

文章编号:1003-8701(2011)02-0015-06

植物抗寒基因工程研究进展

李 璨,杨天杰

(南京农业大学,南京 210095)

摘 要:随着植物寒害机理、抗寒冻和冷驯化分子机理研究的深入,已发现了多种抗寒基因,包括各种抗寒调控基因和抗寒功能基因,从而使植物抗寒冻基因工程的研究与应用得以开展,以期有效地提高农作物的抗寒性,增加产量。本文综合论述了国内外有关植物抗寒冻基因工程的最新研究进展,并提出了尚存的一些问题及其前景展望。

关键词:抗寒冻;冷驯化;分子机理;抗寒基因;基因工程

中图分类号:Q789

文献标识码:A

Progress in Studies on Cold Resistant Genetic Engineering of Plants

LI Can, YANG Tian-jie

(Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: With the deepening of studies of mechanism of chilling injury of plants, cold resistance, and molecular mechanism of cold acclimation, it has been found that there are a variety of cold resistant genes, including various cold regulation and functional genes. So, research and application of cold resistant genetic engineering of plants have been extensively developed, and eventually the cold resistance of crops and agricultural production was increased. Progress in studies on cold resistant genetic engineering of plants at home and abroad was comprehensively reviewed in the paper. Some problems and its prospects were put forward.

Keywords: Cold resistance; Cold acclimation; Molecular mechanism; Cold resistant gene; Genetic engineering

植物抗寒性是对低温长期适应的一种遗传特性,只有在一定条件下(如低温、短日照),抗寒基因才得以表达,抗寒性才得以发展为植物抵御寒害的能力即抗寒力。但在抗寒基因表达前,植物抗寒能力仅是一种潜能。这就是抗寒植物为什么会受到突然寒潮冻害的原因。而且抗寒基因是一种诱发基因,只有在特定条件诱导下,启动抗寒基因表达,进而发展为抗寒力。抗寒力发展过程即为基因-蛋白质(酶)-代谢-生理功能的过程。

研究人员一直想寻找一种有效的方法来提高植物的抗寒性,目前最有效的方法之一是抗寒育

种。研究者还发现,通过将植物置于非冰冻致死温度中加以锻炼,即冷驯化后,能诱导产生植物的最大抗寒力。随着植物生理、细胞和分子生物学理论和方法的日益完善,植物冷驯化和抗寒分子机理的研究取得了显著的进展,植物抗寒基因工程也随之得以广泛开展,并研究发展了多种转基因抗寒植物。用基因工程方法培育抗寒植物正以其周期短、见效快的优点而逐渐取代了传统选育育种方法的主导地位。但植物抗寒基因工程与其它抗性基因工程相比起步晚、发展慢,直到20世纪80年代末,才陆续报道了抗寒基因工程方面的研究成果。下面对抗寒基因工程的研究概况作一综述。

1 抗寒基因的研究方法

收稿日期:2010-11-04

作者简介:李 璨(1990-),女,在读本科,从事植物逆境生理生态研究。

潘杰、简令成等在诱导合成冬小麦抗寒特异性蛋白的实验中证实植物的抗寒性是一种累积性的数量性状,是由多基因控制的。也就是说植物的抗寒性是由多种特异性的数量性的抗寒基因调控的。根据微效多基因假说,每一个抗寒基因对抗寒力性状的表现效应是微小的、积加的,且与环境作用难以区分。这就使抗寒基因研究不象植物其它质量性状基因那样容易。随着分子生物学技术的发展,植物遗传标记的广为应用,识别、筛选、分离纯化和测序抗寒基因已经实现。

1.1 同工酶标记

1957年,Markert和Moller首次提出同工酶的概念。同工酶的产生是由于生物进化过程中代谢的适应。Trunova证明低温锻炼后冬小麦过氧化物同工酶发生变化。从分子遗传学角度看,同工酶分子的编码、调控与基因活动的差异反映了基因型和表现型的相互关系,同工酶的研究把宏观的遗传现象联系到微观的分子水平,从抗寒代谢过程认识到抗寒基因的存在和表达。

