

文章编号: 1674-7054(2011)04-0364-09

植物响应非生物胁迫相关基因的研究进展

阮孟斌 彭 明

(中国热带农业科学院 热带生物技术研究所 海南 海口 571101)

摘 要: 随着全球气候变化,非生物胁迫对植物生长的影响已经成为人类面临的重大挑战之一。对植物响应非生物胁迫的研究有助于了解植物对环境的耐受机制,以应对环境的变化。本文综述了植物响应非生物胁迫过程中相关基因的最新研究进展。这些基因包括:抗氧化基因、渗透压保护大分子、LEA 蛋白、膜转运蛋白、转录因子、热激蛋白、蛋白激酶以及 miRNA。同时对植物基因组甲基化与响应胁迫的关系也作了一定的阐述。

关键词: 植物; 非生物胁迫; 相关基因; 研究进展

中图分类号: Q 78

文献标志码: A

非生物胁迫是指在特定环境下,任何非生物因素对植物造成的不利影响。在非生物胁迫中,盐碱和干旱是制约植物生长的 2 个主要的胁迫因素。据统计^①,目前世界上大约 22% 的耕种土地是盐碱地,接近 50% 的灌溉土地受到了盐胁迫的危害,预计到 2050 年,将会有 50% 以上的耕地面积发生严重的盐碱化。与动物不一样,植物不能迁移,但在逆境下生长的植物,经过一系列的非生物胁迫信号传导、胁迫相关基因的表达以及体内代谢的变化,使植物对所处的逆境产生一定的耐受能力,有利于保持自身物种的延续。人们利用模式植物(拟南芥或烟草)对植物响应非生物胁迫与耐受的调控网络和机制进行了大量研究,发现这一调控过程是非常复杂的(图 1)^[1]。胁迫响应机制的激活主要是与胁迫响应有关基因的表达与调控。根据这些胁迫响应基因的功能可以分为三大类:(1) 编码直接与胁迫有关的酶或其他一些蛋白;(2) 编码控制保护基因表达的调节因子(包括蛋白和功能 RNA);(3) 未知功能基因。由于第 1 类基因一般特异地在一代谢途径中起作用,因此又被称做“单一作用基因”,这一类基因被认为可以提高植物对胁迫的耐受性。如植物中的水通道蛋白、生物合成限速酶、脱毒酶以及转运蛋白。第 2 类基因是一类转录因子或其他调控蛋白。在转基因植物中,许多受胁迫诱导的基因都可以同时被它们调控。

1 植物响应非生物胁迫相关基因

1.1 抗氧化基因 活性氧化物(Reactive Oxygen Species, ROS)是所有需氧生物体内正常细胞代谢时产生的副产物。在植物受到外界环境胁迫后其水平会上升。在植物体内,在铁或其他金属存在的条件下,超氧化物能够与 H_2O_2 反应生成具有高毒性的羟基($-OH$),因此,有效地清除细胞内的超氧化物和 H_2O_2 是非常重要的。与其他需氧生物一样,植物体内所有的细胞组分中都存在有效清除 ROS 的系统。这些抗氧化物系统包括一系列不同的酶和代谢产物,这些酶和代谢产物除了在清除细胞内 ROS 之外,可能还在某些信号传导途径中起作用^[2]。由于 ROS 的清除与植物应对非生物胁迫具有密切的关系,因此,研究者希望通过转基因的方法来提高植物细胞内清除 ROS 的效率,从而达到提高植物对非生物胁迫耐受能力的目

收稿日期: 2011-10-29

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2010CB126602)

