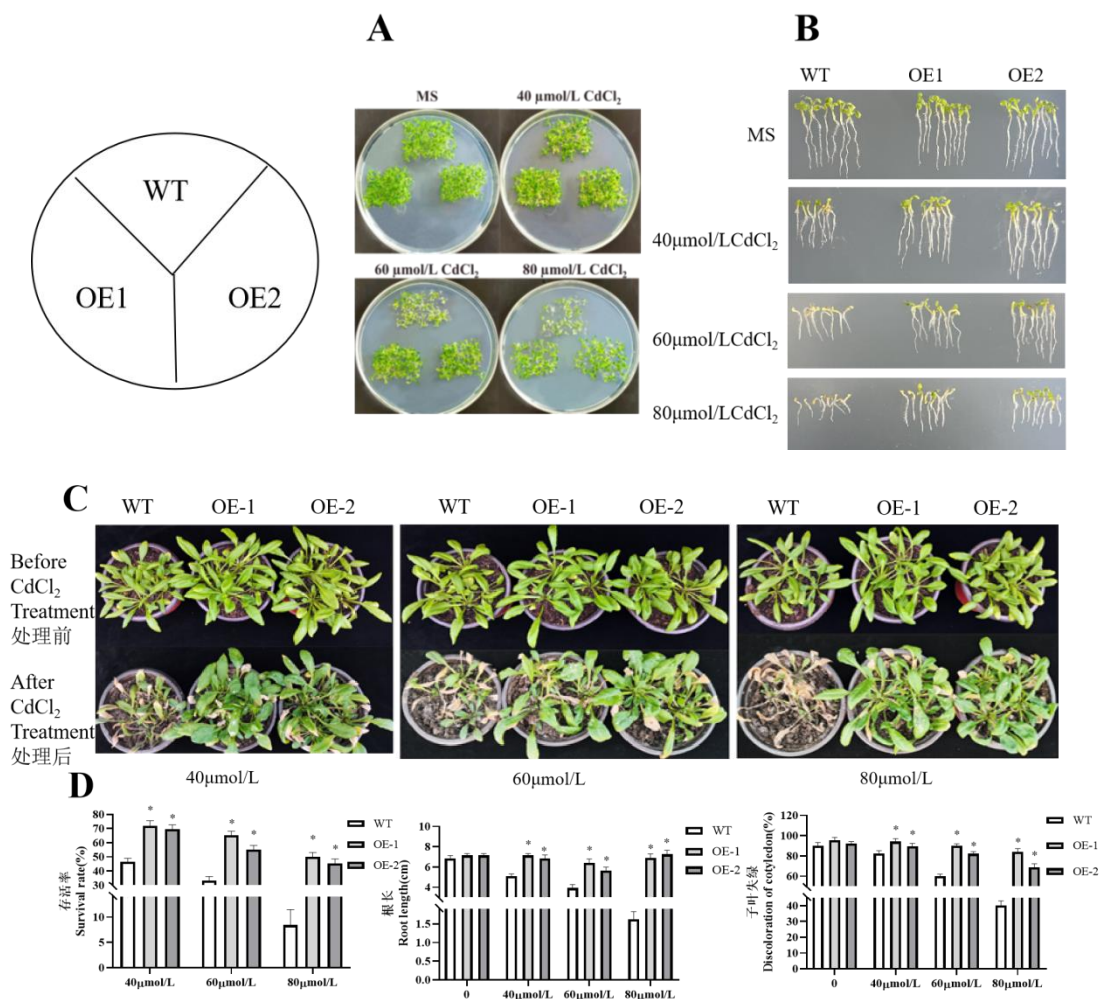
图 5 转基因拟南芥的鉴定及发芽率分析

Fig 5. Identification and germination rate analysis of transgenic *Arabidopsis thaliana*

### 2.5. *SIUDP* 基因的过表达提高拟南芥植株对镉胁迫的耐受性

野生型种子和 *SIUDP-OE* 拟南芥种子在不同浓度镉胁迫下生长 7 d 时，未进行胁迫处理的种子生长无显著差异（图 6-A）。然而，暴露于 40  $\mu\text{mol/L}$  CdCl<sub>2</sub> 时，与野生型植物相比，*SIUDP* 过表达拟南芥植株在失绿更缓慢。此外，在 60  $\mu\text{M}$  Cd 时，野生型植株的失绿程度（1.5 倍；87%）高于 *SIUDP* 过表达拟南芥植株（58%）。在 80  $\mu\text{M}$  Cd 时，野生型植株的失绿程度（1.75 倍；70%）高于 *SIUDP* 过表达拟南芥植株（40%）（图 6-C）。

