

文章编号:1003-8701(2005)04-0025-06

植物抗非生物胁迫基因工程的研究进展

杨贵春¹,高继国²,邢少辰¹

(1.吉林省农科院生物技术研究中心,吉林 公主岭 136100;2.东北农业大学,哈尔滨 150030)

摘 要:非生物胁迫因子有干旱、盐渍、低温、风害、重金属、臭氧和紫外辐射等,是制约植物生长、提高农作物产量与质量的重要因素。主要综述了植物抗旱、耐盐和耐低温3方面基因工程的研究进展,论述了植物抗逆基因工程研究策略及今后的研究方向。

关键词:植物;基因工程;非生物胁迫

中图分类号:Q78

文献标识码:A

非生物胁迫因子(如干旱、盐渍、低温)是制约植物生长、提高农作物产量与质量的重要因素。水资源短缺以及土壤盐渍化是目前制约农业生产的一个全球性问题,全球20%的耕地受到盐害威胁,43%的耕地为干旱、半干旱地区。自然环境下温度是决定植物地域分布的主要限制因子,在栽培条件下更影响着农作物及园艺植物等产量和品质。低温胁迫常使农作物产量受到限制、使某些起源于热带和亚热带地区的植物因其冷敏感性而无法在温带以北地区露地安全越冬。分子生物学的发展打破了动物、植物、微生物的传统界限,为创造丰富的植物育种资源开辟了无限的空间。

1 植物抗旱、耐盐基因工程研究进展

植物暴露在自然环境中,时刻受到环境因子的影响,干旱、盐胁迫等非生物逆境严重影响了植物的生存和产量。它们均造成植物细胞缺水,产生干旱信号,诱导植物的抗旱反应。抗旱研究工作最早以酵母、细菌为模式生物,研究了生物的抗旱机理,克隆了一些抗旱基因,并在植物上得以验证。最近抗旱工作的研究重点转向了高等植物。

1.1 渗透保护物质(Osmoprotectant)生物合成的基因

许多植物在水分胁迫条件下会积累小分子相溶性溶质或渗压剂。通过基因工程的手段,已成功克隆出一批能有效地提高植物的渗透调节能力、增强植物的抗逆性基因。这类基因可分为如下3类:

①氨基酸合成的关键基因

编码氨基酸合成的关键基因中以脯氨酸合成酶基因的研究较为深入,至今已从水稻、黑麦、绿豆、大豆、拟南芥、苜蓿和榆钱菠菜等植物中克隆出了多个与脯氨酸合成酶相关的基因,即脯氨酸合成酶基因族。其中包括吡咯啉-5-羧酸合成酶(Pyrroline-5-carboxylate synthetase)基因P5CS及PVAB2,吡咯啉-5-羧酸还原酶(Pyrroline-5-carboxylate reductase)基因P5CR及PproC1;榆钱菠菜脯氨酸转运蛋白(Proline transport protein)基因AhProT1^[1]。其他编码氨基酸合成的基因有西红柿中编码S-腺甘甲硫氨酸合成酶(Sadenosyl methionine synthetase)基因SAM1和SAM3^[2],拟南芥中编码硫醇蛋白酶(Thiol-protease)的rd19A、rd21A基因^[3]等。

②季铵类化合物(如甜菜碱和胆碱等)合成的基因

收稿日期:2005-01-27

基金项目:国家转基因植物研究与产业化开发(J99-B-001)

作者简介:杨贵春(1967-),男,吉林省公主岭人,吉林省农科院生物研究中心副研究员,主要从事作物遗传育种与分子生物学研究。

甜菜碱生物合成的前体为乙酰胆碱,高等植物中的乙酰胆碱由胆碱单加氧酶(Cholin monooxygenase, CMO)或胆碱脱氢酶、甜菜碱醛脱氢酶(Betaialdehyde dehydrogenase, BADH)两步催化合成甜菜碱。现已在菠菜、甜菜中成功克隆出 CMO 基因^[4]。从烟草中克隆出 CDH 基因,从甜菜、菠菜、山菠菜、大麦、水稻及木本植物海榄雌中克隆出 BADH 基因^[5],此外,乙酰胆碱氧化酶(Cholinoxidase, COD)因为可以把乙酰胆碱一步合成甜菜碱而日益受到人们的关注,目前, *codA* 基因已从水稻拟南芥中成功克隆^[6]。