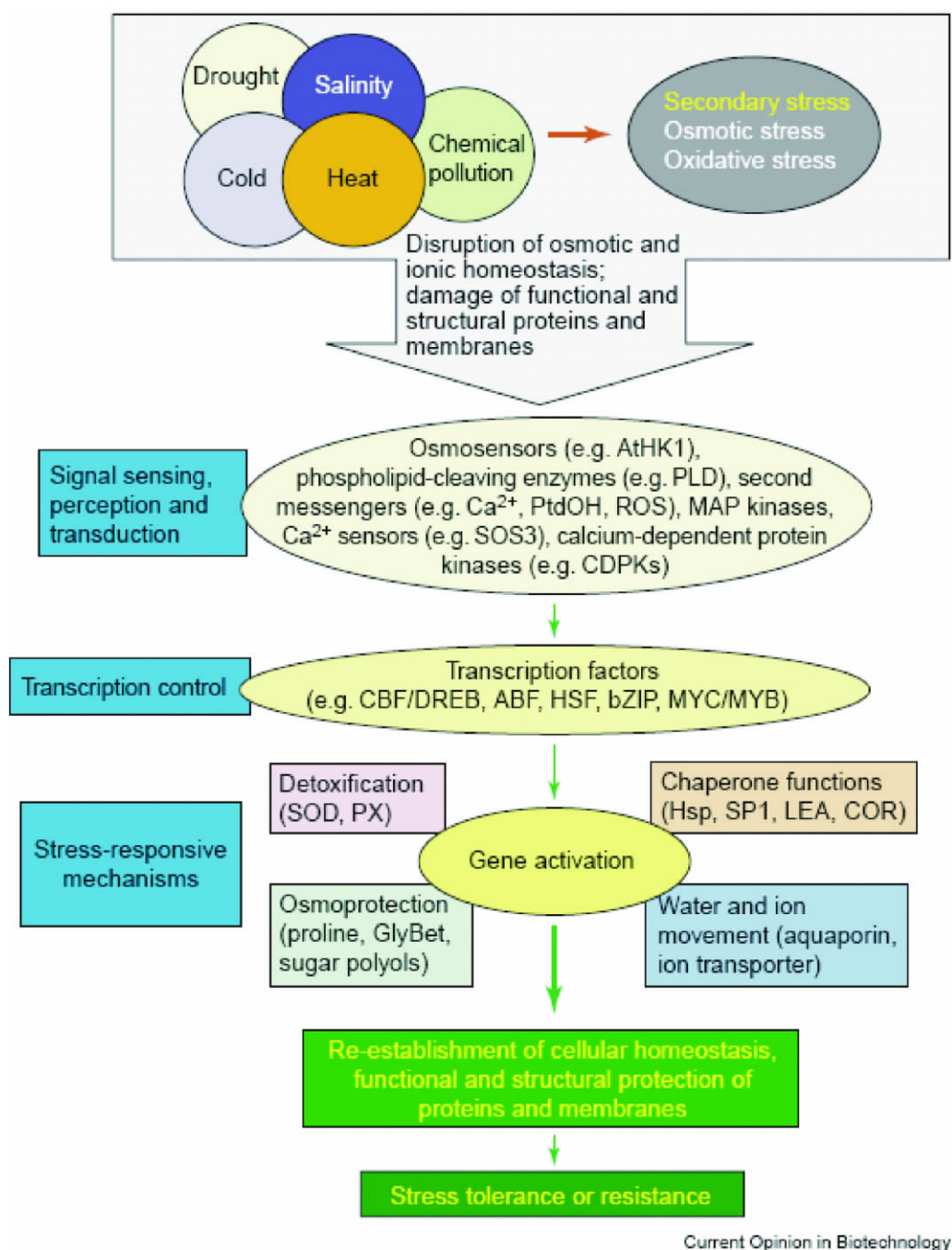
作者简介: 阮孟斌(1979-)男,江西广丰人,中国热带农业科学院热带生物技术研究所助理研究员,博士后。

通信作者: 彭明,中国热带农业科学院热带生物技术研究所研究员。联系电话: 0898-66963161, E-mail:

mmpeng_2000@yahoo.com

① Food, Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2004

的。他们使用的相关基因有: 超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽硫转运蛋白或谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶(GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶等。研究者分别在烟草、紫花苜蓿的叶绿体、线粒体、细胞质中成功表达了SOD基因,且都能提高转基因植物对氧化胁迫的耐受性^[3-4]。