1.2 蛋白质标记

根据抗原抗体是否特异性结合来判断实验植物中的蛋白质是否同源,也可用单克隆抗体提取纯化特异性蛋白。Claudia、Kaye等用单克隆抗体2H8、5A10分别从菠菜蛋白质粗提物中分离纯化了低温适应蛋白CAP160、CAP853。

1.3 DNA分子标记

RFLP标记:该法由Grodzicker于1974年创立。因为碱基的改变和染色体结构的改变会导致个体或种群DNA片段酶切位点的改变,故若用限制性内切酶切割改变了的DNA则产生长短、种类和数目不同的限制性片段。这些片段经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,在凝胶上呈现不同的带状分布,具有差异性的DNA片段可通过Southern杂交检测出来。若选择靶DNA,则通过Southern转移到NC或尼龙膜上,再利用探针进行Southern杂交后洗去多余探针,经放射自显影得到靶DNA。

RAPD标记:1985年,Mullis首创了聚合酶链式反应PCR技术。RAPD是随机扩增多态性DNA的简称,是建立在PCR基础上的DNA分子标记技术。一般用一系列碱基的随机引物对所研究的基因DNA进行PCR扩增。扩增产物(DNA片段)通过琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,经EB染色后在紫外检测仪上检测扩增产物的多态性,从而对抗寒基因加以鉴定。

AFLP标记:1993年Zabeau和Vos创立了AFLP。该技术利用两种或两种以上的酶切割DNA,形成不同酶切位点的限制性酶切片段;在所得的酶切片段上加上双链人工接头,作为PCR扩增的模板;对于PCR的引物,AFLP作了修饰:将引物与酶切片段识别序列接合起来,其引物从5'-3'依次为核心序列、酶切识别序列和3'端选择碱基序列,而核心序列与人工接头互补,从而实现选择性扩增。

1.4 DNA测序仪和基因数据库的应用

抗寒基因克隆通过自动测序仪测出其碱基组成和排序,并把其核苷酸序列与抗寒特异性蛋白的氨基酸序列加以比较,从而分析抗寒基因的表达情况。Jaquez等利用软件包PC/Gene6.5分析了拟南芥CBF抗寒基因族,认为CBF1、CBF2、CBF3具有高度同源性,且它们表达时转录方向一致。通过比较氨基酸序列与所存于PROTEIN数据库的磷酸化位点还可推测抗寒蛋白的磷酸化位点,从而推测抗寒蛋白的功能。

2 抗寒基因的表达研究

Weiser(1970)首次提出植物在适应低温的过程中基因表达发生改变的观点,同时他还提出多年生木本植物的低温适应可能需要两个条件:特异基因的激活和在最大耐寒过程中蛋白质的合成。Guy等也研究发现冷驯化能诱导和增强一些基因的表达,使多种基因表达发生改变。这些冷诱导基因表达的产物可以分为两类。一类是调控性蛋白,调控寒冷信号传导、抗寒基因表达和抗寒蛋白活性;另一类是与植物抗寒性的提高直接相关的功能性蛋白。目前国内外的植物抗寒基因工程主要是针对以上两类冷诱导基因加以展开。

2.1 导入抗寒调控基因的研究

洪剑明和邱泽生等研究认为,植物在感受到寒冷信号,如气温降低、短日照等之后,将产生抗寒促进因子(如内源脱落酸ABA),与 Ca^{2+} 信号系统共同完成抗寒信号的传导,启动抗寒基因的表达。植物在感受和传导寒冷信号的过程中,有多种调控基因参与编码产生信号传递因子和调控蛋白。包括各种转录因子和蛋白激酶。如DREB转录因子、 Ca^{2+} 、依赖性蛋白激酶、细胞分裂蛋白激活激酶、14-3-3蛋白等。目前有关导入抗寒调控基因的研究主要围绕一种与抵抗寒冻所导致的渗透胁迫相关的冷诱导基因转录因子DREB展开。