③编码糖醇类及偶极含氮类化合物生物合成的基因

肌醇甲基转移酶基因 (Inositol O-methyltransferase, *Int1*) 是从生长于南非沙漠中的冰叶午时花 (*Mesembryanthemum crystallinum*) 的 cDNA 文库中分离得到的^[7],该基因在盐碱或干旱胁迫下诱导表达,合成一种具有较强亲水能力的多羟基糖醇化合物——芒柄醇。甘露醇和山梨醇属于多元醇,亲水力强,利于增强植物的抗盐碱性,1-磷酸甘露醇脱氢酶基因(*Mmannito-1-phosphate dehydrogenase, mtlD*)和 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因(*Glucitol-6-phosphate dehydrogenase, gutD*)都是从大肠杆菌中克隆的分别编码这两种醇的关键基因^[8],并已在部分植物中转化获得成功。

海藻糖也是细胞渗透调节时产生的重要相溶性物质之一,海藻糖 6-磷酸合成酶基因家族(*Trehalose-6-phosphate synthase, TPS*)是从拟南芥、复苏植物 *Selaginella lipidophylla* 等真核生物中分离得到的海藻糖合成酶基因,现已克隆出 *Tps1* 基因和 *Tps2* 基因^[9],分别控制海藻糖合成的两个关键步骤。果聚糖是果糖的多聚分子,由于其高可溶性使植物的渗透调节能力提高,果聚糖转移酶基 *sacB*(*Levan-sucrase gene*)则是从细菌中分离出的合成果聚糖的关键酶编码基因。

1.2 编码与水分胁迫相关的功能蛋白的关键基因

植物体可以通过调控水孔蛋白等膜蛋白以加强细胞与环境的信息交流和物质交换,通过调控 *Lea* 等逆境诱导蛋白提高细胞渗透吸水能力,从而增强抗旱、耐盐能力。

水孔蛋白、 H^+ -ATPase 和 Na^+/H^+ 反向运输蛋白在调节细胞水势和胞内盐离子分布中起信号传导作用。植物水孔蛋白可分为 3 类: TIP(Tonoplast intrinsic protein 液泡膜水通道蛋白)、MIP(major intrinsic protein 主体水通道蛋白)及 NLM(Nodulin26-like major intrinsic protein 与 nodin26 近缘的主体水通道蛋白)。拟南芥中有 30 个基因编码水孔蛋白,12 种属于 TIP、12 种属于 MIP、6 种属于 NLM。编码 Na^+/H^+ 反向运输蛋白的基因包括拟南芥中克隆的 *AtNHX1* 基因、小麦(*Triticum aestivum*)中的 *TαNHX1* 基因、水稻中的 *OsNHX1* 基因和拟南芥中的 *SOS1*^[10]等。

晚期胚胎发生丰富蛋白(The late-embryogenesis abundant proteins, LEA 蛋白)是一种脱水保护剂,能够在水分胁迫下保护生物大分子,有关 LEA 基因的克隆起步较早,仅从棉花中就已克隆出了 11 个相关基因,分别是 D19、B19.1、D11、rab、16AD、D7、HVA1、D113、le25、D29 和 D34^[11],随后又从拟南芥中克隆了 *COR15a* 和 *pRABAT11*^[12],从二棱大麦幼苗中克隆了 *HDCS1*^[13]。

脱水素(Dehydrin)是一种广泛存在于高等植物中的干旱诱导蛋白,具有很强的亲水性和热稳定性。脱水素是一个大的基因家族,目前已有多个脱水素基因或相关基因被克隆及定位,如大麦中 *dhn1* *dhn11*^[14]、玉米中的 *dhn1/rab17* 和 *dhn2*^[15]以及拟南芥中的 *dhnX*、*cor47*、*rab18*^[16]等。赵恢武等根据已知植物脱水素基因的保守区域设计引物,从耐旱植物厚叶菟耳草的 cDNA 中扩增出脱水素基因家族的一个成员-BDN1 基因的全长 cDNA^[17]。