Current Opinion in Biotechnology

图1 植物响应非生物胁迫机制

1.2 渗透压保护大分子 渗透压保护大分子有氨基酸类物质、胺类物质、糖和糖醇类物质^[1]。与渗透压保护大分子合成有关的基因,也被认为与植物对非生物胁迫响应有关,部分这类合成基因在植物细胞内同时还具有抗氧化或其他的保护作用。利用转基因手段在植物中过量表达相应的合成酶或合成途径中的其他限速酶,可提高转基因植物对渗透压胁迫的耐受性。棉子糖类(如 *AtGalS1* 2 3)、果聚糖、甘露糖(如 *mtlD*)、海藻糖(如 *otsA* *ptsB*)等多糖类合成酶基因,甜菜碱(如 *betB*, *CDH*, *codA*)合成酶基因、脯氨酸(如 *P5CS*)合成酶基因均能有效提高转基因植物对渗透压胁迫的耐受性^[5-8]。除调节植物细胞内渗透压

的功能外,部分渗透压保护大分子基因还具有消除活性氧中间产物,使蛋白质的结构保持稳定,以此保护植物免受其他胁迫的危害。如:在高温或高盐的胁迫下,植物中的甜菜碱可以保护光合系统中蛋白组分的稳定性^[9]。

1.3 LEA 蛋白 LEA 蛋白名为胚胎发育后期冗余蛋白(Late Embryogenesis Abundant Proteins)。这类蛋白在种子脱水时大量富集,与水份胁迫有关。到目前为止,在一系列的植物和植物组织中,发现有 3 类主要的 LEA,分为 LEA1,LEA2,LEA3。在水稻和小麦中过量表达大麦的 LEA3 类基因 *HVA1* 可以有效提高转基因植物对干旱和高盐的耐受性^[10-11]。最近,在油菜中发现一类新的 LEA 基因 LEA4 类基因,过量表达这一类基因的转基因拟南芥也表现出对盐及干旱的耐受能力有所提高^[12]。

1.4 热激蛋白 热胁迫响应机制在所有真核生物中均是保守的,其可以被多种对细胞有毒害作用的因素刺激而激活,这些因素包括温度的升高、氧化胁迫、化学物诱导等。这种响应机制可以快速地将基因表达重编程,在促使许多基因表达下调的同时,也促使热激蛋白(Heat Shock Proteins, HSPs)表达的上升。番茄中的热激响应机制是由 2 个转录因子 HSF1 和 HSF2 共同作用来实现的^[13],HSF1 是热激响应中主要的调节因子,在 HSF2 的热诱导表达过程中是不同或缺的;随着热激的继续,HSF2 受到诱导,其表达量达到比较高的水平,在植物细胞内成为占据优势的 HSF 基因。过量表达的 HSF 基因的转基因植物也表现出了对环境胁迫的耐受性。

1.5 膜转运蛋白 转基因植物通过调控膜离子转运蛋白的表达以恢复细胞内的离子平衡,是提高其对盐胁迫耐受性的一个重要手段。如在转基因番茄中表达酵母 HAL1 基因可以提高其对盐的耐受性^[14],HAL1 蛋白与 K^+ 离子的转运有关,在盐胁迫下,转基因植物比野生型对照可以更好地维持体内的 K^+ 离子浓度水平。

在拟南芥和番茄中过量表达编码拟南芥液泡 Na^+/H^+ 逆转运蛋白的 *AtNHX1* 基因,可以有效地提高转基因植物的盐胁迫耐受能力^[15-17]。转基因植物提高对盐胁迫的耐受性似乎是依靠将 Na^+ 离子转运进液泡来实现的,过量表达 *AtNHX1* 基因的转基因棉花可以在 $200\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 的环境下正常生长^[18]。在盐胁迫环境下,转 *AtNHX1* 基因的植物都能维持较高的光合作用效率,芽和根的生长都明显加快,与野生型相比,植物种子的产量也有明显的提高。

