

*AhHDA1*对花生毛状根干旱的生理调节作用

苏良辰, 钟钰婷, 李玲*

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: 为研究*AhHDA1*在花生(*Arachis hypogaea*)干旱胁迫响应中的作用, 本文分析了四叶期花生根和叶片在20% (m/V)聚乙二醇6000 (PEG6000)模拟干旱胁迫下*AhHDA1*和干旱响应基因的表达变化, 发现*AhHDA1*、*AhAREB1*和*AhNCED1*在叶片中分别上调表达至原来的4.3、2.6和10.3倍, 在根中分别下调表达91.1%、87.3%和89.2%。基因表达模式提示*AhHDA1*可能与脱落酸(ABA)合成和信号传导有关。通过测定干旱胁迫下35S::eGFP、35S::*AhHDA1*和35S::*AhHDA1-RNAi*毛状根含水量、ABA含量、抗氧化酶活性、过氧化氢(H₂O₂)含量和丙二醛(MDA)含量, 发现35S::*AhHDA1-RNAi*毛状根具有较高的抗旱性和抗氧化能力, 35S::*AhHDA1-RNAi*在干旱胁迫处理后的含水量为75.3%, 脱落酸含量为1.23 μg·g⁻¹, 均显著低于其他两种毛状根, 表明抑制*AhHDA1*表达可提高毛状根细胞的抗旱能力。染色质免疫沉淀(ChIP)分析花生根在干旱胁迫下*AhNCED1*和*AhAREB1*启动子区域H3K14ac抗体富集度变化情况, 结果表明, *AhNCED1*和*AhAREB1*在H3K14位点的乙酰化程度改变分别在转录起始位点(TSS)和近TSS区启动子发生。

关键词: *AhHDA1*; 毛状根; 干旱; 脱落酸; 花生

植物通过组蛋白乙酰化修饰的改变参与植物细胞生长发育和逆境响应, 而组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAs或HDACs)为组蛋白乙酰化动态调节的两类关键酶。HDACs的作用是将组蛋白赖氨酸残基的乙酰基清除, 恢复其所带正电荷, 使原本松弛的核小体变紧密, 从而抑制调控元件和DNA的结合, 进而抑制基因表达(Courey和Jia 2001)。HDACs一般以蛋白复合体的形式发挥转录抑制和基因沉默的功能, 主要在植物生长发育和胁迫响应中发挥重要作用, 同时与细胞死亡和细胞周期相关(Ma等2013; Liu等2014)。在HDACs家族基因中, *AtHDA6*和*AtHDA19*参与影响脱落酸(abscisic acid, ABA)信号响应。*AtHDA6*突变体*axe1-5*和*AtHDA6*干扰拟南芥对ABA超敏感, ABA处理下*ABI1*、*ABI2*、*RD29A*、*RD29B*和*DREB2A*等胁迫响应基因的表达强度降低(Chen等2010)。与*AtHDA6*突变体类似, *AtHDA19*的T-DNA插入突变体*hda19-1*也对ABA信号高度敏感(Chen和Wu 2010)。

在前期研究中, 我们在花生干旱响应转录组中发现并克隆了一个组蛋白去乙酰化酶并命名为*AhHDA1*, 通过蛋白结构分析发现*AhHDA1*属于RPD3/HDA1家族基因, 与*AtHDA6*高度同源(Su等2015)。花生叶片在受到聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)模拟的干旱胁迫时*AhHDA1*基因上调表达。但是*AhHDA1*基因在花生中的功能尚不清楚。本

文利用已构建的*AhHDA1*基因超表达载体及沉默表达载体, 通过遗传转化花生毛状根分析了*AhHDA1*对花生干旱生理的影响, 为研究组蛋白乙酰化修饰调节花生抗旱的分子机制提供基础。

材料与方法

1 植物材料

花生(*Arachis hypogaea* L.)品种‘粤油7号’由广东省农业科学院作物研究所提供。选取饱满花生种子浸泡过夜, 转移至蒸馏水浸湿滤纸的培养皿上, 在光照培养箱中继续培养。种子萌发后, 选择生长状态一致的花生将其种植于盛有泥炭土的塑料花盆中, 昼16 h、28°C, 夜8 h、26°C培养, 相对湿度为60%。

2 材料处理

2.1 PEG模拟干旱处理

采用20% (m/V)的PEG6000溶液模拟土壤干旱。将四叶期花生或毛状根取出洗净后在MS液体培养基中浸泡2 h, 转移至PEG6000溶液中, 干旱处理时间为2 h。花生叶片材料取自第3、4叶位顶端叶片, 根部材料均取自花生的主根, 液氮速冻1~2 min, -80°C保存。毛状根的材料取自诱导培养30 d的转基因花生毛状根, 花生叶片、主根和毛状根均以MS处理2 h作为空对照。

