

## 拟南芥 *dmard abf3* 突变体对 ABA 的敏感性和耐旱性能

黄淑颜, 冯锦欣, 陈家逸, 盘诗雨, 张裕敏, 陈健璞, 李玲\*, 李晓云\*

华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州510631

**摘要:** 本研究课题组在前期研究中通过T-DNA插入突变获得了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)突变体 *dmard*, 其根生长对ABA超敏感。将突变体 *dmard* 与 *abf3* 杂交, 进一步分析双突变体对ABA敏感性和耐旱性能, 以确定其在ABA信号通路中的作用。结果表明, ABA处理下, *dmard abf3* 的绿胚率及根生长与野生型(Col)无显著差异, ABA敏感性低于 *dmard* 而高于 *abf3*。干旱-复水实验结果表明, *dmard abf3* 的存活率与Col接近, 均低于 *dmard* 高于 *abf3*, *dmard abf3* 植株体内活性氧(ROS)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性均恢复至Col水平。*dmard abf3* 双突变体中 *ABF3*、*RD29A*、*RD29B* 基因表达与Col相似, 在 *abf3* 中这3个基因表达均下调, *dmard* 中均上调。以上实验表明, *dmard* 部分恢复 *abf3* 对ABA的敏感性及早抗氧化的能力, 推测 *DMARD* 是ABA信号中的一个负调控因子, 位于 *ABF3* 的遗传上位。

**关键词:** 拟南芥; *dmard abf3* 突变体; ABA敏感性; 耐旱性能

植物受到外界环境影响时会激发体内产生一系列反应, 如干旱胁迫引起植物体脱落酸(abscisic acid, ABA)信号途径活化。研究表明拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中 *ICK1*、*rd29B*、*rab18* 等抗逆相关基因的启动子区域存在保守的ABA应答元件(ABA responsive element, ABRE), 为ABA信号的标志基因(Kang等2002)。AREB/ABF是bZIP类转录因子, 可以与ABRE结合, 激活干旱胁迫下ABA诱导的基因表达(Choi等2000)。bZIP类转录因子成员 *ABF1* 主要参与低温、ABA胁迫应答反应; *ABF2*/AREB1、*ABF3*、*ABF4* 主要参与干旱、高盐、低温、热、ABA氧化胁迫应答反应(杨颖等2009)。拟南芥过表达 *ABF2*/AREB1、*ABF3* 和 *ABF4* 时, 植株对ABA的敏感性明显提高, 这些bZIP类转录因子是ABA调控信号中的正调控因子(Kang等2002; Fujita等2005)。刘帅等(2012)研究显示, *abf3* (*ABA response element binding factor 3*) 突变体植株叶片的气孔不能关闭, 对外施ABA不敏感。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)、谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)属于抗氧化酶系列成员, 其过量表达可以有效清除植株体内的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 提高多种作物对非生物胁迫的抗性(薛鑫等2013)。植物在遭受

干旱胁迫时通常伴随着ROS中间产物的生成, 形成氧化损伤。这些含氧化合物或基团包括超氧阴离子( $O_2^-$ )、羟自由基( $\cdot OH$ )和  $H_2O_2$  等(赵咏梅2011)。  $O_2^-$  可自发地或通过酶促反应歧化成  $H_2O_2$  (杜秀敏等2001)。SOD催化  $O_2^-$  形成  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,  $H_2O_2$  再在CAT、POD等的作用下转化为  $H_2O$  和  $O_2$ , 从而降低ROS的毒害作用。

我们在前期研究中, 利用T-DNA插入方法获得拟南芥突变体 *dmard* (*defective mitochondrial transcription termination factor acquire resistance to drought*), 发现 *dmard* 存在明显矮化、晚花且叶表面毛状体多等表型。*dmard* 纯合突变体表现为ABA超敏感性及早耐旱性。为了确定 *DMARD* 基因是否为ABA调控信号中的调控因子, 将 *dmard* 突变体与 *abf3* 突变体杂交, 获得 *dmard abf3* 双突变体, 对该双突变体进行鉴定筛选, 获得纯合双突变体。本文主要研究拟南芥 *dmard abf3* 双突变体的ABA敏感性和耐旱性能, 探讨 *dmard* 是否可以恢复 *abf3* 的ABA敏感性和耐旱性能, 以及其中存在的调控机制, 确定 *DMARD* 基因在ABA调控网络中的地位和作用。