当温度降低到 0℃ 以下时,植物体内通常首先发生胞外结冰,即细胞间隙中靠近细胞壁的水分结冰。胞间冰晶的大量形成,将导致细胞壁和原生质膜的机械性损伤,植物细胞和组织的物理性损伤。更为严重的是,胞外结冰将会对细胞造成渗透胁迫,细胞内水分大量流向胞外,原生质体过度失水,从而导致细胞内各种生物大分子的降解、蛋白质的凝胶变性、细胞质膜的损伤。当温度降低到一定程度时,将发生胞内结冰,这对植物是致死性的。研究发现,植物在抵抗寒冻所造成的渗透胁迫过程中,有多种基因得以诱导表达,且发现多数在转录水平调节的冷诱导基因和水分胁迫诱导基因的启动子区域有一个顺式(cis)作用元件 TACC-GACAT,是这些胁迫诱导基因表达所必需的调控区,与冷调节信号的作用有关,被称为脱水反应因子 DRE (the dehydration-responsive element)。Liu 等从玫瑰中分离得到 DRE 结合蛋白 DREB1A、DREB2A 的 cDNA,并将 DREB1A 的 cDNA 转入拟南芥中,大量表达后提高了拟南芥的抗冻和抗旱能力。还有一些冷诱导基因上有两个顺式作用元件 CRT/DRE (C-repeat/dehydration-responsive element),转录因子 CBF1(CRT/DRE binding factor 1)能结合于 CRT/DRE 元件,从而诱导冷诱导基因和水分胁迫诱导基因的表达。Jaglo-ottosen 等将拟南芥中分离得到 CRF1 蛋白基因导入未经冷驯化的拟南芥中,大量表达后能诱导冷诱导基因在常温下表达,增强了拟南芥的抗寒力。Kasuga 等研究发现,用组成性强启动子 35S CaMV 启动 DRE1A 或 CRF1 表达的转基因植物,能增强植物抗寒力,但同时转基因植物在正常生长条件下有严重的生长抑制现象。但他们用冷诱导基因 rd29A 的含 DRE 的启动子启动 DREB1A 在转基因拟南芥中表达,不仅更有效地提高了抗寒力,而且对植物的生长影响甚微。

有关导入转录因子的转基因植物的研究,因转录因子能诱导多种冷诱导基因和逆境胁迫诱导基因的表达,极大地增强植物抗寒性和抗逆性,近两年来得到极大的重视,具有广泛的应用价值。

2.2 导入抗寒功能基因的研究

2.2.1 导入抗渗透胁迫相关基因的研究

植物在抵抗寒冻所导致的渗透胁迫过程中,体内将积累大量的糖类和脯氨酸等渗透调节物质,并有多数冷调节蛋白得以诱导表达。这些蛋白质都含有大量的亲水性氨基酸,具有热稳定性,如 LEA、COR、WCS 等,其中的多数蛋白质具有重复

的氨基酸序列和相对简单的氨基酸组成,基因启动子区域含有 DRE 顺式作用元件。在植物中导入糖代谢或脯氨酸代谢相关酶的基因以增加植物中糖分和脯氨酸的含量,能提高植物的抗旱性及抗盐性。考虑到寒冷胁迫与渗透胁迫之间的关系,此类基因可作为抗寒候选基因加以应用。目前这方面研究较深入的是 LEA 蛋白基因和 COR 家族蛋白的基因。

2.2.1.1 LEA(late-embryogenesis abundant)蛋白基因

LEA 蛋白即种子胚胎发生后期富集蛋白质,是在种子成熟和发育阶段合成的一系列蛋白,也表达在因受干旱、低温和盐渍胁迫而失水的营养组织中。LEA 蛋白约 10~30kD,富含甘氨酸和其它亲水氨基酸,疏水氨基酸含量较少,具有高亲水性和热稳定性,并具有高度保守的氨基酸序列。目前根据蛋白质一级结构的同源性差异,将 LEA 蛋白分为 3 类。但有关 LEA 蛋白的确切生理功能尚未定论,推测其可能有 3 方面的作用。一是作为渗透调节蛋白,参与调节细胞的渗透压、保住水分;二是作为脱水保护剂,起分子伴侣的作用,保护其它蛋白和膜的结构稳定性,并能抑制细胞质的结晶化,聚集因失水而进入细胞的无序离子,使细胞结构和代谢机制免受伤害;三是通过与核酸结合调节细胞内其它基因的表达。