收稿 2017-06-23 修定 2017-10-08

资助 国家自然科学基金(31471422)。

* 通讯作者(E-mail: liling502@163.com)。

2.2 毛状根的培养

取1 mL加有50 mg·L⁻¹利福平和50 mg·L⁻¹卡那霉素的YEP液体培养基,加入不同(35S::eGFP、35S::AhHDA1和35S::AhHDA1-RNAi)发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*) K599 (由实验室保存)菌液于28°C摇床中培养过夜,次日将菌液全部转入100 mL YEP液体培养基中扩大培养4~6 h。取二叶期花生叶片在超净工作台内消毒:10% (V/V)次氯酸钠消毒7 min,无菌水冲洗1 min,75% (V/V)乙醇消毒1 min,无菌水冲洗4次,每次1 min。然后在与叶脉呈垂直处划2~3处伤口,分别置于不同菌液中侵染8~10 min,取出放于已灭菌的吸水纸中吸干多余水分,转移到MS固体培养基中28°C暗培养2 d。取出花生叶片,浸泡于含500 mg·L⁻¹头孢霉素的蒸馏水中3 min,无菌水清洗,灭菌吸水纸吸干多余水分后置于含500 mg·L⁻¹头孢霉素的MS固体培养基中培养。

3 测定指标与方法

将处理后毛状根用吸水纸吸干,用分析天平称取其重量 m_1 。105°C杀青10 min,80°C烘至恒重,再次用分析天平称取其重量 m_2 。相对含水量=(m_1-m_2)/ $m_1 \times 100\%$ 。ABA含量的测定采用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA;武汉华美CSB-E09159PI)。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性,以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)、H₂O₂含量的测定参照Sadeghnezhad等(2016)的方法。

使用ABI 7500荧光实时定量PCR仪进行基因相对表达量检测。扩增程序为:95°C预变性30 s;95°C变性5 s,60°C退火延伸34 s,40个循环。染色质免疫沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)-PCR分析H3K14ac抗体在AhNCED1和AhAREB1染色质富集度的变化,方法按照Tang等(2017)。

4 统计分析

使用SPSS 18.0统计软件,所有数据用平均值±标准差表示,多组平均值之间进行方差齐性检验后,进行方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。使用Microcal Origin 7.5软件作图。

实验结果

1 干旱胁迫下花生幼苗AhHDA1和干旱响应基因在叶片和根中的差异表达

由图1可知,与对照相比,干旱胁迫2 h后花生叶片AhHDA1表达量上调至4.3倍,胁迫调控基因AhAREB1、AhDREB1-like基因分别上调表达至2.6和4.7倍,而下游功能基因ABA合成关键酶基因AhNCED1和脱水素基因AhDHN2表达量分别上调至10.3、18.8倍,AhDREB2-like基因表达无显著变化,表明AhHDA1与功能基因AhNCED1和AhDHN2以及调节基因AhAREB1和AhDREB1-like在花生叶片中响应干旱皆表达上调。

如图2所示,干旱胁迫2 h后花生根部AhDHN2、AhDREB1-like和AhDREB2-like基因均显著上调表达,其表达量分别上调至17.1、67.1和31.5倍;而AhHDA1、AhNCED1和AhAREB1基因下调,表达量分别下调91.1%、87.3%和89.2%。根中AhHDA1基因和干旱响应基因AhNCED1和AhAREB1的表达变化与叶片表现出明显的差别,根中这3个基因经干旱胁迫2 h表达下降,而叶片经干旱胁迫2 h表达上升。同时发现,无论在根中还是在叶片中,AhHDA1基因与AhNCED1、AhAREB1基因的表达趋势是一致的,暗示AhHDA1与AhNCED1、AhAREB1基因响应干旱表达有关。

2 干旱胁迫下AhHDA1对毛状根中含水量和ABA含量的影响

为了解AhHDA1表达水平改变对ABA水平和植物细胞抗旱能力的影响,我们测定了转基因花生毛状根在干旱胁迫前后的含水量和ABA含量。由图3可知,在对照组中,35S::eGFP和35S::AhHDA1-RNAi毛状根的含水量无显著差异,而35S::AhHDA1毛状根的含水量相比较低。干旱处理后,转基因毛状根含水量出现不同程度下降,但35S::AhHDA1-RNAi毛状根的含水量(75.3%)显著高于其他转基因毛状根。与对照组相比,干旱处理组中35S::AhHDA1-RNAi毛状根含水量下降5.2%,而35S::eGFP和35S::AhHDA1毛状根含水量分别下降8.1%和6.5%,表明AhHDA1基因干扰和空对照组毛状根在正常培养下含水量较超表达毛状根高,而在干旱胁迫下AhHDA1基因干扰毛状根的保水能力最高。