收稿 2018-01-04 修定 2018-02-28

资助 国家自然科学基金青年基金项目(31501167)、广东省自然科学基金项目(2015A030310457)、广东省大学生科技创新培育专项资金立项项目(pdjh2016b0142)、华南师范大学创新训练项目(20160517)。

\* 共同通讯作者: 李玲(liling502@126.com)、李晓云(xiaoyun5893@163.com)。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)生态型Columbia-0 (Col)及突变体*dmard*、*abf3*、*dmard abf3*为本实验室筛选保存。按照Li等(2013)的方法培养拟南芥,用75%乙醇溶液(含0.5% Triton X-100)对拟南芥种子进行常规消毒,用无水乙醇快速漂洗吹干后,均匀洒于1/2MS培养基平板。4°C放置2 d进行春化处理。在光照培养箱中(昼夜温度为22°C/20°C,光照周期为16 h光照/8 h黑暗,平均湿度为40%~60%)培养6 d后,将其移栽至灭菌培养土中培养。

### 1.2 DNA提取以及PCR鉴定

取*dmard abf3*拟南芥叶片0.8 g,采用液氮速冻法提取基因组DNA。得到的DNA用无菌水溶解,经1%琼脂糖凝胶电泳鉴定双突变体。参照邓斌等(2016)方法进行PCR验证,所用引物见表1。

### 1.3 干旱存活率、绿胚率和根生长比率测定

将拟南芥置于正常生长条件(22°C, 16 h光照/8 h黑暗,相对湿度60%)下,长至6~8片叶时,浇水至土壤中水分饱和,继续培养20 d,期间保持其他正常培养条件,复水,正常培养3 d后统计存活率,设置重复实验。

种子消毒后点于分别含有0、0.5、2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA的1/2MS固体培养基上,每个株系50颗种子。在4°C冰箱中春化处理2 d后,转移至拟南芥培养室,于正常条件(22°C, 16 h光照/8 h黑暗,相对湿度60%)下培养7 d后,统计绿胚率。重复3次。

种子消毒后点于未加入蔗糖的1/2MS固体培养基上,于4°C冰箱中春化处理2 d,取出放于拟南芥室竖直培养3 d;挑取生长状态接近的幼苗转移至分别加有0、10、50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA的1/2MS固体培养基上(含0.8%的蔗糖),并将平板垂直培养。7 d

后测量主根长度,用SonyFl16数码相机(<http://www.sony.com.cn/>)拍摄主根生长情况,统计拟南芥主根长比率。主根长比率(%)=(添加不同浓度ABA平板上的主根长/未加ABA平板上的主根长) $\times$ 100%。

### 1.4 SOD、CAT、POD活性测定

SOD活性采用比色法测定,所用试剂为同仁化学研究所(<http://www.foodqs.cn/>)的SOD检测试剂盒(S311),测定步骤参照试剂盒说明书。CAT和POD活性使用南京建成生物工程研究所(<http://www.njjcbio.com/>)的CAT试剂盒(A007-2)和POD试剂盒(A084-1)进行测定,测定步骤参照试剂盒说明书。

### 1.5 DAB染色和NBT染色

将材料全部浸染在DAB染色液(含0.02  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液、1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  DAB)中,抽真空5 min,然后置黑暗中培养8 h,光下染色1 h,去染液,加入95%乙醇,隔水加热至绿色全褪,褪色期间不断更换乙醇。褪色后扫描拍照。将材料浸没于NBT染色液(含50  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl、10  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  叠氮化钠、0.1% NBT)中,抽真空5 min,摇床光下染色1.5 h,待叶片染上深色,弃染液,加入95%乙醇,隔水加热至绿色全褪,褪色期间不断更换乙醇。褪色后扫描拍照。

### 1.6 基因表达检测

参照苏良辰等(2017)方法从突变体和Col植株提取总RNA。采用TaKaRa反转录试剂盒合成cDNA,实时定量PCR (real time quantitative PCR, RT-qPCR)检测基因表达水平。所用仪器为ABI 7500 PRISM real-time PCR system (<http://www.appliedbiosystems.com.cn/>)。扩增程序参照文献(陈容钦等2017),检测所用的引物见表2。

表2 RT-qPCR检测拟南芥相关基因表达所用的引物

Table 2 RT-qPCR primers for detection of related gene expression in *Arabidopsis*

表1 PCR鉴定*dmard abf3*双突变体所用引物  
Table 1 PCR primers used to identify the *dmard abf3* double mutant