Hong 等指出大麦在冷驯化过程中能诱导 HAV1 蛋白基因表达产生一种 LEA 家族的蛋白质。Xu 等将 HAV1 蛋白基因转入水稻中,结果表明转基因水稻提高了对水分胁迫和高盐胁迫的耐受性,考虑到抗寒与抗渗透胁迫之间的关系,HAV1 蛋白基因可作为一种抗寒基因加以应用。

LEA D113 类蛋白在抗寒过程中也能起重要作用。Imai 等将西红柿的 Le25 基因转入酵母中使其大量表达,显著提高了酵母细胞的耐寒和耐盐性。

2.2.1.2 COR(cold-regulated)蛋白基因

冷驯化能诱导多种 COR 蛋白基因表达,例如拟南芥在冷驯化过程中能产生 COR6.6, COR15a, COR78 以及与 LEA 蛋白同源的 COR47。Thomashow 研究发现,拟南芥在受低温干旱或 ABA 处理时能诱导 COR15a 蛋白基因表达产生 15kD 的多肽,此多肽与叶绿体结合后转变为 94kD 的多肽 COR15am。Artus 等使 COR15am 多肽在转基因拟南芥中大量表达后,与野生型相比,转基因植物提高了叶绿体和原生质体的寒冷耐受

性,并增强了原生质膜的稳定性,减轻了寒冻所造成的损伤损害。但有关 COR15a 蛋白如何发挥抗寒作用的具体机理尚有待进一步研究。出于植物的抗寒性是由多个基因表达调控的,单个 COR 蛋白基因的转导表达并不能显著增强植物的耐寒力,不过此方面的研究有助于抗寒分子机理的进一步探讨。

2.2.2 导入 AFP(antifreezing protein)蛋白基因的研究

抗冻蛋白 AFPs 最初是在北极海鱼中发现的,在鱼类和昆虫类中研究较深入。目前根据鱼类抗冻蛋白 AFP 结构的不同将其分为 4 大类,其中尤以美洲拟蝶 AFP、冬比目鱼 AFP 为代表的第一类抗冻蛋白活性较强。有关植物 AFP 的研究却是最近几年才开始的。Griffith 等明确指出在冷驯化的冬黑麦中有内源 AFPs 的产生。Urrutia 等也在多种植物中发现了 AFPs 的存在。研究发现,AFPs 蛋白的一个显著特征是具有热滞活性,即该蛋白能以非依数性形式降低水溶液的冰点而不影响水溶液的熔点。AFPs 能结合到冰核的表面抑制冰晶的生长,避免冰晶所造成的细胞物理性损伤。当温度降低到水溶液的冰点以下时,AFPs 能影响冰晶的形状,从而抑制冰晶的重结晶。

由于 AFPs 显著的抗冻调节作用,有关 AFPs 蛋白基因的转基因工程近年来开展甚多。目前对植物 AFPs 及其基因的了解甚少,只对鱼类 AFPs 蛋白基因的结构和表达调控有系统性的研究,目前一般都是将鱼类 AFP 基因转导到植物中以获得抗寒植物。1987 年 Davies 等用叶圆片法将整合在 Ti 质粒上的美洲拟蝶抗冻蛋白基因 AFP 导入郁金香、烟草、油菜中,获得了一定的抗冻力。Gulter 等用真空透析法将冬比目鱼 AFP 基因导入马铃薯、拟南芥和欧洲油菜中,降低了植物的自然结冰温度,提高了植物的抗寒性。Georges 等用电击法将冬比目鱼 AFP 基因导入玉米原生质体中获得了表达,改良了植物的抗寒冻性。Hightower 等将表达 AFP 的 *cafa3* 基因导入烟草和番茄中,发现产生的融合蛋白具有抑制冰晶形成和重结晶的作用,据报道这种转基因番茄的果实具有很强的冷冻耐受性。Kimberly 等(1993)将第一类鱼抗冻蛋白基因导入烟草中,在低温下检测到了抗冻蛋白的活性。美国 DNA 植物技术公司将鱼抗冻基因导入酵母中表达了抗冻蛋白后,使酵母在低温条件下的生存率提高了 2~4 倍;国内也纷纷开展了转 AFPs 蛋白基因的研究。金海翎等将自己构建的美