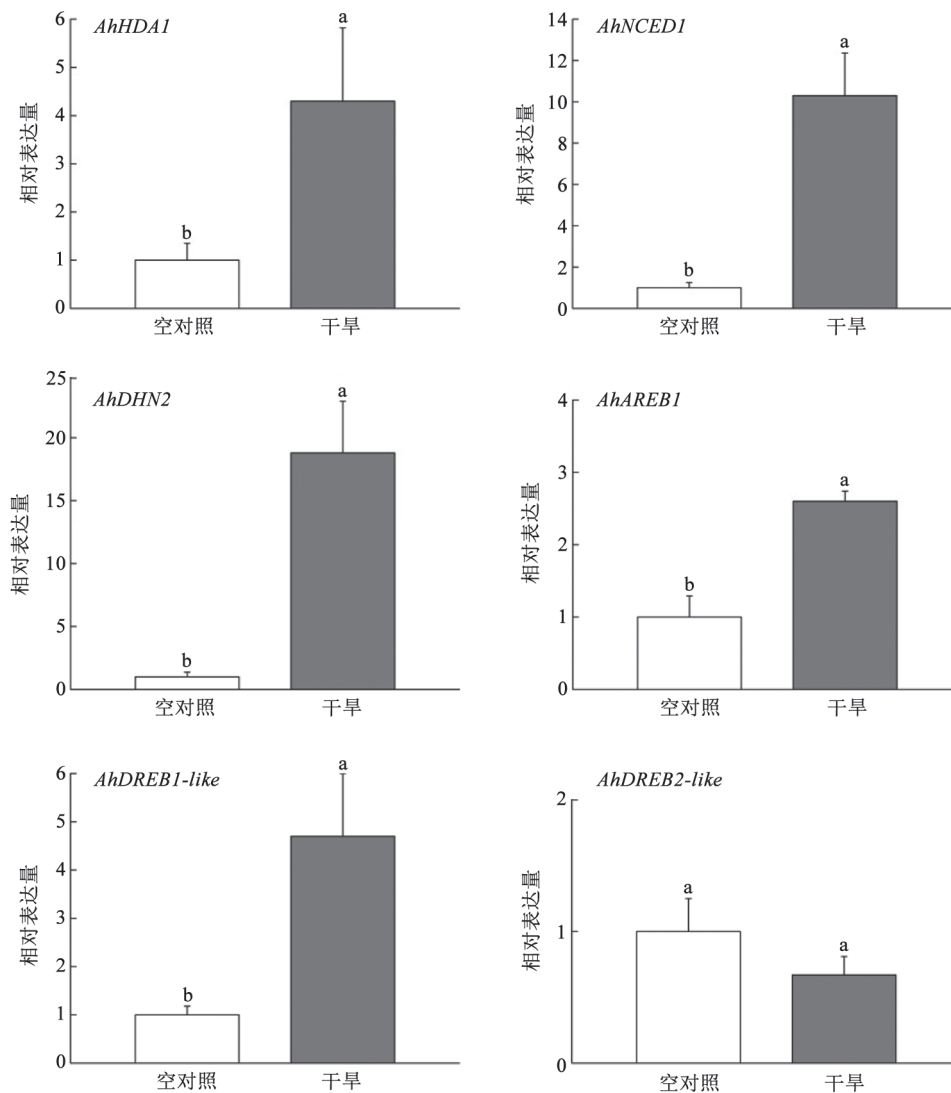


图1 干旱胁迫对花生叶片中干旱响应基因表达的影响

Fig.1 Effect of drought stress on drought-responsive gene expressions in peanut leaves

各柱形上用不同小写字母标识表示数据间差异显著($P < 0.05$), 下图同。

在未处理的转基因毛状根中, $35S::AhHDA1-RNAi$ 毛状根ABA含量($0.56 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)略高于 $35S::eGFP$ 毛状根($0.42 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)和 $35S::AhHDA1$ 毛状根($0.41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$); 干旱胁迫2 h后, $35S::eGFP$ 、 $35S::AhHDA1$ 和 $35S::AhHDA1-RNAi$ 这三种转基因毛状根中ABA含量分别提高到 0.76 、 0.60 和 $1.23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。 $35S::AhHDA1-RNAi$ 干扰毛状根在干旱胁迫后ABA含量显著提高(图4)。

3 干旱胁迫下*AhHDA1*对毛状根中抗氧化酶活性和MDA、 H_2O_2 含量的影响

为研究*AhHDA1*表达是否影响干旱胁迫造成

的细胞抗氧化能力的改变, 我们测定了转基因花生毛状根中SOD和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)活性(图5-A和B), 同时测定了 H_2O_2 和MDA含量(图5-C和D)。结果表明, 干旱胁迫下不同转基因花生毛状根中GPX和SOD的活性出现不同程度的上调, 在RNA干扰(RNA interference, RNAi)的花生毛状根中GPX和SOD活性提高的程度远高于空对照组和超表达组。同时, 干旱处理前后超表达*AhHDA1*毛状根中GPX和SOD活性均显著低于空对照组和*AhHDA1*基因干扰组, 而在*AhHDA1*基因干扰组检测到较高的GPX和SOD活