基因	引物序列(5'→3')
<i>DMARD</i>	F: TGGCTGAGCTGATGGCAATCTTCAC R: GCAGAGACTGAAGAGTTGGAATTGGG
<i>ABF3</i>	F: GGGTCTAGATTAACCTTCAA R: CCAGGGACCCGTCAATGTCC
T-DNA	R: ATGATATTCGGCAAGCAGGCATCGC

基因	引物序列(5'→3')
<i>Actin</i>	F: GATTGGAATGGAAGCTGCTG R: CGGTCAGCAATACCAGGGAA
<i>ABF3</i>	F: TGTCTCACGGCTTTGGAT R: ATCCTCCTTCATCAGCTC
<i>RD29A</i>	F: CTTGTGACGAGAAGCAAAGAA R: TCTTGATGGAGAATTCGTGTCC
<i>RD29B</i>	F: TTCTGACCACCAAACCCAT R: CAGCCAGTGCCTCATGTCC

## 2 实验结果

### 2.1 *dmard abf3*突变体对ABA的敏感性提高

采用三引物PCR法对杂交株系进行DNA检测,相应突变基因(*ABF3*和*DMARD*)在纯合性鉴定中均呈现表达缺失, T-DNA基因均可表达(图1),说明筛选出纯合双突变体。利用该纯合双突变体进行后续实验。

由图2可见,在正常生长情况下,拟南芥突变体和Col株系的绿胚率均为100%;在0.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理下, *dmard abf3*的绿胚率与Col相近, *abf3*比Col低, *dmard*比Col高;而在2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理下,各株系绿胚率均为0。这表明*abf3*对ABA敏感性低, *dmard*对ABA敏感性高, *dmard*与*abf3*杂交后, *dmard*在一定程度上恢复*abf3*对ABA的敏感性。

图3显示,在10或50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ABA处理下,根生长速度均受抑制。 *dmard abf3*根生长抑制程度与Col相比差异不大, *abf3*比Col低, *dmard*比Col高。

从以上ABA敏感性结果分析得出, *dmard abf3*突变体对外源ABA的敏感性高于*abf3*,但低于*dmard*,说明*dmard*在一定程度上恢复了*abf3*对ABA的敏感性。

### 2.2 *dmard abf3*突变体的抗旱能力提高

对拟南芥突变体和Col幼苗在土壤干旱20 d后复水处理的存活率进行测定,结果表明, *dmard abf3*

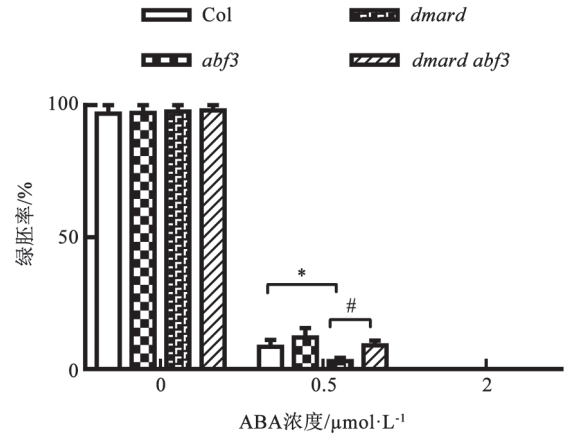


图2 不同浓度ABA处理下*dmard abf3*突变体的绿胚率

Fig.2 The green embryo rate of *dmard abf3* at different concentrations of ABA

\**dmard*与Col或*abf3*差异显著( $P<0.05$ ); #*dmard*与*dmard abf3*差异显著( $P<0.05$ ).

存活率与Col接近,均低于*dmard*,高于*abf3*, *dmard*的存活率最高(图4)。表明*abf3*抗旱能力比Col弱, *dmard*抗旱能力比Col强; *dmard*与*abf3*杂交后, *dmard*在一定程度上恢复了*abf3*的抗旱能力。

### 2.3 *dmard abf3*突变体抗氧化能力提高

分析拟南芥突变体和Col幼苗的SOD、CAT和POD活性,结果表明, *dmard abf3*植株体内酶活性均恢复至Col水平(图5)。SOD活性与NBT的染色结果(图6)一致,表明SOD的活性越高,植株体内积累的 $\text{O}_2^-$ 越少。

对萌发48 h的拟南芥突变体和Col幼苗进行NBT和DAB染色,结果显示, *dmard abf3*双突变体与Col相比,体内 $\text{O}_2^-$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的积累差异不大,表明*dmard abf3*植株体内ROS含量与Col水平一致; *dmard*积累较多的 $\text{O}_2^-$ ,但较少的 $\text{H}_2\text{O}_2$ ; *abf3*积累较少的 $\text{O}_2^-$ ,但 $\text{H}_2\text{O}_2$ 较多(图6)。