1.3 与信号传递和基因表达相关的调控基因

在环境胁迫下,植物体能够通过信号传导作用启动或关闭某些相关基因,以达到抵抗逆境的目的。各种研究表明,蛋白激酶在信号传递过程中起重要作用,至今已研究的与植物干旱、高盐应答有关的植物蛋白激酶主要有:与感受发育和环境胁迫信号有关的受体蛋白激酶(Receptor protein kinase, RPK),与植物对干旱、高盐、低温、激素(乙烯、脱落酸、赤霉素和生物素)等反应的信号传递有关的促分裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinase, MAPK),通过增加某些特定蛋白的合成使植物对外界胁迫做出反应的核糖体蛋白激酶(Ribosomal protein kinase),主要参与生物生长、细胞周期、染色体正常结构与维持多种生命活动相关基因表达的转录调控蛋白激酶(Transcription regulation protein kinase, TRPK),以及钙依赖而钙调素不依赖的蛋白激酶(Calcium/calmodulin independent protein kinase, CDPK)

等。小麦 PKABA1 是最早分离的植物蛋白激酶基因,为干旱、低温、NaCl、ABA 所诱导,从拟南芥中也分离了为数众多的蛋白激酶基因,包括两种 MARK 基因,一个是 ATMP3 (编码 MAPK),另一个是 ATMPKK1(编码 MATPKKK);两种 CDPK 基因,即 AtCDPK1 和 AtCDPK2,都是逆境信号传导的正调节物;其他编码蛋白激酶的基因还有 SOS2、RPK1^[18]等。

目前,抗逆相关的转录因子的研究也日益受到重视,它们可以控制一系列的下游胁迫反应,从而启动信号传导中的级联反应,使细胞产生相应的抗逆性。至今,已克隆出了大量的与植物抗旱、耐盐相关的转录因子。拟南芥中已发现的相关转录因子有 DREB1A~C 和 DREB2A~B, CBF1~3、Hs、AtGluR2、ATHB6、SCOF1 和 Atmyb2 等。

最近在拟南芥和烟草中还发现双组分系统(Two component system)基因的存在,其基因产物为“感受器”和“反应调节器”合二为一的激酶蛋白。拟南芥的双组分系统基因 ATRR1 和 ATRR2 受干旱、高盐及低温的诱导。烟草相关转录因子有 DREB1A~C 和 DREB2A~B, CBF1~3、Hs、AtGluR2、ATHB6、SCOF1 和 Atmyb2 等。NTHK1 和 NTHK2 则受高盐胁迫处理的诱导^[19]。

1.4 与细胞排毒、抗氧化防御能力相关的酶基因

在水分胁迫下,植物体内会产生一系列的解毒剂,以清除体内活性氧,使细胞免受毒害。其中最明显的是合成与清除活性氧有关的酶类,现在已知的编码这些酶的关键基因包括编码抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)的 HvAPX1(大麦)、Apx3(拟南芥)、SxAPX(盐地碱蓬)^[20]。

2 植物抗寒基因工程研究进展

由于对植物抗寒分子机制认识的不断深入,现已知植物的抗寒性涉及到众多基因,根据其产物功能可简单地归为两大类:“调控基因”如 CBFs 和“保护基因”COR(cold-regulated gene)。调控基因的产物对信号的传递及保护基因的表达起到调控作用;而保护基因的产物则直接起到抗寒保护作用。目前植物抗寒基因工程研究主要是围绕这两类基因展开的。

2.1 转保护基因策略

低温伤害涉及到很多方面,如膜伤害、渗透胁迫和蛋白质变性等。每种伤害都有一个临界温度,如果低温强度超过了此临界点,都有可能造成致命的威胁,所以降低每种伤害的温度临界点至关重要。