洲拟蝶 AFP 基因表达载体导入大肠杆菌中,检测到了融合基因的表达。提取转基因原核生物中大量诱导的 AFP,作为一种防冻剂,无疑对农作物的冬季储藏和保鲜具有重大应用价值。黄永芬等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,提高了番茄的抗寒冻能力,这对解决冬季的菜篮子问题具有重要意义。

研究还发现有些 AFPs 除了具有抗冻活性外,还具有一些酶活性和抗菌、抗虫活性。因此很有必要开展 AFPs 的进一步广泛应用。

2.2.3 导入脂肪酸去饱和代谢关键酶基因的研究

早在 20 世纪 70 年代,Lyons 和 Raison 提出“膜相变的寒害”假说,认为植物在遭受低温伤害时,生物膜首先发生膜脂的物相变化,这时膜脂从液晶相变为凝胶相,膜脂上的脂肪酸链由无序排列变为有序排列,膜上出现孔道或龟裂,使膜的通透性增大,膜内可溶性物质大量向膜外渗透,破坏了细胞内外的离子平衡。同时膜结合酶结构改变,酶促反应速度失去平衡,导致植物细胞生理代谢的变化和功能的紊乱。许多研究报道指出,植物的相变温度越低,抗寒性越强,降低植物的膜相变温度,抗寒性也得到提高。目前研究表明,膜脂中的类脂和脂肪酸成分的不饱和度明显影响着膜脂的相变温度,不饱和度越高,抗寒性越强。

植物中减饱和作用的 *desA* 基因编码是一种减饱和酶和减饱和酶的辅酶,它能在脂肪酸结合到膜甘油脂的 $\Delta 12$ 位置导入第二个顺式双键。Wada 等(1990)将抗寒兰菌的 *desA* 基因导入寒冷敏感的兰菌后,增强了其抗寒力。同年 Murata 等将抗冷兰藻冰 *Synechocystis* 的 *desA* 基因导入寒冷敏感的兰绿藻 *Anacystis nidulans* 中,改变了其膜脂组成,也增强了抗寒力。

一般认为膜相变温度在很大程度上是膜脂,特别是膜磷脂的脂肪酸所决定的。研究表明,植物叶绿体膜中磷脂酰甘油(PG)的脂肪酸不饱和度与膜脂相变温度及植物抗寒性密切相关。研究认为,植物叶绿体甘油-3-磷酸酰基转移酶可增加叶绿体 PG 脂肪酸的不饱和度,从而提高抗寒性。Murata 等将从南瓜藤和拟南芥属得到的甘油-3-磷酸酰基转移酶基因导入烟草中,明显改变了 PG 的脂肪酸组成,提高了抗寒力。

此外将酵母的 $\Delta-9$ 脂肪酸去饱和酶基因、拟南芥的编码 $\omega-3$ 脂肪酸去饱和酶的 *fad* 基因、菠菜的硬脂酰基载体蛋白去饱和酶 *SAD* 基因分别

导入烟草中,都增强了转基因烟草的抗寒性。现已有多种脂肪酸去饱和代谢关键酶基因被相继发现,这为进一步开展抗寒基因工程奠定了基础。

2.2.4 导入 SOD 等基因的研究

大量研究表明,植物在逆境胁迫,如寒冻胁迫过程中,将发生自由基的积累,从而引发或加剧膜脂过氧化作用,使膜脂不饱和脂肪酸发生一系列自由基反应,降低膜脂的不饱和度,并可引起膜蛋白的变性,导致膜脂流动性降低,膜通透性增强,生物膜受损。

一般认为,植物的抗氧化防御系统能起到调节膜透性、增加膜结构和功能稳定性的作用。此系统主要由超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸(AsA)等组成。这些物质协同作用以去除植物体内的活性氧自由基,其中尤以 SOD 最为重要,它是植物体内第一个清除活性氧的关键抗氧化酶。