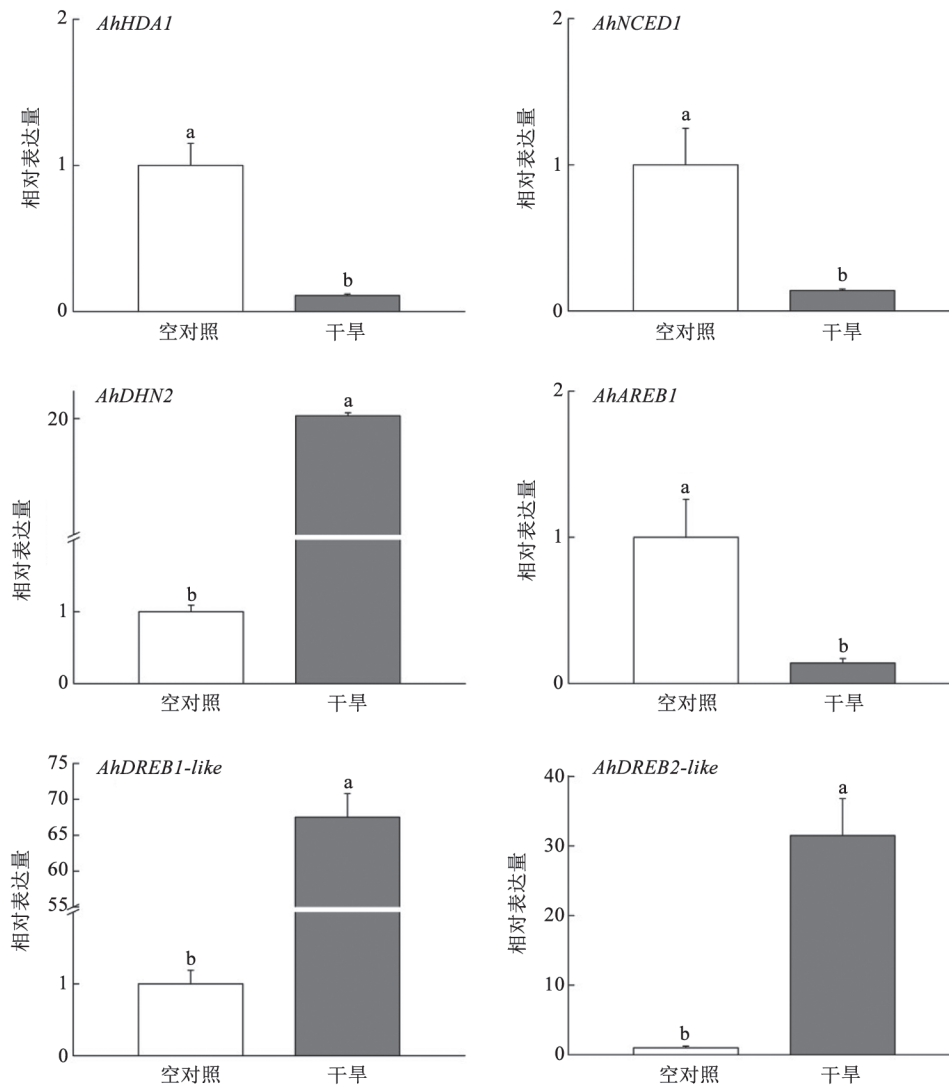


图2 干旱胁迫对花生根中干旱响应基因表达的影响

Fig.2 Effect of drought stress on drought-responsive gene expressions in peanut roots

性,表明抑制*AhHDA1*表达水平的毛状根细胞具有较高的抗氧化酶水平。

图5-C和D表明,在未经干旱处理的转基因花生毛状根中,超表达*AhHDA1*中 H_2O_2 和MDA的含量显著高于空对照组和*AhHDA1*干扰组;在干旱处理的转基因花生毛状根中,各转基因花生毛状根 H_2O_2 和MDA的含量出现不同程度提高,其中超表达*AhHDA1*中 H_2O_2 的含量增加到 $21.8 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,空对照组中 H_2O_2 的含量增加到 $11.5 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,而*AhHDA1*干扰组中 H_2O_2 的含量增幅不大。干旱处理的超表达*AhHDA1*毛状根中MDA的含量增加到 $8.5 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,空对照组中MDA的含量增加到 $3.1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,

而*AhHDA1*干扰组中MDA的含量增至 $1.9 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。超表达转基因毛状根在干旱处理下 H_2O_2 和MDA的增加幅度最高。