从3种过氧化物酶的活性以及ROS含量的结果分析得出, *dmard abf3*突变体过氧化物酶活性以及ROS含量均与Col相似,说明*dmard*可在一定程度上恢复*abf3*的抗氧化能力。

### 2.4 *dmard abf3*提高ABA信号靶基因的表达

对拟南芥突变体和Col株系中基因的表达进行检测, *dmard abf3*双突变体与Col株系ABA信号相关基因*ABF3*及其下游靶基因*RD29A*、*RD29B*的表达相似;与Col比较, *abf3*中*ABF3*、*RD29A*、*RD29B*基因表达均下调, *dmard*中均上调(图7)。

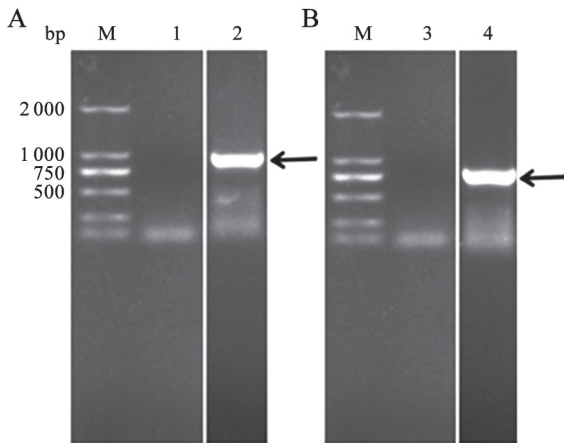
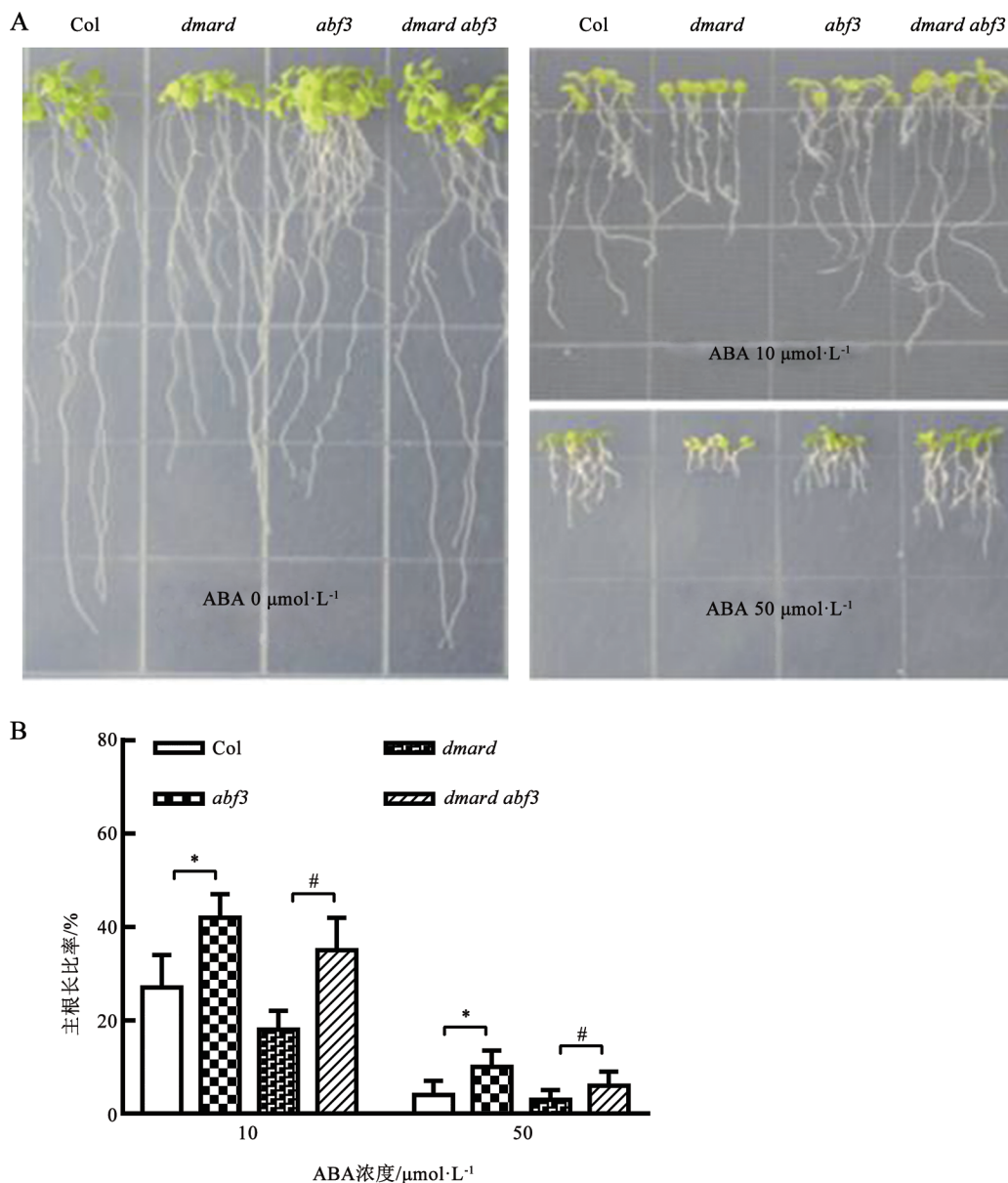