*SIUDP* 过表达拟南芥植株在 60  $\mu\text{M}$  和 80  $\mu\text{M}$  镉胁迫时的根长分别为 7.2 cm 和 6 cm，野生型植株的根长分别为 4 cm 和 2 cm，说明在高镉胁迫下，*SIUDP* 过表达拟南芥植株对镉毒害的耐受性增强 (图 6-B)。为了解野生型和 *SIUDP* 过表达拟南芥植株在镉胁迫下的存活情况，将这些植株以不同的镉浓度生长 15 d。野生型植株在 80  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  条件下的存活率低于 10%，40  $\mu\text{M}$  和 60  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  的存活率低于 50%。另一方面，*SIUDP* 过表达拟南芥植株在 80  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  条件下存活率接近 50%，40  $\mu\text{M}$  和 60  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  条件下的存活率高于 50%，说明 *SIUDP* 过表达拟南芥植株受镉胁迫危害的影响较小 (图 6-D)。以上结果表明，*SIUDP* 基因的过表达提高了拟南芥植株对镉胁迫的耐受性。



A-C: 不同浓度  $\text{CdCl}_2$  胁迫后拟南芥表型。D: 存活率、子叶失绿、根长 竖线表示生物重复的标准差，星号表示处理组和对照组之间三次重复的

平均值差异显著 (\*  $P < 0.05$ )

A-C: *Arabidopsis* phenotype after  $\text{CdCl}_2$  stress at different concentrations. D: Survival rate, greenness of cotyledon, and root length vertical lines represent standard deviations of biological replicates, and asterisks represent significant differences in mean values of three replicates between treatment and control groups

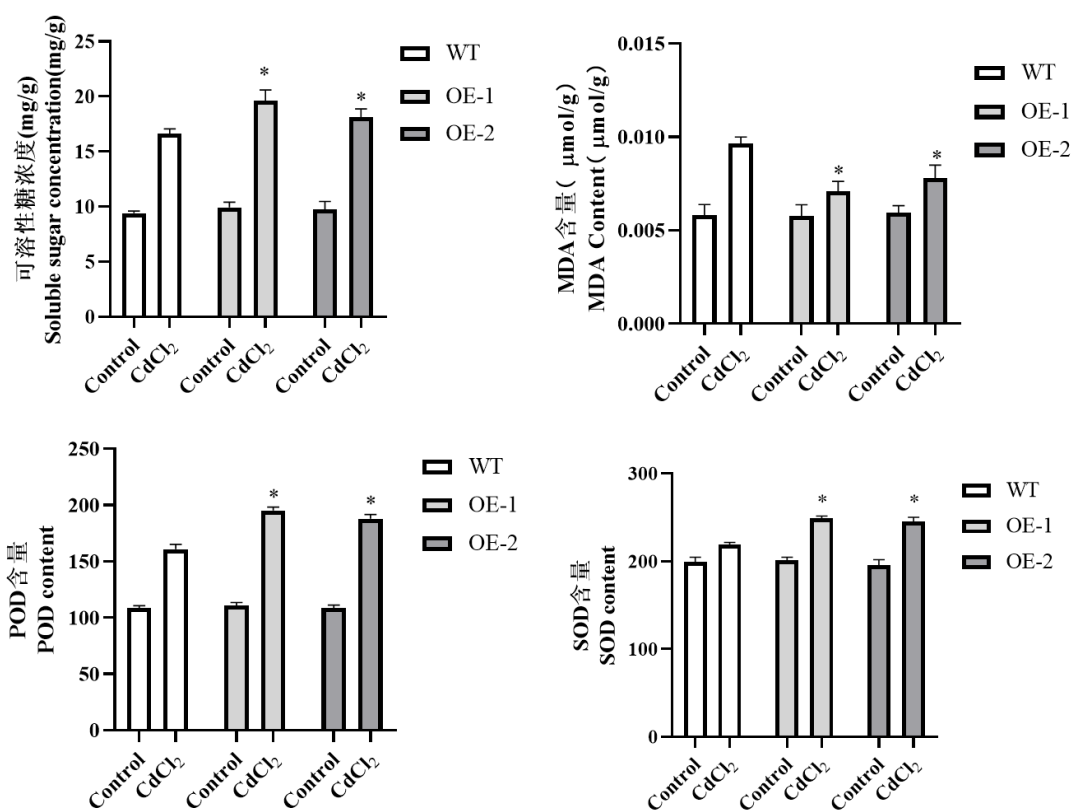
(\*  $P < 0.05$ )