4 干旱胁迫下根中*AhNCED1*和*AhAREB1*启动子不同区段活性变化

如图6-A所示,超声波破碎后,核酸片段主要集中在500 bp以下,符合ChIP-PCR对于DNA的要求。按照图6-B所示的*AhNCED1*和*AhAREB1*启动子区域分析H3K14ac抗体的富集程度,结果表明,H3K14ac抗体在*AhNCED1*启动子转录起始位点(transcriptional start site, TSS)区域富集度提高,而在*AhAREB1*启动子TSS、pA2和pA3启动子区域富集度显著下调(图

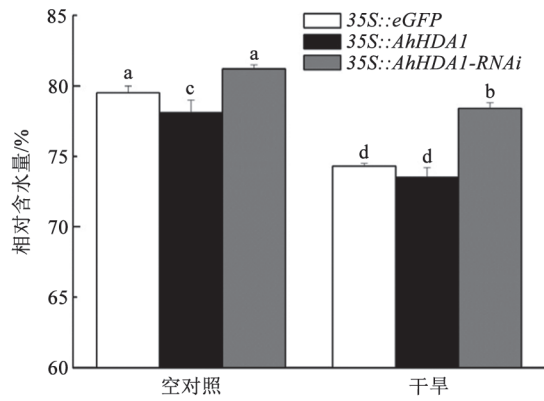


图3 干旱胁迫下转基因毛状根中相对含水量的变化
Fig.3 Changes in relative water content in transgenic hairy roots under drought stress

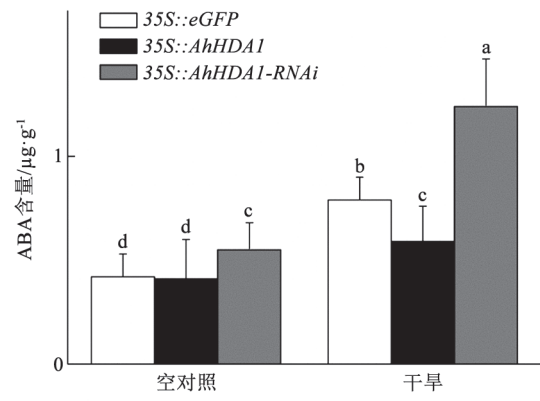


图4 干旱胁迫下转基因毛状根中ABA含量的变化
Fig.4 Changes in ABA content in transgenic hairy roots under drought stress

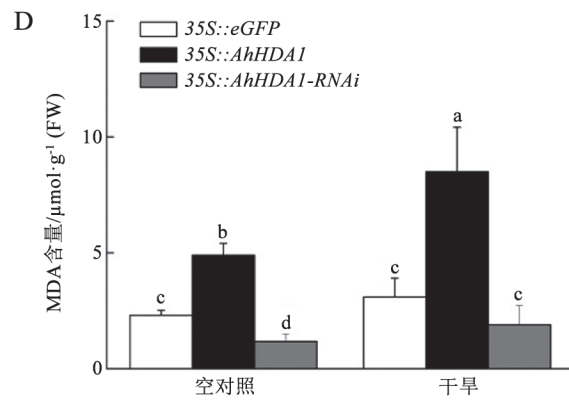
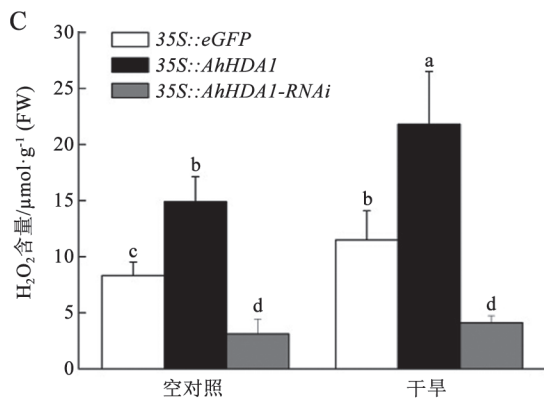
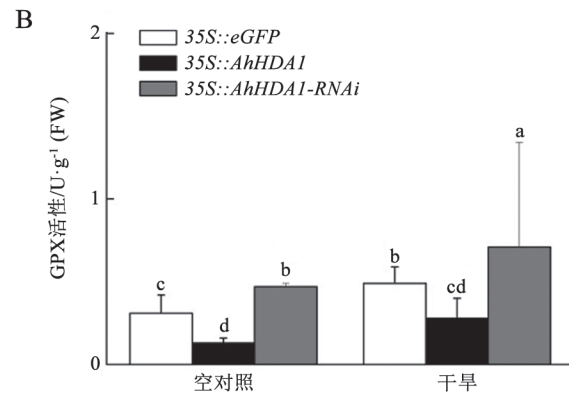
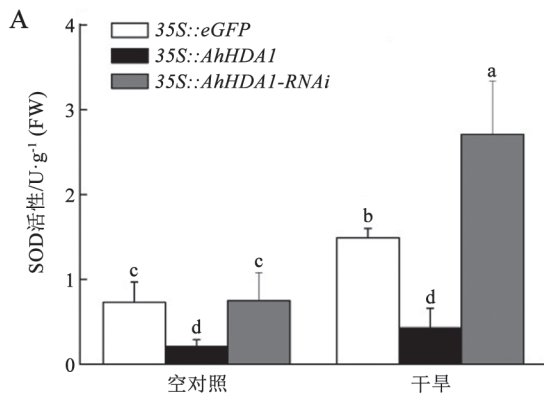