图1 PCR鉴定*dmard abf3*突变体株系

Fig.1 Identification of the *dmard abf3* mutant line by PCR

M: DL2000 DNA marker; 1: *DMARD*基因全长; 2: *dmard* T-DNA插入基因; 3: *ABF3*基因全长; 4: *abf3* T-DNA插入。

图3 ABA浓度对 *dmard abf3* 突变体的根生长表型(A)和根长比率(B)的影响Fig.3 Effects of ABA concentration on root growth phenotype (A) and root length ratio (B) of the *dmard abf3* mutant\*Col与 *abf3* 差异显著 ( $P < 0.05$ ); #*dmard*与 *dmard abf3* 差异显著 ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

过量表达拟南芥 *ABF3* 能提高植物对 ABA 的敏感性, 促进气孔关闭和降低呼吸速率, 从而提高植物对干旱的耐性 (Kang 等 2002; Fujita 等 2005)。 *abf3* 突变体对 ABA 不敏感, 不耐旱。本文研究了 ABA 处理下突变体 *dmard abf3*、*abf3* 和 *dmard* 的绿胚率和根生长状况, 并统计了干旱及复水后的干旱存活率, 发现 *abf3* 对 ABA 敏感性低, 抗旱能力弱;

*dmard* 对 ABA 敏感性高, 抗旱能力强; *dmard* 与 *abf3* 杂交后, *dmard* 可在一定程度上恢复 *abf3* 对 ABA 的敏感性和抗旱能力。Li 等 (2013) 指出, 提高植物体内抗氧化酶活性和相关下游基因的表达, 可以增强植物的耐旱性。我们测定了 *dmard abf3*、*abf3* 和 *dmard* 突变体中 SOD、CAT、POD 活性, 发现 *dmard abf3* 植株体内 3 种酶活性均恢复至 Col 水平。同时通过 NBT 和 DAB 染色直观表示  $\text{O}_2^-$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  这两种

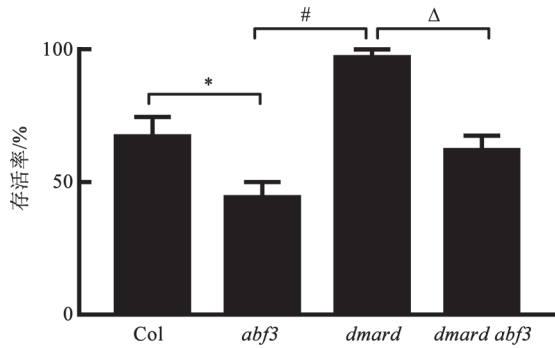


图4 干旱胁迫20 d后dmard abf3突变体的存活率

Fig.4 Survival rate of the dmard abf3 mutant after 20 days' drought stress

\*Col与abf3差异显著( $P<0.05$ ); #abf3与dmard差异显著( $P<0.05$ );  
^dmard与dmard abf3差异显著( $P<0.05$ )。

ROS在各株系幼苗中的积累和分布情况。 $O_2^-$ 可以自发或在SOD作用下歧化成 $H_2O_2$ ，目前认为 $H_2O_2$ 是一种主要的ROS，比其他ROS更稳定，能够进行长距离扩散(Möller和Sweetlove 2010; Bi等2017)。 $H_2O_2$ 在CAT、POD等的作用下转化为 $H_2O$ 和 $O_2$ ，从而降低植株体内ROS含量。*dmard*中 $H_2O_2$ 积累量低，有可能由POD活性高所致。NBT和DAB染色发现*dmard abf3*植株体内ROS含量恢复至Col水平，说明*dmard*一定程度上恢复*abf3*的抗氧化能力。