在转基因拟南芥中,过量表达编码拟南芥液泡 H^+ 离子焦磷酸化酶($H^+ - \text{PPase}$) AVP1 蛋白,可以提高转基因植物对盐胁迫及干旱的耐受性^[19-20]。离子转运蛋白(如 *AtNHX1*)需要有 1 个质子移动的压力,这个压力是由液泡与细胞质之间的质子浓度梯度产生的,AVP1 蛋白在维持这个质子梯度中起重要作用。在转基因烟草中表达与盐芥中 AVP1 同源的基因,可以提高转基因植物根的发育,并增强植物对盐胁迫的耐受能力^[21]。LV S 等^[22]在棉花中表达与盐芥中 AVP1 同源的基因,也发现转基因棉花根的发育及对盐胁迫的耐受能力都有提高,其随后的研究还发现,表达该基因可以提高转基因棉花对干旱的耐受能力^[22]。

拟南芥 Salt Overly-Sensitive 1(SOS1)编码的质膜 Na^+/H^+ 逆转运蛋白,在拟南芥对盐胁迫的耐受性中起关键作用,上调该基因的表达可以使植物生长旺盛,即使在盐浓度较高的条件下,转基因植物仍能够维持比野生型对照高的光合反应产物得率^[23]。

1.6 转录因子 植物受到非生物胁迫时,转录因子在胁迫信号的传导以及为适应胁迫而进行的调整细胞内基因表达的机制中起着极其关键的作用。植物体内的非生物胁迫信号的传导是个复杂的过程,对植物信号传导途径进行遗传解析有助于理解植物响应非生物胁迫的机制。目前,大部分有关胁迫信号传导的遗传研究主要集中在拟南芥上,这些研究找到了许多与胁迫响应基因表达有关的转录因子家族,如:bZIP,MYC/MYB,HD-Zip, Zn finger, ABI3/VP1 家族^[24]。

在植物响应低温与干旱的信号传导过程中,有相当多的信号传导事件是相同的,这些信号传导事件中,有些是受 ABA 调控的,而有些则与 ABA 无关^[24]。在许多响应 ABA 的基因的启动子序列中具有保守的 ABA 响应元件(ABA Response Elements, ABREs),这些顺式作用元件可以被 bZIP 类转录因子识别并结合;此外,在这些基因的启动子区还发现了另一种与 CRT/DRE(C-repeat/dehydration-responsive element)相似的顺式作用元件,因此,在 ABRE 与 bZIP 类转录因子结合的同时 CRE/DRE 与 AP2(CBF/DREB)类转

录因子结合,共同调控植物在受到 ABA、渗透压以及低温胁迫时的相关基因表达^[25]。

在拟南芥中组成型表达 ABA 依赖的 bZIP 类转录因子 ABF3 或 ABF4,可以使转基因拟南芥对干旱的耐受性得到提高;在分析转基因拟南芥和野生型对照植株的基因表达差异时发现,有数个 ABA/胁迫响应基因表达上调,这些基因包括: *RD29B*, *BA18*, *ABI1*, *ABI2*^[26-27]。在拟南芥中组成型过量表达 ABF2 基因可引起转基因植株中其他一些与 ABA 有关的基因的表达上调,使转基因植株对 ABA 和蔗糖敏感、生长缓慢^[27]。利用玉米组成型启动子 Ubiquitin 1 启动子驱动拟南芥 ABF3 基因在水稻和莴苣中表达,可以使转基因植物对干旱的耐受性得到提高,同时转基因植物的生长发育并不受影响^[28]。