2.1.1 转入与膜稳定性相关的基因

膜是低温伤害的原初位点。许多研究表明,细胞膜的相变温度越低,抗寒性就越强,降低植物的膜相变温度可以增强植物的抗寒性。而膜的相变温度高低与膜脂所含脂肪酸的饱和程度最为密切。不饱和度高,相变温度就低,抗寒性强。因此,导入脂肪酸去饱和代谢关键酶基因,通过降低脂肪酸的饱和度可以提高植物的抗寒性。Kodama 将拟南芥叶绿体中 ω -3 脂肪酸脱氢酶基因 *fad7* 导入烟草中,所获得转基因烟草抗寒性增强^[21]。Ishizaki-Nishizawa 等^[22]将从蓝细菌(*Anacystis nidulans*)中克隆的 $\Delta 9$ -去氢酶的基因 *Des9* 转入到烟草后,发现转基因烟草中受修饰的 $\Delta 9$ -单饱和脂肪酸的含量与野生型相比增加了 16 倍,植物的半致死温度(LT50)也明显降低。

低温使膜受伤害另外一个重要的原因就是因为在体内累积了过量的活性氧(ROS),导致膜脂过氧化加剧、膜蛋白聚合变性,膜流动性降低,透性增大以及正常结构遭到破坏。在正常情况下由超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和还原氢酶(CAT)组成的防御系统可以清除体内一定量的活性氧,但是在低温下由于酶活性下降以及 ROS 产量剧增,所以这种防御能力就显得很有限。SOD 是这个防御系统中最关键的酶,直接将活性氧自由基转化为过氧化氢。通过基因工程方法在植物体内过表达 SOD 基因则表现出良好的抗氧化能力。McKersie 等^[23]通过 pEXSOD 载体将拟南芥 Fe-SOD 基因转入紫花苜蓿中,经过两年的大田试验发现转基因植株越冬存活率大大提高。前不久, Samisk 等^[24]将 Mn-SOD 基因导入到紫花苜蓿,不仅提高了转基因植物的膜稳定性,同时还使植物的生物量得到增加。

2.1.2 转入与抗渗透胁迫相关的基因

低温引起的次生干旱造成的渗透胁迫不仅给生物膜造成严重的伤害,同时也使内源可溶性蛋白变性、胞内有序的空间结构打乱。所以很长一段时间以来,缓解渗透胁迫一直是植物抗逆境研究的重

点。现发现有两类物质可以很好地缓解植物渗透胁迫压力。一类是如脯氨酸、糖和甜菜碱等小分子渗透调节物质,通过转移与其代谢有关的酶,提高其体内含量,可以增强植物的抗渗透胁迫能力。Nnajo^[25]将脯氨酸脱氢酶(脯氨酸降解关键酶)反义基因 *AtproDH* 的 cDNA 转入到拟南芥中,很好地抑制了此酶的产量,从而提高了胞内脯氨酸水平,增强植物抗渗透性。果聚糖是一种多聚果糖分子,因为具有良好的水溶性而具有调节渗透压的功能。最近 Huang 等^[26]将从细菌(*Arrhobacter pasceus*)中克隆的 COX 基因转入到拟南芥、烟草和油菜中,获得高甜菜碱水平的转基因植株。另外一类渗透调节物质就是亲水性多肽,如 COR 蛋白和 LEA 蛋白等。它们受低温诱导,具有保护细胞膜,维持水相以及防止蛋白质变性等功能。Steponkus 等^[27]发现,在拟南芥中过表达 *cor15a* 基因具有稳定悬浮细胞的叶绿体和原生质体膜,提高细胞的抗寒性之功能。