图5 干旱胁迫对转基因毛状根中SOD、GPX活性和H₂O₂、MDA含量的影响
Fig.5 Effect of drought stress on activities of SOD and GPX and contents of H₂O₂ and MDA in transgenic hairy roots

6-C), 说明在干旱胁迫下, *AhNCED1*启动子TSS区域组蛋白乙酰化程度有所提高, 而*AhAREB1*启动子在TSS区域和接近TSS区域染色质的组蛋白乙酰化程度明显下降。结果表明花生根部经干旱胁迫2 h, *AhNCED1*基因在H3K14位点组蛋白乙酰化程

度提高, *AhAREB1*基因在H3K14位点组蛋白乙酰化程度下降。

讨 论

植物为适应环境胁迫, 通过复杂的分子调控

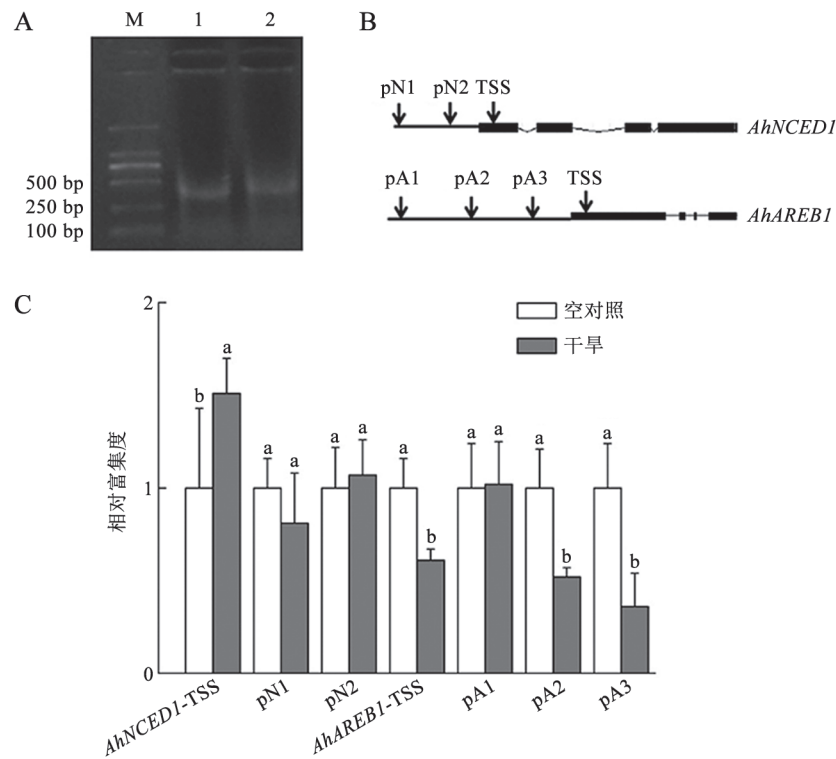


图6 ChIP-qPCR检测花生根在干旱胁迫下*AhNCED1*和*AhAREB1*染色质组蛋白乙酰化程度

Fig.6 *AhNCED1* and *AhAREB1* histone acetylation degrees in peanut roots under drought stress by ChIP-PCR

A: 超声波破碎后染色质片段检测(M: marker DL2000; 1: 空对照组; 2: 经PEG处理2 h); B: *AhNCED1*和*AhAREB1*基因结构图; C: ChIP-qPCR检测H3K14ac抗体在*AhNCED1*和*AhAREB1*染色质富集程度。pN1: *AhNCED1*启动子-1 438~-1 338 bp区域; pN2: *AhNCED1*启动子-326~-201 bp区域; TSS: 转录起始位点; pA1: *AhAREB1*启动子-1 473~-1 369 bp区域; pA2: *AhAREB1*启动子-1 067~-957 bp区域; pA3: *AhAREB1*启动子-765~-678 bp区域。不同区域的相对富集度数值之间不能比较。