将 SOD 的 cDNA 导入植物如烟草、番茄和苜蓿中,大量表达后均增强了植株的抗氧化能力,这对于植物抵抗逆境胁迫具有重大意义。SOD 等基因可做为抗性基因加以应用。

3 前景展望

3.1 目前对于植物感受和传导寒冷信号的机制,以及植物抗寒冻确切的分子机理由于其复杂性尚需深入研究。ABA 与 Ca^{2+} 信号传导途径是如何协同作用将寒冷胁迫信号传递到细胞核的转录因子,转录因子又是如何调控各种抗寒基因的表达,各种抗寒基因又是如何发挥抗寒活性,对这些问题的分子机理研究是构成植物抗寒基因工程的基础。只有弄清抗寒分子机理,才能有效地诱导和筛选出抗寒基因,才能更准确有效地导入合适的抗寒外源基因。

3.2 目前抗寒基因工程普遍用 35S 强启动子来启动外源抗寒基因在植物中的高度表达,但许多转基因植株在非胁迫环境下同时伴随着严重的生长受抑制现象。解决这一问题的关键在于寻找植物内源特异性启动子,使抗性基因得以大量表达的同时,又不影响转基因植物的正常生长发育。今后应多多开展外源基因启动子的研究,从而提高转基因工程的实效性。

3.3 在选择外源基因的时候,应考虑外源基因是能否与植物内源基因相互协调的问题。一般以导入与植物同源性强的基因为佳,但同时应注意解决好转基因植物沉默的问题。今后有必要对植物

AFPs 蛋白基因加以克隆,对植物 AFPs 蛋白的结构和功能进行深入研究,以期将植物内源抗冻蛋白基因导入植物中增加协调性。

3.4 植物的抗寒性是由多基因控制和调节的。要想有效地提高植物的抗寒性,一方面,可采取导入抗寒调控基因,如抗渗透胁迫的转录因子 DREB 基因,或者关键性抗寒基因,如 AFP、fad、desA 基因的策略。转录因子 DREB 不仅能诱导多种抗寒基因的表达,极大地增强植物抗寒性,同时能提高植物的抗旱及抗盐性,对于提高农作物的抗逆性具有很好的综合效果。另一方面,单个抗寒基因的导入对于提高植物抗寒能力毕竟有限,所以可采取导入多种抗寒冷基因的策略。

3.5 目前转基因工程多限于在模式植物拟南芥中展开,而研究植物抗寒性的一个最主要原因是提高农作物的抗寒性以增加其产量和地域分布。今后的工作应更多的转向农作物的研究开发。目前已在烟草、番茄、水稻、玉米等农作物中发现 DREB 转录因子,将抗冻蛋白基因导入郁金香、烟草、油菜、马铃薯、玉米和番茄中的研究也正广泛开展着,相信随着分子生物学技术和方法的不断发展,用基因工程方法提高农作物的抗寒性必将会取得可喜的进展,具有广泛的实际应用前景。

3.6 采用多种抗寒冻技术措施相结合的方法,以期最大限度地提高农作物的抗寒性。今后应致力于将植物转基因方法、遗传育种方法、化学调控方法及科学的栽培和管理方法共同结合使用,以最终达到防止寒害,提高农作物产量的实际应用目的。

参考文献:

- [1] 潘杰,简令成,钱迎倩. 小麦抗寒力诱导过程中特异性蛋白质的合成[J]. 植物学集刊,1994,1(7):144-157.
- [2] 胡万能,万贤国. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙:湖南科技出版社,1985,96-166.
- [3] Claudia Kaye, Lisa Navent, Andrea, et al. Characterization of a gene for spinach CAP160 and expression of two spinach cold acclimation protein in tobacco [J]. Plant Physiol, 1998, 116: 1307-1377.
- [4] Godrick T., William J, et al. Physical mapping of temperature-sensitive mutation of adeno viruses [J]. Cold Spring Harbour Symp Quant Biol, 1974, 39: 439.
- [5] William J G, Kubicek A P, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker [J]. Nucl Acids Res, 1990, 18: 6531-6535.
- [6] Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting [J]. European Patent, 1993, 3(31): 535-858.
- [7] Weiser C J. Cold Resistance and injury in woody Plants: Knowl-

edge of hardy plant adaptations to freezing stress may help us to reduce winter damage[J]. Science ,1970, 169: 1260 .