2.1.3 转入抗冻蛋白基因

零下低温引起细胞内外水分结冰,随着冰冻时间的延长,冰晶逐渐扩大,并向四周伸展,将会刺破质膜和一些重要的细胞器,破坏生物有序隔离。研究表明,抗冻蛋白(afp)具有降低溶液冰点、修饰冰晶形态和抑制重结晶等功能^[28]。正因如此,有关 afp 蛋白基因的转基因工程研究近年来开展的甚多。早期抗冻蛋白基因多取自于极地鱼类或高寒地区的昆虫。Kimberly^[29]将第 1 批来自比目鱼 afp 转入到烟草和番茄中,在低温下检测到较强的抗冻蛋白活性。后来黄永芬用花粉管通道和子房注射法将整合在 Ti 质粒上的美洲拟蝶 afp 基因导入番茄中,提高了番茄的抗冻性^[30]。最近有人报道,将植物中的抗冻蛋白基因转入到拟南芥中,转基因植株也获得了良好的抗冻效果。

2.1.4 转入与细胞活性相关的蛋白基因

植物受到低温作用时,体内各种酶的活性降低,使得植物生理生化代谢受到严重的影响,限制着植物的生长和发育。拟南芥的两个低温诱导基因 RCI1 和 RCI2 具有冷驯化特性,编码的蛋白质与激酶调控因子 14-3-3 蛋白高度同源。低温下通过影响蛋白激酶活性调节其他蛋白的磷酸化和脱磷酸化,从而保护细胞生理功能不被低温抑制^[31]。最近 Lee 等^[32]从拟南芥中分离出受低温诱导基因 LOS2,这种基因编码烯醇酶参与植物体内多种糖代谢途径,在逆境下维持细胞活性具有重要的作用。LOS2 突变的植株其低温耐受性大大降低。

2.2 转调控基因策略

抗寒性是由多基因所调控的,转单个保护基因虽然在一定程度上或某一方面提高了植物的抗寒性,但是总的来说效果都不很明显,而且大部分都还是以细胞或组织为转入对象,是否对整个植株有作用还有待研究。另外转入的单基因稳定性也比较差,容易丢失。所以人们想到了转“调控基因”的策略,因为每个调控基因可以调节一套相应基因的表达,各基因产物之间相互促进、协同作用,从而有可能使植物的抗寒能力得到质的提高。

1997 年,Stochinger 等^[33]从拟南芥中首次克隆出 CBF1 基因,并将其与花椰菜花叶病毒(CaMV)35S 强启动子重组的融合基因(35S::CBF1)转入到拟南芥中获得 CBF1 高表达的植株,同时发现转基因植株不经低温驯化就具有强抗寒性。随后又有人在拟南芥中克隆出了 CBF2 和 CBF3,并通过类似的方法将其转入到拟南芥中,也获得不经低温驯化就具有强抗寒性转基因植株,并经 RNA 凝胶分析发现其体内大量的冷诱导基因转录水平有了明显的提高,如 COR15a 和 RD29a 等^[34]。最近 Heish 等^[35]将拟南芥 CBF1 基因转移到不能冷驯化的西红柿中,发现转基因的西红柿的低温存活率大大提高。

除了 CBFs 基因外,转其他调控基因也有报道。Saijo 等^[36]曾将一钙依赖性蛋白激酶基因(*OsCDPK*)转入到水稻中过表达,发现转基因水稻抗寒性和抗盐性都得到加强。

从已有的研究结果来看,转调控基因的效果明显要优于转单个基因。然而有一点值得注意的是,在所有组成型表达 35S::CBFs 基因的植物中,由于过强表达外源基因消耗大量的能量,这些转基因植物在正常环境下都会出现生长被严重延滞的现象。另外,在无冰冻胁迫的时候,外源基因表达也是不需要的。所以,诱导性启动子研究就显得十分必要。Kasuga 等^[37]用冷诱导基因 RD29a 的启动子替代 35S 启动子,不仅大大缓解了这种生长延滞现象,而且使得植物的抗寒性得到进一步的提高。而这个发现也将对今后抗寒基因工程研究产生深远影响。