网络影响信号传递途径和抗逆基因表达(Hirayama和Shinozaki 2010)。ABA依赖途径和ABA非依赖途径是影响干旱胁迫响应基因表达的两种重要方式。ABA依赖途径的胁迫响应基因可通过ABRE顺式作用元件与AREB/ABFs蛋白结合响应; 而ABA非依赖途径的胁迫响应基因通过DREB/CBFs蛋白调控(Yoshida等2014)。在本文的研究中, 叶片中*AhHDA1*、*AhNCED1*、*AhDHN2*、*AhAREB1*、*AhDREB1-like*基因在干旱胁迫下呈现上调表达, 而根部中仅*AhDHN2*、*AhDREB1-like*和*AhDREB2-like*基因表达上调, *AhHDA1*、*AhNCED1*和*AhAREB1*基因表达下调。*AhHDA1*、*AhNCED1*和*AhAREB1*基因表现出一致的表达趋势, 提示*AhHDA1*与ABA合成以及ABA信号响应相关, 参与ABA依赖途径的信号传递, 而*AhDHN2*、*AhDREB1-like*和*AhDREB2-like*基因同时在ABA依赖途径和ABA非依赖途径中发挥作用。在拟南芥的研究中, *ABI1*、*ABI2*、

DREB2A、*RD29A*、*RD29B*等ABA信号传导相关基因受HDA6和HDA19影响(Chen等2010; Chen和Wu 2010), 表明HDA6和HDA19参与ABA信号传递。以上结果说明, 花生根部和叶片中*AhHDA1*水平与*AhNCED1*以及*AhAREB1*基因表达有关。

本文研究表明, 超表达*AhHDA1*毛状根相对含水量和ABA含量较低。与之相反, 干旱胁迫下*AhHDA1*干扰毛状根保水能力和ABA含量较高。SOD是ROS防御的第一道防线, 清除植物体内的超氧阴离子, 使其发生歧化反应生成 H_2O_2 , 从而清除活性氧, 减轻由干旱胁迫造成的膜系统损伤。GPX是植物体内清除氧自由基的主要酶类, 在清除活性氧过程中具有重要作用(马立功等2015)。植物应对干旱胁迫过程中, 体内活性氧代谢增强使 H_2O_2 发生积累, MDA毒素物质增加。过表达*AhHDA1*毛状根的GPX和SOD活性较低, 而干扰表达*AhHDA1*毛状根的GPX和SOD活性较高, 且受到干旱胁迫

后GPX和SOD活性上升幅度最大,呈现较高的抗氧化能力。过表达的*AhHDA1*毛状根H₂O₂和MDA含量均较高,且在干旱胁迫下H₂O₂和MDA含量增幅较大。*AhHDA1*干扰毛状根表现出较强的抗旱能力。在干旱条件下,拟南芥中异源表达*AhHDA1*、*NCED3*和*ABF3*基因表达下调,同时超表达*AhHDA1*拟南芥抗旱能力降低(邓斌等2016)。以上结果均表明*AhHDA1*响应于干旱和ABA信号,可能通过参与ABA合成和信号通路调控影响植物抗旱性,但其作用机制未知。

本研究图6的结果表明,经干旱胁迫2 h,花生根*AhNCED1*启动子TSS区域组蛋白H3K14位点乙酰化程度提高,而*AhAREB1*启动子在TSS区域和接近TSS区域染色质的组蛋白H3K14位点乙酰化程度明显下降。干旱所引起的组蛋白乙酰化位点改变主要通过H3K9位点调节,这种调节可能主要与ABA非依赖途径相关联,随着干旱引起花生叶片细胞中ABA的积累,H3K14位点的乙酰化随之发生改变。而ABA引起的组蛋白乙酰化位点改变主要通过H3K14位点调节,H3K14位点主要通过调节ABA依赖途径发挥作用(Su等2015)。*AhAREB1*属ABA依赖途径关键调控基因,因此其H3K14位点的乙酰化程度下降。*AhNCED1*既受ABA依赖途径调节又受ABA非依赖途径调节,可能还发生在组蛋白其他乙酰化位点修饰程度的改变中。出现这种现象可能与*AhHDA1*的下调表达相关。

综上所述,*AhHDA1*基因的干扰能使毛状根的保水能力变强;*AhHDA1*抑制表达毛状根抗氧化系统的活性提高,有较高的抗氧化能力且遭受干旱受害程度轻,具备较强的抗旱性能;而过表达*AhHDA1*毛状根含水量相对偏低,抗氧化能力弱,易受干旱影响。*AhHDA1*基因可能通过其表达的强弱改变ABA信号通路关键基因*AhAREB1*及下游基因*AhNCED1*,影响花生在干旱胁迫下的调节能力,从而影响植物的抗旱性。*AhHDA1*是否直接调控*AhAREB1*和*AhNCED1*基因表达还不明确,其调控的分子机制尚需深入研究。