图 6 不同浓度  $\text{CdCl}_2$  胁迫后拟南芥的子叶失绿、根长及拟南芥表型分析

Fig. 6 Leaf greening, root length and phenotypic analysis of *Arabidopsis* mustard under different concentrations of CdCl<sub>2</sub> stress

## 2.6. *SIUDP* 过表达拟南芥植株生理指标的测定

在正常生长条件下，野生型和 *SIUDP* 过表达拟南芥植株的 MDA 和可溶性糖含量以及 SOD 和 POD 活性无显著差异。然而，当暴露于 60 μM CdCl<sub>2</sub> 时，与野生型植株相比，*SIUDP* 过表达拟南芥植株的 MDA 降低而可溶性糖含量有所增加，丙二醛含量下降约 1.4 倍、可溶性糖含量增加约 1.8 倍，SOD 和 POD 活性也显著增加，超氧化物歧化酶活性、过氧化物酶活性增加约 2、1.25 倍。这些结果表明，*SIUDP* 的过表达导致抗氧化酶系统的变化，提高植株清除活性氧的能力，降低脂质过氧化的程度，赋予植物更好的耐镉性（图 7）。



竖线表示生物重复的标准差，星号表示处理组和对照组之间三次重复的平均值差异显著 (\*  $P < 0.05$ )；(OE-1: *SIUDP*-OE1, OE-2: *SIUDP*-OE2,

WT: 野生型拟南芥)

The vertical line indicates the standard deviation of the biological replicates, and the asterisk indicates a significant difference in the mean of the three

replicates between the treatment and control groups (\*  $P < 0.05$ ) ; (OE-1: *SIUDP*-OE1, OE-2: *SIUDP*-OE2, WT: Wild *Arabidopsis*)