3 植物抗逆基因工程研究存在的问题和对策

近年来,植物的抗逆基因工程的研究受到越来越广泛的关注和重视,然而,抗逆是一个极其复杂的生理过程,受多基因控制。植物在逆境下会产生复杂的生物化学和生理学上的响应,而引起这些响应的分子机制至今尚未完全阐明。目前的研究还只是停留在抗逆应答基因的功能及表达调控上,与抗逆相关的信号传递途径之间的互相联系,以及整个信号传递网络系统的机理,目前尚不清楚。因此,深入了解植物逆境生理特性与分子遗传基础,明确植物在逆境胁迫下的遗传网络系统是下阶段研究的重点。基因组学的兴起对植物抗逆机制研究及其基因工程的发展起到了革命性的作用。大规模基因组或 cDNA 序列测定、大规模 EST 工作等结构基因组方法势必可以发现大量抗逆基因,功能基因组学方法将全面阐明植物抗逆蛋白的多样性,通过比较基因组学可把模式植物的抗逆信息推广到基因组复杂的植物上去。植物抗逆机制的研究和其相关基因工程的进展具有着更广阔的前景。

参考文献:

- [1] 沈义国,等. 榆钱菠菜脯氨酸转运蛋白基因的克隆及转基因拟南芥的耐盐性[J]. 植物学报, 2002, 44(8): 956-962.
- [2] Espartero J, et al. Differential accumulation of Sadenosyl methionone synthetase transcripts in response to salt stress. *Plant Mol Biol*, 1994, 25: 217-227.
- [3] Koizumi M, et al. Structure and expression of two genes that encode distinct drought inducible cysteine proteases in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 1993, 129: 175-182.
- [4] 沈义国,等. 山菠菜胆碱单氧化物酶基因(CMO)的克隆与分析[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 1-6.
- [5] McCue K F, et al. Salt inducible beta-alanine dehydrogenase from sugar beet: cDNA cloning and expression. *Plant Mol Biol*, 1992, 18: 1-11.
- [6] 何培民,等. 细菌乙酰胆碱氧化酶基因(codA)在烟草的表达与抗盐能力的分析[J]. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33(5): 519-524.
- [7] Vernon D M, et al. A novel methyl transferase induced by osmotic stress in the facultative *Mesembryanthemum crystallinum*. *EMBO J*, 1992, 11: 2077-2085.
- [8] Novoraj M J. Purification and properties of D-mannitol-phosphate dehydrogenase and D-glucitol-6-phosphate dehydrogenase from *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 1984, 159: 986-990.
- [9] Zentella R A. *Selaginella lepidophylla* trehalose-6-synthase complements growth and stress tolerance defects in a yeast *tps1* mutant. *Plant Physiology*, 1999, 119: 1473-1482.
- [10] Wu S J, et al. SOS1, a gene locus essential for salt tolerance and potassium acquisition. *Plant Cell*, 1996, 8: 287-293.
- [11] Bray E A. Alterations in gene expression in response to water deficit. In: A.S. Basra, (ed). *Stress induced Gene Expression in Plants*. Harwood Academic Publishers GmbH, Switzerland, 1994, 1-23.
- [12] Steponkus P L, et al. Thoma show M F. Mode of action of the COR15a gene on the freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Proc Nat Acad Sci*, 1998, 95: 14570-14575.
- [13] 郭卫东,等. 二棱大麦 LEA cDNA 的克隆与测序[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 8-12.
- [14] Close T J, et al. Nucleotide sequence of a gene encoding a 58 kDa barley dehydrin that lacks a serine tract. *Plant Physiology*, 1995, 107(1): 289-290.
- [15] Campbell S A, et al. A ca. 40 kDa maize (*Zea mays* L.) embryodehydrin is encoded by the dh21 locus on chromosome 9. *Plant Mol Biol*, 1998, 38(3): 417-423.
- [16] Welin B V, et al. Characterization and differential expression of dh21/lea/rab like genes during cold acclimation and drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 1994, 26(1): 131-144.
- [17] 赵恢武,等. 耐旱植物厚叶旋萼苣荬菜 BDN1 脱水素基因的克隆及表达特性分析[J]. 科学通报, 2000, 45(15): 1648-1654.
- [18] 杨洪强,等. 蛋白激酶与植物逆境信号传导[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(3): 185-191.
- [19] 张劲松,等. 植物中存在新的两组分信号系统基因[J]. 科学通报, 1999, 44(6): 628-632.
- [20] 马长乐,等. 盐地碱蓬(*Suaeda salsa*) APX 基因的克隆及盐胁迫下的表达[J]. 植物生理与分子生物学报, 2002, 28(4): 261-266.
- [21] KODAMA H. Genetic enhancement of cold tolerance by expression of a gene for chloroplast ω -3 fatty acid desaturase in transgenic tobacco [J]. *Plant physiology*, 1994, 105: 601-608.
- [22] ISHIZAKI NISHIZAWA O. Low-temperature resistance of higher plants is significantly enhanced by a cyanobacterial desaturase [J]. *Nat Biotech*, 1996, 14: 1003-1009.
- [23] MCKERSIEBD, et al. Iron superoxide dismutase Expression in Transgenic Alfalfa Increases in Photosynthetic Oxidative Stress Tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122: 1427-1438.