ABF3是ABA信号调控网络中关键的下游调控因子，并且在ABA介导的植物根生长中起重要作用(Li等2016)。*RD29A*是独立的干旱胁迫诱导

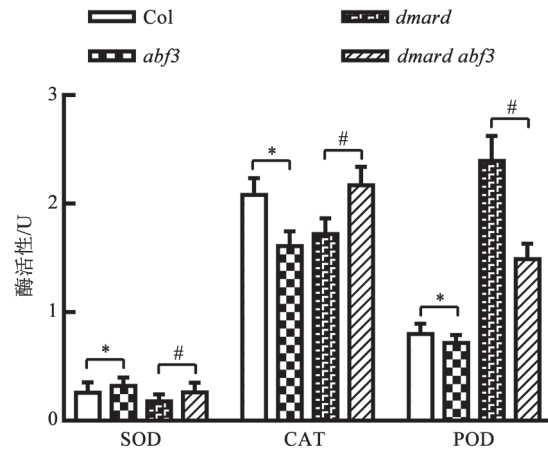
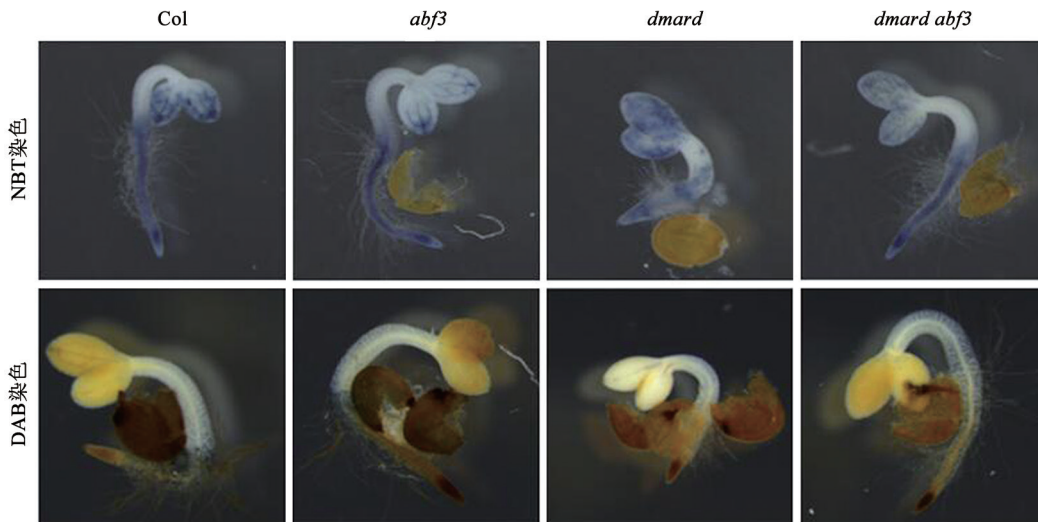


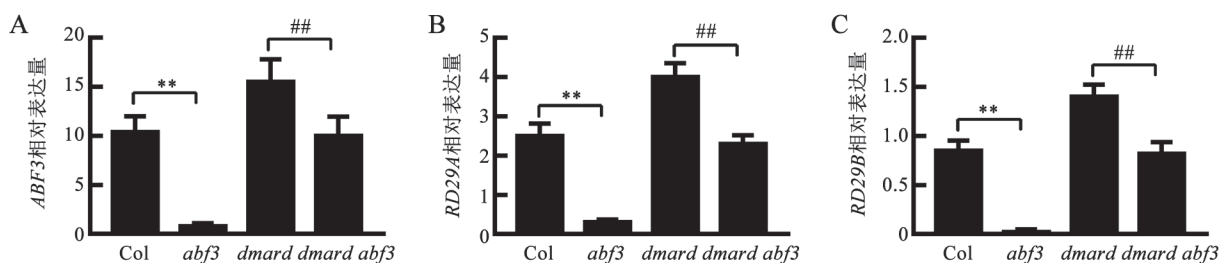
图5 dmard abf3突变体中SOD、CAT和POD活性

Fig.5 SOD, CAT and POD activities in the dmard abf3 mutant

\*Col与abf3差异显著( $P<0.05$ ); #dmard与dmard abf3差异显著( $P<0.05$ )。

表达基因，其表达受干旱、高盐、低温等逆境的胁迫诱导(吴梅花等2005)。*RD29B*基因启动子序列中含有一些应答逆境的特殊元件，如逆境激素ABA响应元件，该启动子是目前常用的逆境诱导型启动子，指导靶基因在特定环境条件下表达产生基因产物(高喜乐等2010)。本文实验结果表明，*dmard abf3*中*ABF3*、*RD29A*、*RD29B*基因的表达与Col相近，而这些基因在*abf3*中表达弱，在*dmard*体中表达均上调。上述结果表明，*DMARD*的转录水平部分受*ABF3*调控，*DMARD*和*ABF3*共同调节ABA信号相关基因的表达。