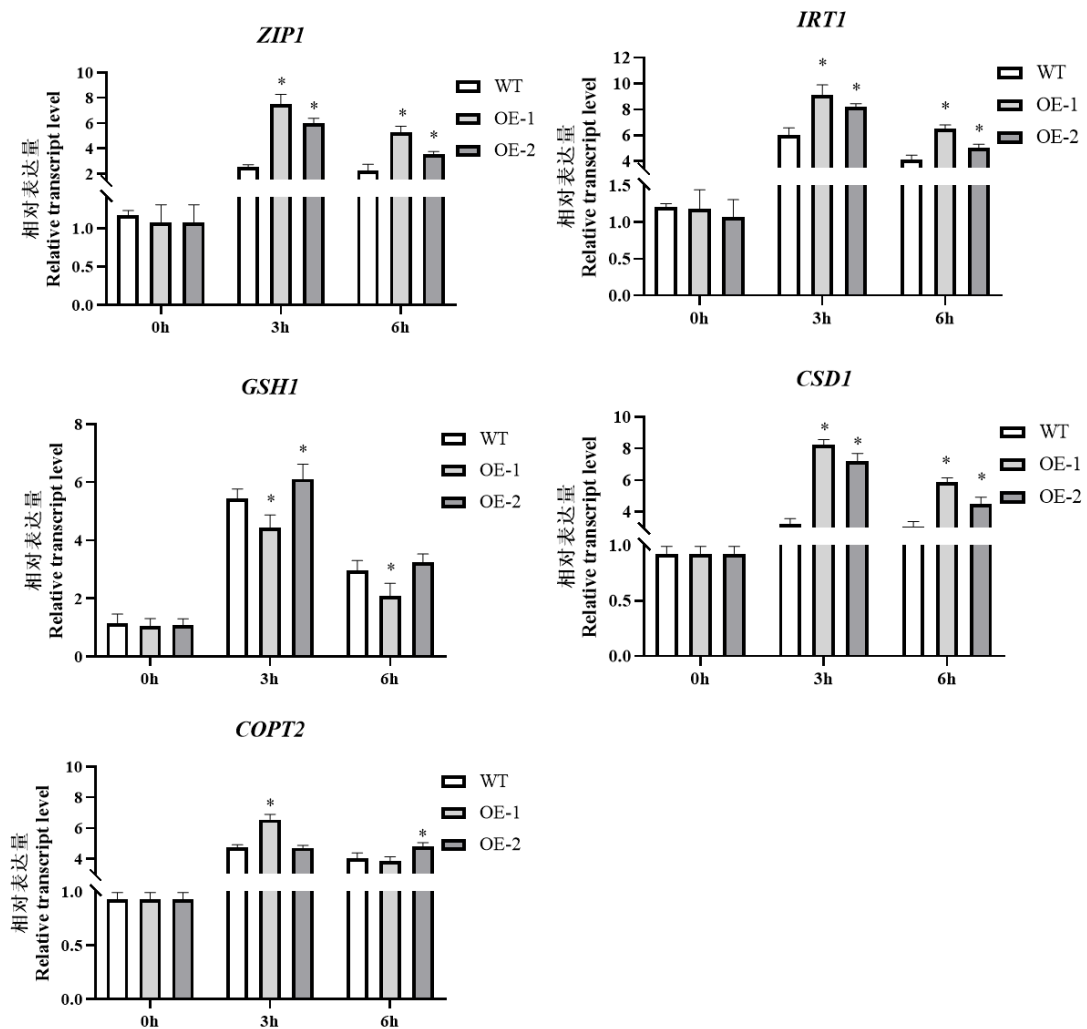
图 7 CdCl<sub>2</sub> 胁迫拟南芥 MDA、可溶性糖、SOD 和 POD 含量的测定

Fig.7 Determination of MDA, soluble sugar, SOD and POD contents in *Arabidopsis thaliana* under CdCl<sub>2</sub> stress

## 2.7 转基因拟南芥金属离子转运蛋白基因表达分析

在 CdCl<sub>2</sub> 胁迫下，*SIUDP* 过表达拟南芥植株金属离子转运蛋白基因 *ZIP1*、*IRT1*、*CSD1* 和 *COPT2* 的表达水平显著高于野生型植株；在镉胁迫 3 h 时，这些基因的表达量显著升高。金属离子转运相关基因 (*ZIP1*、

*IRT1*、*COPT2* 和 *CSD1*) 在过表达植株中的表达量约为野生型植株的 3.1、1.5、1.6、2.1 倍。这些结果表明, *SIUDP* 过表达株系中 *ZIP1*, *IRT1*, *COPT2* 和 *CSD1* 基因在增强植物镉胁迫中起到一定作用, *SIUDP* 基因可能通过调节金属离子的转运来缓解金属离子对植物造成的损伤。*GSH1* 基因在 3 h 和 6 h 时 *SIUDP*-OE1 的表达量都低于 WT, 初步推测在 *SIUDP* 基因提高 CdCl<sub>2</sub> 胁迫的过程中与谷胱甘肽途径相关性不大。(图 8)。



竖线表示生物学重复的标准差, 星号表示处理组和对照组之间三次重复的平均值差异显著 (\*  $P < 0.05$ )

The vertical line indicates the standard deviation of the biological replicates, and the asterisk indicates that the mean of the three replicates between the treatment and control groups differs significantly (\*  $P < 0.05$ )

图 8 CdCl<sub>2</sub> 处理下 *SIUDP*-OE1、*SIUDP*-OE2 中 *ZIP1*、*IRT1*、*COPT2*、*GSH1* 和 *CSD1* 基因的表达

Fig. 8 Expressions of *ZIP1*, *IRT1*, *COPT2*, *GSH1* and *CSD1* genes in *SIUDP*-OE1 and *SIUDP*-OE2 treated by CdCl<sub>2</sub>

### 3 讨论

本研究对番茄糖基转移酶基因 *SIUDP* 进行了研究。我们发现番茄的 *SIUDP* 基因序列与马铃薯序列同源, 这与之前的研究结果一致<sup>[25]</sup>。此外, 番茄 *SIUDP* 基因在茄子、水稻、辣椒等中具有同源物。植物中的 GTs