在拟南芥中组成型过量表达 *CBF1/DREB1B* 基因可以提高转基因植株的抗冻性,并且对植株的生长发育不产生其他负面影响^[29]。但在番茄中表达该基因,虽然可以提高植物对低温、干旱和盐胁迫的耐受性,但是转基因植株生长缓慢、果实和种子的产量都有明显的下降^[30]。在拟南芥中过量表达 *CBF3/DREB1A* 可以促进 *COR15a*, *RD29*, *KIN1*, *COR6.6*, *COR47/RD17* 等基因的表达,其转基因植株对低温、干旱和盐胁迫的耐受性均有提高^[31-32]。而在水稻中过量表达 *CBF3/DREB1A* 同样能提高转基因植株对干旱和盐胁迫的耐受性,但对低温胁迫的耐受性没有明显的提高^[28]。在烟草、小麦、花生中,用诱导启动子 *RD29A* 驱动 *CBF3/DREB1A* 表达均能够提高转基因植株对干旱、低温胁迫的耐受性^[33-35],诱导启动子的使用明显减少了过量表达该基因对植株正常生长发育的负面影响。

植物在响应低温胁迫中,除了 *CBF/DREB1* 途径以外,还存在其他的信号通路,如拟南芥突变体 *eski-mo1* 植株的脯氨酸的含量比野生型的高,说明其对低温具有明显的耐受性,但其 *CBF/DREB1* 调节子有关的基因表达水平并没明显的变化^[36]。研究者还发现另一个突变体 *ada2* 植株对低温胁迫的耐受性也与 *CBF/DREB1* 调节子无关^[37]。对植物 *CBF/DREB1* 途径之外的低温胁迫响应的研究,发现另外 2 个转录因子 *HOS9* 和 *HOS10* 与低温胁迫响应有关,这 2 个转录因子可能是与低温胁迫耐受相关的基因的负调控因子^[38-39]。这 2 个基因可能是 R2R3 型 MYB 转录因子,在拟南芥植株中是组成型表达的。*HOS9* 和 *HOS10* 基因的表达被沉默后, *RD29A* 以及其他的一些与低温胁迫相关的基因表达上调,但是 *CBF/DREB1* 途径中的低温诱导基因的表达并没有发生变化。虽然在拟南芥突变体 *hos9* 和 *hos10* 中,有部分低温胁迫基因的表达上调了,但是突变体对低温胁迫的耐受性反而比野生型的低,由此推测, *HOS9* 和 *HOS10* 还调控着其他对植物低温耐受非常重要的基因。

1.7 蛋白激酶 蛋白激酶可以磷酸化其下游蛋白,当植物感受到外界环境的胁迫信号时,其体内的磷酸化级联信号传递途径就会启动,调节其下游的调控因子,以此响应胁迫信号并产生对胁迫的耐受性。对信号分子进行调节的好处是,在干旱、高盐等环境因素胁迫下,它们可以调控离子平衡或防止危害的保护的不同方面的信号输出。烟草的 *NPK1* 与拟南芥的 *ANP1* 是同源激酶基因,它们可以激活 *MPK3* 和 *MPK6* 信号途径,在转基因烟草和玉米中过量表达 *NPK1* 和 *ANP1*,可以提高转基因植物对多种胁迫的耐受能力^[40-42]。*NPK1/ANP1* 在氧化胁迫响应途径的上游起作用,可以诱导 *HSPs*, *APX*, *GST* 以及其他胁迫响应基因的表达,这些基因可以保护光合作用机制免受干旱造成的危害,提高植物的产量性状^[42]。其他的一些激酶在胁迫过程中直接与蛋白发生作用,例如 *SOS2* (salt overly sensitive 2) 直接调控 Na^+/H^+ 逆转运蛋白 *SOS1*^[43],在保持离子平衡过程中起重要作用和在植物对盐胁迫的耐受性中起着重要的决定性作用。

2 miRNA 在植物响应非生物胁迫中的作用

miRNA 是一类具有 20 个左右核苷酸长度的 RNA 分子,它们能为 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 提供底物特异性。在这个复合物内部,miRNA 与其靶基因 mRNA 上的一段互补序列结合,从而调节靶基因的表达。大部分 miRNA 的靶基因是编码转录因子或其他重要功能蛋白的基因,因此其具有非常广泛的调控作用,参与了动植物的生长发育、器官形成、信号传导途径、环境胁迫响应、病变等多种生理机制的调节。在某些条件下,植物 miRNA 还具有通过抑制靶基因 mRNA 的翻译调节基因表达的功能^[44]。近几年的研究发现,植物 miRNA 在植物对非生物胁迫的响应机制中起着重要作用。已知与植物响应非生物胁迫的 miRNA 见表 1。