图6 dmard abf3突变体内 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 染色Fig.6 The staining of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  in the dmard abf3 mutant

图7 *dmard abf3*突变体相关基因的表达Fig.7 The related gene expression in the *dmard abf3* mutant\*\*Col与*abf3*差异极显著( $P<0.01$ ); ##*dmard*与*dmard abf3*差异极显著( $P<0.01$ ).

总之, *dmard abf3*突变体的ABA敏感性、抗旱能力均与Col相似, 这与抗氧化酶活性及相关下游基因的表达的提高有关。Dmard在一定程度上恢复*abf3*对ABA的敏感性及抗旱抗氧化的能力, 在ABA信号通路中, DMARD可能是ABA信号中的一个负反馈因子, 作为ABF3的辅助因子起作用。但是DMARD依赖于ABF3发挥功能的具体分子机制和信号通路有待进一步研究。

### 参考文献(References)

- Bi C, Ma Y, Wu Z, et al (2017). *Arabidopsis* ABI5 plays a role in regulating ROS homeostasis by activating *CATALASE1* transcription in seed germination. *Plant Mol Biol*, 94 (1-2): 197–213
- Chen RQ, Su W, Ge K, et al (2017). Effect on growth and expressions of stress-related genes in peanut under drought stress training. *Plant Physiol J*, 53 (10): 1921–1927 (in Chinese with English abstract) [陈容钦, 舒文, 葛奎等 (2017). 干旱胁迫训练对花生生长及相关基因表达的影响. *植物生理学报*, 53 (10): 1921–1927]
- Choi H, Hong J, Ha J, et al (2000). ABFs, a family of ABA-responsive element binding factors. *J Biol Chem*, 275 (3): 1723–1730
- Deng B, Li L, Li XY, et al (2016). Heterologous expression of *AhHDA1* affects drought resistance of *Arabidopsis* plants. *J South China Norm Univ (Nat Sci)*, 48 (5): 52–57 (in Chinese with English abstract) [邓斌, 李玲, 李晓云等 (2016). *AhHDA1*异源表达影响拟南芥植株干旱性. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 48 (5): 52–57]
- Du XM, Yin WX, Zhao LX, et al (2001). The production and scavenging of reactive oxygen species in plants. *Chin J Biotechnol*, 17 (2): 121–125 (in Chinese with English abstract) [杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修等(2001). 植物中活性氧的产生及清除机制. *生物工程学报*, 17 (2): 121–125]
- Fujita Y, Fujita M, Satoh R, et al (2005). AREB1 is a transcription activator of novel ABRE dependent ABA signaling that enhances droughts tress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 3470–3488
- Gao XL, Wu GJ, Li MR (2010). Construction of plant expression vector harboring *AtCKX1* driven by drought-inducible promoter of RD29B from *Arabidopsis*. *Guihaia*, 36 (3): 4–5 (in Chinese with English abstract) [高喜乐, 吴国江, 李美茹(2010). 拟南芥干旱胁迫诱导型启动子RD29B驱动*AtCKX1*基因植物表达载体的构建. *广西植物*, 36 (3): 4–5]
- Kang JY, Choi HI, Im MY, et al (2002). *Arabidopsis* basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 14 (2): 343–357
- Li XY, Li XL, Li MJ, et al (2016). Dual function of NAC072 in ABF3-mediated ABA-responsive gene regulation in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 7: 1075
- Li XY, Liu X, Yao Y, et al (2013). Overexpression of *Arachis hypogaea* *AREB1* gene enhances drought tolerance by modulating ROS scavenging and maintaining endogenous ABA content. *Int J Mol Sci*, 14 (6): 12827–12842
- Liu S, Zhu MK, Liu X, et al (2012). *Arabidopsis abf3* and *abf4* mutants respond to ABA and salt stress. *J South China Norm Univ (Nat Sci)*, 44 (4): 100–104 (in Chinese with English abstract) [刘帅, 朱明颀, 刘旭等(2012). 拟南芥*abf3*和*abf4*突变体对ABA和盐胁迫响应. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 44 (4): 100–104]
- Möller IM, Sweetlove LJ (2010). ROS signaling-specificity is required. *Trends Plant Sci*, 15 (7): 370–374
- Su LC, Zhong YT, Li L (2017). Physiological regulation of *AhHDA1* on hairy roots of peanut. *Plant Physiol J*, 53 (10): 1893–1900 (in Chinese with English abstract) [苏良辰, 钟钰婷, 李玲(2017). *AhHDA1*对花生毛状根干旱的生理调节作用. *植物生理学报*, 53 (10): 1893–1900]
- Wu MH, Zhang L, Niu Y, et al (2005). Cloning and sequencing of the promoter of stress-inducible gene *rd29A* from *Arabidopsis thaliana*. *Acta Agric Boreali Sin*, 36 (3): 4–5 (in Chinese with English abstract) [吴梅花, 张丽, 牛一等 (2005). 拟南芥逆境胁迫诱导表达基因*rd29A*启动子的克隆与序列分析. *华北农学报*, 36 (3): 4–5]
- Xue X, Zhang Q, Wu JX (2013). Research on active oxygen in plants and its application in plant stress tolerance. *Bio-*