- [24] SAMISK, et al. Pyramiding Mn-superoxide dismutasetrans genes to improve persistence and biomass production in alfalfa [J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1343–1350.
- [25] NANJOT, et al. Antisensesup pression of proline degradation improves to lerance to freezing and salinity in arabidopsis thaliana [J]. FEBS Letter, 1999, 461: 205–221.
- [26] HUANG J, et al. Genetic engineering of glycinebetaine production to ward enhancing stress tolerance in plants: metabolic limitations [J]. Plant Physiol, 2000, 122: 747–756.
- [27] STEPONKUSPL, et al. Mode of action of the COR15 a gene on the freezing tolerance of Arabidopsis thaliana [J]. Proc Natl Acad Sci US-A, 1998, 95: 14570–14575.
- [28] 江 勇,等. 抗冻蛋白及其在植物抗冻生理中的作用[J]. 植物学报, 1999, 7(41): 687–692.
- [29] KIMBERLYDK, et al. Accumulation of type 1 fish antifreeze protein in transgenic tobacco is cold-specific [J]. Plant Mol Biol, 1993, 23: 377–385.
- [30] 黄永芬,等. 美洲拟鲾抗冻蛋白基因(afp)导入番茄的研究[J]. 生物化学杂志, 1997, 13(4): 418–422.
- [31] JARILLOJA, et al. Two related low-temperature-induced genes of proteins, a family of putatievekinase regulators [J]. Plant Mol Biol, 1994, 25: 693–704.
- [32] LEE H, et al. LOS2 a genetic locus required for cold-responsive gene transcription encodes a bi-functional enolase [J]. 2002, 21(11): 2692–2702.
- [33] STOCHINGER E J, et al. Arabidopsis thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcription alactivator that binds to the C-repeat/DRE acis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 1035–1040.
- [34] GILMOUR S J, et al. Over expression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimicsmultiple biochemical changes associated with cold acclimation [J]. Plant Physiol, 2000, 124: 1854–1865.
- [35] HEISH T H, et al. Heterology expression of the Arabidopsis C-repeat/Dehydration esponse element binding factor I gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato [J]. Plant physiol, 2002, 129: 1086–1094.
- [36] SAIJO Y, et al. Over-expression of asingle Ca^{2+} , dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants [J]. Plant J, 2000, 25:319–327.
- [37] KASUGA M, et al. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor [J]. Nat Biotech, 1999, 17: 287–291.

Progress in Studies on the Genetic Engineering of Plant Resistant to Abiotic Stresses

YANG Gui-chun, GAO Ji-guo, XING Shao-chen

(*Biotechnology Research Center Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province,
Gongzhuling 136100 China*)

Abstract: Abiotic stress factors, including drought, salt, cold, wind, heavy metal elements, ozone, ultraviolet radiation, etc., are limited factors in crop growing. Studies on plant drought, salt and cold tolerance were reviewed and strategy and orientation of such studies were discussed in the paper.

Key words: Plant; Genetic engineering; Abiotic stress