---

已被研究与多种非生物胁迫有关，例如高温，干旱和高盐等，干旱等胁迫通常与 GTs 对 ABA 稳态的调节有关<sup>[26]</sup>，*UGT71B6* 可以应对干旱胁迫，然而，尚未报道 *SIUDP* 对植株镉胁迫耐性的相关作用<sup>[27]</sup>。研究表明，当植物暴露于镉胁迫时，*SIUDP* 基因的表达会周期性地发生变化，表明 *SIUDP* 基因表达对植物的影响具有时间依赖性，但是依赖的原因尚不清楚。当植物受到生理和生化胁迫时，GTs 作为渗透压调节剂，可以通过合成蛋白质来保护植物免受伤害<sup>[28-29]</sup>。Nakashima<sup>[30]</sup> 和 Chaves<sup>[31]</sup> 发现干旱胁迫会改变植物的生理和代谢水平。研究发现，控制离子转运蛋白的表达和活性直接影响植物的生长<sup>[32-34]</sup>。Liu<sup>[35]</sup> 发现 *UGT71C5* 的低表达导致种子萌发延迟，而 *UGT71C5* 的过表达加速种子萌发。此外，*UGT71C5* 突变导致拟南芥 ABA 水平升高，而 *UGT71C5* 的过表达导致 ABA 水平降低，表明 *UGT71C5* 通过调节 ABA 水平影响种子萌发。此前，使用酵母系统，证明 *ZmDHN15* 基因的过表达可以有效提高冷胁迫的耐受性<sup>[36]</sup>。同样，含有小麦 *TaNCL2-A* 基因的酵母生长速率更高，*TaNCL2-A* 可以减轻酵母中镉毒性<sup>[37]</sup>。Ni 也发现 *ILCDT1* 赋予酵母和拟南芥对镉胁迫的耐受性<sup>[38]</sup>。在正常生长条件下，在 40  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  处理条件下，第 3 天 *SIUDP* 过表达拟南芥发芽率是野生型植株的 1.2 倍左右。在 60  $\mu\text{M}$  Cd 胁迫下，过表达拟南芥植株发芽率是野生型植株的 1.58 倍左右，而 80  $\mu\text{M}$  Cd 胁迫下发芽率比野生型植株高约 1.9 倍。结果表明，*SIUDP* 基因参与植物对镉胁迫的响应。与野生型相比，在镉胁迫下，*SIUDP* 过表达拟南芥的生长没有显著抑制，表明这可能与缓解了种子发芽有关，需要进一步的研究来更详细地了解其机制。随着镉浓度的增加，种子的发芽率受到抑制，但 *SIUDP* 过表达拟南芥对镉的耐受性高于野生型植株。在 80  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  处理下，野生型植株大部分枯萎或死亡，成活率低于 10%。然而，*SIUDP* 过表达拟南芥的存活率接近 50%。

MDA 通常用于反映植物中膜脂过氧化的程度。在本项研究中，在高镉浓度下，我们发现 *SIUDP* 的过表达拟南芥植株 MDA 含量比野生型植株降低约 1.4 倍，说明其对胁迫造成的氧化损伤显著高于野生型拟南芥。此外，过表达拟南芥植株可溶性糖含量和 SOD、POD 活性显著增加，再次表明这些植株对胁迫造成的氧化损伤耐受性增强。在 60  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  处理下，过表达 *SIUDP* 拟南芥植株的可溶性糖含量增加约 1.8 倍。这些结果表明，*SIUDP* 基因通过调控拟南芥可溶性糖含量来响应胁迫，提高植物对镉胁迫的耐受性。Chen<sup>[39]</sup> 表明 *CmWRKY15-1* 通过增加保护酶体系的活性，可提高菊花对白锈病的抗性。Sun<sup>[40]</sup> 表明耐旱基因 *ZmMYB48* 过表达可增强玉米光合性能，诱导抗氧化酶活性和脯氨酸含量增加，降低 MDA 含量。本研究表明在 60  $\mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  处理下，*SIUDP* 的过表达拟南芥植株的 POD 和 SOD 活性显著高于野生型植株，表明 *SIUDP* 基因可以提高抗氧化酶的活性，减轻镉的毒性作用。此前，Meng<sup>[41]</sup> 发现 ZIP 家族蛋白包括 *ZIP1* 和 *IRT1*，*ZIP1* 和 *IRT1* 都可以转运镉，*IRT1* 可以介导镉摄取效率低的过程。这些结果表明这些蛋白质对镉应激的作用。本研究 *ZIP1* 和 *IRT1* 基因在表达 *SIUDP* 的植株中的表达水平显著高于野生型植株，表明这些蛋白质对镉应激的作用，与上述结果一致。