- technol Bull, 10: 6–11 (in Chinese with English abstract)  
[薛鑫, 张芊, 吴金霞(2013). 植物体内活性氧的研究及其在植物抗逆方面的应用. 生物技术通报, 10: 6–11]
- Yang Y, Gao SQ, Tang YM, et al (2009). Research progress on plant bZIP transcription factors. J Triticeae Crops, 29 (4): 730–737 (in Chinese with English abstract) [杨颖, 高世庆, 唐益苗等(2009). 植物bZIP转录因子的研究进展. 麦类作物学报, 29 (4): 730–737]
- Zhao YM (2011). Role of SOD in plant in resisting drought stress. Biol Teaching, 36 (3): 4–5 (in Chinese) [赵咏梅(2011). 植物SOD在抵抗干旱胁迫中的作用. 生物学教学, 36 (3): 4–5]

## ABA sensitivity and drought tolerance of *Arabidopsis dmard abf3* mutant

HUANG Shu-Yan, FENG Jin-Xin, CHEN Jia-Yi, PAN Shi-Yu, ZHANG Yu-Min, CHEN Jian-Pu, LI Ling\*, LI Xiao-Yun\*

Guangdong Provincial Key Laboratory of Biotechnology for Plant Development, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

**Abstract:** In previous study, an *Arabidopsis thaliana* loss-of-function mutant *dmard* (*defective mitochondrial transcription termination factor acquire resistance to drought*) was obtained through a T-DNA insertion mutation screening, and the root growth of *dmard* was hypersensitive to ABA. To further determine the function of *DMARD* gene, ABA response and drought tolerance were observed in the double mutant, which was made by crossing *dmard* with the *abf3*, an *ABA response element binding factor 3* gene defective mutant. The results showed that under the treatment of ABA, the green embryo rate and root growth of seedlings were not significantly different between the *dmard abf3* and Col, while *dmard abf3* was lower than *dmard* and higher than *abf3*. The drought resistance of *dmard abf3* was lower than that of *dmard* and higher than that of *abf3*, but *dmard abf3* was similar to Col, according to the survival rate of plants under drought-rehydration treatment. Furthermore, the content of reactive oxygen species (ROS) and activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) were detected in *dmard abf3* and Col plants, indicating that antioxidant level of *dmard abf3* was close to that of Col. Besides, the expression levels of *ABF3*, *RD29A* and *RD29B* genes were also recovered to Col in *dmard abf3*, while all of these genes were upregulated in *dmard* and were downregulated in *abf3*. Taken together, the ABA response and antioxidant ability of *abf3* were partly restored by losing of *DMARD* function, which indicates that *DMARD* is a negative feedback factor in ABA signalling and epistatic to *ABF3*.

**Key words:** *Arabidopsis*; *dmard abf3* mutant; ABA sensitivity; drought resistance

Received 2018-01-04 Accepted 2018-02-28

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31501167), Guangdong Provincial Natural Science Foundation (2015A030310457), Science and Technology Innovation Special Funds of Guangdong Province (pdjh2016b0142) and South China Normal University Innovative Training Project (20160517).

\*Co-corresponding authors: Li L (liling502@126.com), Li XY (xiaoyun5893@163.com).