参考文献

- Chen LT, Luo M, Wang YY, Wu K (2010). Involvement of *Arabidopsis* histone deacetylase HDA6 in ABA and salt stress response. *J Exp Bot*, 61 (12): 3345–3353
- Chen LT, Wu K (2010). Role of histone deacetylases HDA6 and HDA19 in ABA and abiotic stress response. *Plant Signal Behav*, 5 (10): 1318–1320
- Courey AJ, Jia S (2001). Transcriptional repression: the long and the short of it. *Genes Dev*, 15 (21): 2786–2796
- Deng B, Li L, Li X, Su L, Cui W, Feng J (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, 苏良辰, 崔威韬, 冯锦欣(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]
- Hirayama T, Shinozaki K (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J*, 61: 1041–1052
- Li RX, Sun RJ, Wang TC, Chen DD, Li RF, Li L, Zhao WG (2017). Research progress on identification and evaluation methods, and mechanism of drought resistance in plants. *Biotechnol Bull*, 33 (7): 40–48 (in Chinese with English abstract) [李瑞雪, 孙任洁, 汪泰初, 陈丹丹, 李荣芳, 李龙, 赵卫国(2017). 植物抗旱性鉴定评价方法及抗旱机制研究进展. 生物技术通报, 33 (7): 40–48]
- Liu X, Yang S, Zhao M, Luo M, Yu CW, Chen CY, Tai R, Wu K (2014). Transcriptional repression by histone deacetylases in plants. *Mol Plant*, 7 (5): 764–772
- Ma LG, Meng QL, Zhang JH, Liu ZH, Wang ZY (2015). Clone and function of a glutathione-S-transferase gene from sunflower (*Helianthus annuus*). *Chin J Oil Crop Sci*, 37 (5): 635–643 [马立功, 孟庆林, 张匀华, 刘志华, 王志英. 向日葵谷胱甘肽-S-转移酶基因的克隆及抗病功能研究(2015). 中国油料作物学报, 37 (5): 635–643]
- Ma X, Lv S, Zhang C, Yang C (2013). Histone deacetylases and their functions in plants. *Plant Cell Rep*, 32 (4): 465–478
- Sadeghnezhad E, Sharifi M, Zare-Maivan H (2016). Profiling of acidic (amino and phenolic acids) and phenylpropanoids production in response to methyl jasmonate-induced oxidative stress in *Scrophularia striata* suspension cells. *Planta*, 244: 75–85
- Su LC, Deng B, Liu S, Li LM, Hu B, Zhong YT, Li L (2015). Isolation and characterization of an osmotic stress and ABA induced histone deacetylase in *Arachis hyogocaea*. *Front Plant Sci*, 6: 512
- Tang Y, Liu X, Liu X, Li Y, Wu K, Hou X (2017). *Arabidopsis* NF-YCs mediate the light-controlled hypocotyl elongation via modulating histone acetylation. *Mol Plant*, 10 (2): 260–273
- Yoshida T, Mogami J, Yamaguchi-Shinozaki K (2014). ABA-dependent and ABA-independent signaling in response to osmotic stress in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 21: 133–139

Physiological regulation effect of *AhHDA1* on peanut hairy roots to drought stress

SU Liang-Chen, ZHONG Yu-Ting, LI Ling*

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

Abstract: To study the function of *AhHDA1* on drought response in peanut (*Arachis hypogaea*), the expression changes of *AhHDA1* and drought-responsing genes have been analyzed in roots and leaves of four-leaf peanuts with 20% (m/V) polyethylene glycol 6000 (PEG6000) treatment, which was simulated as the drought stress condition. The expressions of *AhHDA1*, *AhAREB1* and *AhNCED1* in leaves were found to be up-regulated to 4.3, 2.6 and 10.3 folds, respectively, while *AhHDA1*, *AhAREB1* and *AhNCED1* in roots were found to be reduced by 91.1%, 87.3% and 89.2%, respectively. The expression pattern implies abscisic acid (ABA) synthesis and signal transduction might be related to *AhHDA1*. By measuring water content, ABA content, antioxidant enzyme activities, H₂O₂ and malondialdehyde (MDA) contents in *35S::eGFP*, *35S::AhHDA1* and *35S::AhHDA1-RNAi* hairy roots, *35S::AhHDA1-RNAi* hairy roots possessed higher level of drought capacity and antioxidant ability. Water content of *35S::AhHDA1-RNAi* hairy roots was 75.3% and ABA content of *35S::AhHDA1-RNAi* hairy roots was 1.23 μg·g⁻¹, which were significantly lower than the other two hairy roots. The inhibition of *AhHDA1* expression improved the drought capacity of hairy roots cells. The enriched degree of H3K14ac on *AhNCED1* and *AhAREB1* promoters in the roots with drought treatment was also analyzed. It showed histone acetylation of *AhNCED1* and *AhAREB1* changes on H3K14 locus at TSS (transcriptional start site) and near TSS, respectively.

Key words: *AhHDA1*; hairy root; drought; abscisic acid; peanut

Received 2017-06-23 Accepted 2017-10-08

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31471422).

*Corresponding author (E-mail: liling502@126.com).