表 1 响应非生物胁迫的 miRNA

miRNA	靶基因	功能	参考文献
miR156	<i>SPB-like</i>	功能未知	[45]
miR159	<i>MYB33</i> , <i>MYB65</i> , <i>MYB101</i>	促进花药发育	[46]
miR160	<i>ARF10</i>	调控 ABA 响应基因	[47]
miR162	<i>DCL1</i>	功能未知	[45]
miR164	<i>NAC-domain protein</i>	功能未知	[45]
miR169	<i>CCAAT-binding transcription factor</i>	功能未知	[48]
miR393	<i>TIR1</i>	调节生长素降解和生长素调控的转录	[49]
miR395	<i>ATP sulfurylases and AST68</i>	参与硫同化途径以及硫的分配	[50]
miR398	<i>CSD1</i> , <i>CSD2</i>	Cu-Zn super oxide dismutase 调控 Cu-Zn 超氧化物歧化酶	[51]
miR399	<i>UBC24</i>	功能未知	[52 - 53]

2.1 miRNA 在 ABA 介导的胁迫响应中的作用 在高等植物的大部分器官及活组织中,ABA 作为一种具有多种功能的激素,发挥着重要的作用。ABA 可以调节植物气孔的关闭、主根的生长、在水胁迫的环境下阻碍芽的生长。10 年前,LU C 等^[54]发现拟南芥突变体 *hyl1* 对 ABA 具有超敏感性;*hyl1* 是 miRNA 合成过程中 1 个关键的酶,此项研究第一次将植物体内的 ABA 与 miRNA 联系起来。

在拟南芥种子萌发时期,分别以 ABA、GA 和干旱对其进行处理,分析 miRNA 的表达,发现 miR159 的表达有明显上调^[46],随后的研究发现,miR159 的靶基因是 *MYB33* 和 *MYB101*。对过量表达 miR159、*myb33*、*myb101* 的拟南芥进行分析,发现它们都对 ABA 具有超敏感性,这说明 MYB 类转录因子对 ABA 响应途径具有正调控作用^[46]。拟南芥 *abi3-1* 突变体种子萌发时,用 ABA 对其进行处理后,miR159 的表达并不上调,这说明 ABA 诱导 miR159 是依赖于转录因子 ABI3 的^[46]。

生长素响应因子(Auxin Response Factors, ARFs)是一类响应生长素的转录因子,在植物一系列生长发育及生理过程中起重要作用。将 ARF10 进行定点突变,使其不被 miR160 识别,转化该突变基因 *marf10* 的转基因拟南芥对 ABA 具有超敏感性,而过量表达 miR160 的拟南芥种子对 ABA 的敏感性较低^[47],说明 miR160 也对 ABA 介导的植物胁迫响应。相关的研究^[55]表明,miR417 也是 1 个与 ABA 胁迫响应有关的 miRNA,miR417 在拟南芥多数组织中均可表达;miR417 受多种胁迫因素的影响,在 ABA 处理下,miR417 的表达先上调然后下调;过量表达 miR417 的转基因拟南芥种子在高盐或 ABA 处理下,其萌发率和萌发后的生存率都明显下降。