---

## 4 结论

本研究克隆了番茄的 *SIUDP* 基因，并研究了该基因在番茄植株不同组织中的表达。我们发现当番茄植株暴露于镉胁迫时，该基因在不同组织中的表达显著增加。利用酵母表达系统验证了 *SIUDP* 基因介导镉胁迫耐性的功能。此外，镉胁迫下在 *SIUDP* 过表达转基因拟南芥植株中，种子发芽率高于野生型植株。*SIUDP* 过表达植株导致胁迫下 MDA 水平降低，可溶性糖水平升高，SOD 和 POD 活性升高。本研究结果表明，番茄 *SIUDP* 基因超量表达可以提高拟南芥植株的镉胁迫耐受性，这个过程抗氧化酶系统和金属离子转运蛋白可能参与其中。

### 参考文献

- [1]Wang H T, Cao Q J, Zhao Q, Arfan M, Liu W. Mechanisms used by DNA MMR system to cope with Cadmium-induced DNA damage in plants. *Chemosphere*, 2020, 24(6): 125-614.
- [2]Bharti R. Effect of heavy metals: An overview. *Materials Today: Proceedings*, 2022, 51(6): 880-885.
- [3]Nowicka B. Heavy metal-induced stress in eukaryotic algae—mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(12): 16860-16911.
- [4]Noor I, Sohail H, Sun J X, Nawaz M A, Guo H L, Li G H, Hasanuzzaman M, Liu J W. Heavy metal and metalloid toxicity in horticultural plants: Tolerance mechanism and remediation strategies. *Chemosphere*, 2022: 1(3)188-196.
- [5]王雪阳, 易鹏辉, 汪春香, 陈小虎, 刘爱玉, 周仲华, 屠小菊. 重金属复合污染对植物的影响研究进展. *现代农业科技*, 2023, 1(23): 47-51.
- WANG Xueyang, YI Penghui, Wang Chunxiang, Chen Xiaohu, Liu Aiyu, ZHOU Zhonghua, Tu Xiaojun. Research progress on effects of heavy metal combined pollution on plants. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2023, 1(23): 47-51.
- [6]Magray J A, Sharma D P, Deva M A, et al. Phenolics: Accumulation and Role in Plants Grown Under Heavy Metal Stress. *Plant Phenolics in Abiotic Stress Management*, 2023, 2(1): 321-351.
- [7]杨婉莹, 孙莎莎, 巩彪, 李晓彤, 刘越, 史庆华. 超表达 *SISAMS1* 对番茄镉胁迫的缓解效应及抗氧化系统的影响. *核农学报*, 2020, 34(03): 487-496.
- Yang Wanying, Sun Shasha, Gong Biao, LI Xiaotong, LIU Yue, SHI Qinghua. Effects of *SISAMS1* overexpression on cadmium stress and antioxidant system in tomato. *Journal of Nuclear Agriculture*, 2020, 34(03): 487-496.
- [8]Rehman H M, Khan U M, Nawaz S, Saleem F, Ahmed N, Rana I A, Atif R M, Shaheen N, Seo H. Genome Wide Analysis of Family-1 UDP Glycosyltransferases in *Populus trichocarpa* Specifies Abiotic Stress Responsive Glycosylation Mechanisms. *Genes*, 2022, 13(9): 1640.
- [9]Li J. Identification and Expression Characteristics of UDP-Glycosyltransferase Genes in Pear and Their Correlation with Arbutin Accumulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2022, 69(5): 70-82.
- [10]Wang T, Li X K, Liu X, Yang X Q, Li Y J, Hou B K. Rice glycosyltransferase gene *UGT2* functions in salt stress tolerance under the regulation of *bZIP23*

---

transcription factor. *Plant Cell Reports*, 2022, 1(5): 1-12.