- [8] 洪剑明, 邱泽生. 植物抗性生理 (一)[J]. 生物学通报, 1997 ,32(5) :13- 15 .
- [9] 洪剑明, 邱泽生. 植物抗性生理 (二)[J]. 生物学通报, 1997 ,32(6) :6- 8 .
- [10] 汤学军, 傅家瑞. 植物胚胎发育后期富集(LEA)蛋白的研究进展[J]. 植物学通报, 1997 ,14(1) :13- 18 .
- [11] 何军贤, 傅家瑞. 种子 Lea 蛋白的研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1996 ,32(4) :241- 246 .
- [12] 黄永芬, 付贵荣, 赵晓祥, 等. 美洲拟蝶抗冻蛋白基因(afp)导

入番茄的研究[J]. 生物化学杂志 ,1997 ,13(4) :418- 422 .

- [13] 费云标, 黄 涛, 舒念红, 等. 植物抗寒冻的分子遗传与基因工程[J]. 生物工程进展 ,1996 ,16(1) :15- 16 .
- [14] 金海翎, 商慧深, 张庆琪, 等. 美洲拟蝶抗冻肽基因在 E. coli 中的表达[J]. 实验生物学报, 1995 ,28(1) :77- 83 .
- [15] 沈 漫, 王明麻, 黄敏仁. 植物抗寒机理研究进展[J]. 植物学通报, 1997 ,14(2) :1- 8 .
- [16] 刘 强, 赵南明, K Yamaguchi- Shinozaki, 等. DREB 转录因子在提高植物抗逆性中的作用 [J]. 科学通报, 2000 ,45(1) :11- 16 .

磷酸丙酮酸水合酶(也叫烯醇酶) (下转第 20 页)
(上接第 3 页) 是糖酵解途径中催化 2- 磷酸甘油酸与磷酸烯醇式丙酮酸之间进行转化的酶。糖酵解途径是植物在逆境条件下物质和能量代谢的重要途径, 烯醇酶作为糖酵解途径的一个关键性的酶在抗逆反应中起着重要作用。烯醇酶(enolase)是糖酵解途径中的一个重要酶类, 其可以催化磷酸甘油酸脱水形成磷酸烯醇式丙酮酸, 该反应是糖酵解途径中唯一的一步脱水反应。相关研究表明, 植物在厌氧、高盐、干旱、高温、低温等胁迫条件下, 烯醇酶的表达量及酶活性均会产生相应的变化, 从而为逆境条件下植物产生大量自由基而导致的光合系统损伤的修复提供能量, 对于细胞活性的维持具有重要作用^[8]。

参考文献:

- [1] 黄大年, 王慧中, 郭龙彪. 水稻转基因研究及其育种[M]. 北京 :中国农业科技出版社, 2006 :90-91 .
- [2] 管清杰, 罗秋香, 夏德习, 等. 水稻 OsAPX1 基因在烟草中的表达及其抗盐性研究[J]. 分子植物育种, 2007 ,5(1) :7 .
- [3] 闫新甫. 转基因植物[M]. 北京 :科学出版社, 2003 :197-206 .
- [4] 方良俊, 符小琴, 叶群珊, 等. 诱抗剂对水稻幼苗耐盐性的诱导作用[J]. 核农学报, 2006 ,20(4) :273-276 .
- [5] 陈志德, 仲维功, 杨 杰. 水稻新种质资源的耐盐性鉴定评价[J]. 植物遗传资源学报, 2004 ,5(4) :351-355 .
- [6] 李玉全, 张海艳, 沈法富. 作物耐盐性的分子生物学研究进展[J]. 山东科学, 2002 ,15(2) :8-14 .
- [7] 杨永利, 富东英, 甄常生. 应用土壤盐碱改良剂控制水稻苗期盐害的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004 ,23 (3) :555-559 .
- [8] 朱晓军, 杨劲松, 梁永超, 等. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2004 ,37(10) :1497-1503 .