[11]Hu H, Qian P, Ye M.. *GmUGT73F4* plays important roles in enhancing seed vitality and tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2022, 150(2): 313-328.

[12]Dong L L, Tang Z, Yang T, Hao F L, Deng X Y. Genome-Wide Analysis of *UGT* Genes in *Petunia* and Identification of *PhUGT51* Involved in the Regulation of Salt Resistance. *Plants*, 2022, 11(18): 24-34.

[13]Lian C. Molecular Cloning and Functional Analysis of *IrUGT86A1-like* Gene in Medicinal Plant *Isodon rubescens* (Hemsl.) Hara. *Life*, 2022, 12(9): 13-34.

[14]Mart ínez M, Bernal P, Almela C, V élez D, Agust ín P G, Serrano R, Avi ño J N. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere*, 2006, 64(3): 478-485.

[15]Saint Paul V, Zhang W, Kanawati B, Geist B, Kessler T F, Kopplin P S, Sch äffner A R. The *Arabidopsis* glucosyltransferase *UGT76B1* conjugates isoleucic acid and modulates plant defense and senescence. *The Plant Cell*, 2011, 23(11): 4124-4145.

[16]Wang T, Li P, Mu T, Zheng C C, Jin S H, Chen T T, Hou B K, Li Y J. Overexpression of *UGT74E2*, an *Arabidopsis* IBA glucosyltransferase, enhances seed germination and modulates stress tolerance via ABA signaling in rice. *International journal of molecular sciences*, 2020, 21(19): 7239.

[17]Li Y, Wang B, Dong R, Hou B. *AtUGT76C2*, an *Arabidopsis* cytokinin glucosyltransferase is involved in drought stress adaptation. *Plant Science*, 2015, 236(2): 157-167.

[18]Zhao M, Zhang N, Gao T, Jin J Y, Jing T T, Wang J M, Wu Y, Wan X C, Schwab W, Song C K. Sesquiterpene glucosylation mediated by glucosyltransferase *UGT91Q2* is involved in the modulation of cold stress tolerance in tea plants. *New Phytologist*, 2020, 226(2): 362-372.

[19]Tognetti V B, Van Aken O, Morreel K, Vandenbroucke K, Cotte B V, Clercq I D, Chiwocha S, Fenske R, Prinsen E, Boerjan W, Genty B, Stubbs K A, Inz é D, Breusegem F V. Perturbation of indole-3-butyric acid homeostasis by the UDP-glucosyltransferase *UGT74E2* modulates *Arabidopsis* architecture and water stress tolerance. *The Plant Cell*, 2010, 22(8): 2660-2679.

[20]杨佳敏, 贺希格都楞, 万家悦, 丁艳菲, 王飞娟, 朱诚. 镉污染地区番茄品种的筛选及其抗氧化能力. *生物工程学报*, 2021, 37(01): 242-252.

Yang Jiamin, Hexige, WAN Jiayue, DING Yanfei, Wang Feijuan, Zhu Cheng. Screening and antioxidant capacity of tomato varieties in cadmium-contaminated areas. *Journal of Bioengineering*, 2021, 37(01): 242-252.

[21]Zhou J Y, Prognon P. Raw material enzymatic activity determination: a specific case for validation and comparison of analytical methods—the example of superoxide dismutase (SOD). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2006, 40(5): 1143-1148.

[22]Vetter J L, Steinberg M P, Nelson A I. Enzyme assay, quantitative determination of peroxidase in sweet corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1958, 6(1): 39-41.

[23]Peever T L, Higgins V J. Suppression of the activity of non-specific elicitor from *Cladosporium fulvum* by intercellular fluids from tomato leaves. *Physiological and molecular plant pathology*, 1989, 34(6): 471-482.

[24]Barnett A J G, Tawab G A. A rapid method for the determination of lactose in milk and cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1957, 8(7): 437-441.

- 
- [25]耿鑫鑫, 于丽杰, 陈超, 金晓霞. 番茄 *SIUDP* 基因的克隆及其在镉、干旱和盐胁迫中的响应分析. 华北农学报, 2021, 36(02): 46-53.
- GENG Xinxin, Yu Lijie, Chen Chao, Jin Xiaoxia. Cloning of tomato *SIUDP* gene and its response to cadmium, drought and salt stress. Journal of North China Agronomy, 2021, 36(02): 46-53.
- [26]Sano N. ABA metabolism and homeostasis in seed dormancy and germination. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(10): 5069-5072.
- [27]David M P, Stephen J A, Fabián E V, Priest D M, Ambrose S J, Vaistij F E, Elias L S, Higgins G S, Andrew R S, Suzanne R A, Bowles D J. Use of the glucosyltransferase *UGT71B6* to disturb abscisic acid homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal, 2006, 46(3): 492-502.
- [28]刘美子, 王丹丹, 秦超, 王小强, 沈月全. 植物糖基转移酶的结构与机理及糖基化工程的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(09): 1133-1142.
- LIU Meizi, WANG Dandan, Qin Chao, Wang Xiaoqiang, SHEN Yuequan. Research progress on structure and mechanism of plant glycosyltransferase and glycosylation engineering. Science in China: Life Sciences, 2019, 49(09): 1133-1142.
- [29]Dong T. Contribution of ABA UDP-glucosyltransferases in coordination of ABA biosynthesis and catabolism for ABA homeostasis. Plant signaling & behavior, 2014, 9(7): 28-88.
- [30]Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses. Plant physiology, 2009, 149(1): 88-95.
- [31]Chaves M, Flexas J, Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of botany, 2009, 103(4): 551-560.
- [32]Spiral J, Ouazzani S, Vial N H. Reciprocal grafting reveals differential metabolic responses between robusta clones with contrasting tolerances to drought. Agricultural Research, 2022, 5(2): 1-11.
- [33]Zhang Z, Li J, Liu H. Roles of Ubiquitination-Mediated Protein Degradation in Plant Responses to Abiotic Stresses. Environmental Experimental Botany, 2015, 114(03): 92-103.
- [34]Ajayi O O. Systems identification and characterization of  $\beta$ -glucuronosyltransferase genes involved in arabinogalactan-protein biosynthesis in plant genomes. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-14.
- [35]Liu Z, Yan J P, Li D K, Luo Q, Yan Q J, Liu Z, Ye L M, Wang J M, Li X F, Yang Y. UDP-glucosyltransferase *71C5*, a major glucosyltransferase, mediates abscisic acid homeostasis in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 2015, 167(4): 1659-1670.
- [36]Chen N, Fan X, Wang C, Jiao P, Jiang Z Z, Ma Y Y, Guan S Y, Liu S Y. Overexpression of *ZmDHN15* Enhances Cold Tolerance in Yeast and *Arabidopsis*. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(1): 470-480.
- [37]Tyagi S, Sharma Y, Sharma A, Pandey A, Kashmir Singh K, Upadhyay S K. Expression of *TaNCL2-A* ameliorates cadmium toxicity by increasing calcium and enzymatic antioxidants activities in *Arabidopsis*. Chemosphere, 2023, 3(39): 138-636.
- [38]Ni L, Wang Z, Liu L. The *HNF-YC6* transcription factor of *Iris lactea* var. *chinensis* (Fisch.) activates the *l1CDT1* gene and enhances tolerance to cadmium stress in *Arabidopsis thaliana*. Industrial Crops and Products, 2023, 19(7): 116-558.
- [39]Chen Q, Kuang A, Wu H, Liu D, Zhang X, Mao H Y. Physiological response of *CmWRKY15-1* to chrysanthemum white rust based on TRV-VIGS.



---

Frontiers in Plant Science, 2023, 14(1): 140-596.

[40]Sun S, Yao X, Liu X. Brassinolide can improve drought tolerance of maize seedlings under drought stress: By inducing the photosynthetic performance, antioxidant capacity and *ZmMYB* gene expression of maize seedlings. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, 22(2): 2092-2104.

[41]Meng Y, Huang J, Jing H, Wu Q, Shen R F, Zhu X F. Exogenous abscisic acid alleviates Cd toxicity in *Arabidopsis thaliana* by inhibiting Cd uptake, translocation and accumulation, and promoting Cd chelation and efflux. *Plant Science*, 2022, 3(25): 111-464.