2.2 胁迫条件下 miRNA 在活性氧清除系统中的作用 植物在高盐、低温等环境胁迫下,其体内细胞会产生活性氧化物(Reactive Oxygen Species, ROS),而超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SODs)能够清除植物体内的 ROS。拟南芥有 3 个 Cu-Zn 超氧化物歧化酶基因 *CSD1*、*CSD2*、*CSD3*^[51],其中 *CSD1* 和 *CSD2* 被认为是 miR398 的靶基因,在氧化胁迫下,*CSD1* 和 *CSD2* 的表达上调,miR398 的表达下调,这说明氧化胁迫可能并不直接促使 *CSD1* 和 *CSD2* 的表达上调,而是通过向下调节 miR398 的表达来降低 *CSD1* 和 *CSD2* 转录产物被降解比例。为了证明这一点,SUNKAR 等对 *CSD2* 基因进行了突变,使其不被 miR398 识别,然后将该突变后的基因 *mcsd2* 转入拟南芥,并与转化野生型 *CSD2* 基因的转基因拟南芥在氧化胁迫环境下进行比较,发现 *mcsd2* 的转基因拟南芥比 *CSD2* 的转基因拟南芥具有非常明显的耐受能力^[51]。

近几年,随着 miRNA 研究的深入,miRNA 芯片也应运而生。利用 miRNA 芯片可以对目前所有已知的 miRNA 进行在不同环境下的 miRNA 表达变化的研究。LIU 等^[56]使用 miRNA 芯片对拟南芥在高盐、干旱、低温胁迫环境下,miRNA 基因表达的差异进行了研究,发现 14 个 miRNA 基因在这 3 种非生物胁迫下表达水平均有明显变化。另外高通量测序在 miRNA 的研究中也得到了大量的应用,LIU 等^[56]也利用 SOLEXA 高通量测序法对棉花幼苗的全部 small RNA 进行了测序,分析了棉花中保守 miRNA 及其 miRNA* 的序列。对棉花 small RNA 的测序分析和在不同非生物胁迫下对棉花 miRNA 进行的研究都有助于将来利用 miRNA 这一基因调控途径来提高棉花对不同非生物胁迫的耐受性。

3 植物基因组甲基化状态与胁迫响应

DNA 甲基化为 DNA 化学修饰的一种,与 miRNA 一样,能在不改变 DNA 序列的前提下,调控基因的表达,使植物产生新的可遗传的性状,属于表观遗传调控机制的一种。大量研究^[57-59]表明,DNA 甲基化能引起染色质结构、DNA 构象、DNA 稳定性及 DNA 与蛋白质相互作用方式的改变,从而控制基因表达。DNA 甲基化过程会使甲基添加到 DNA 分子上,大多时候是添加到碳原子上(例如胞嘧啶环 5' 碳原子)。由顺式或反式元件上 DNA 多态性引起的胞嘧啶甲基化会产生甲基化多态性,同样的等位基因也会出现相应的甲基化差异,环境和遗传背景的改变均可引起遗传及表观遗传的变化从而启动甲基化。

在植物中,DNA 的甲基化主要发生在 CpG、CpNpG(N 代表任何碱基)和不对称的 CpHpH 位点。DNA 甲基化在可转移元件或外源 DNA 的转录沉默中起关键作用,可防止非同源基因重组,保护基因组的稳定性,并调控许多基因的转录。最近有关基因组甲基化与基因表达关系的研究^[58]表明,甲基化在基因表达调控中起着重要的作用,部分甲基化必需的蛋白同时也是 RNAi 复合体中的组分,这意味着 DNA 甲基化可能与 RNAi 有密切的关系。

环境和遗传的刺激会影响转座子,并使顺式元件产生遗传多样性,这种遗传的多样性有利于植物为适应新的环境而做的选择进化。在作物中,表观遗传可以以较高的频率发生变化,这就有可能产生一些与遗传变异无关的性状变化,为农业生产提供更多的种质资源。尽管在棉花中表观遗传发生变化的频率不高,KEYTE 等^[60]对数个陆地棉(*Gossypium hirsutum*)品种中的 DNA 甲基化进行检测,发现 DNA 甲基化的多态性要远远高于 DNA 序列的多态性,且在水稻及拟南芥中也有同样的发现。WANG 等^[57]的研究发现,水稻在干旱胁迫下可以诱导位点特异的 DNA 甲基化并促使植株产生耐受干旱胁迫的能力。因此,利用 DNA 甲基化机制也许有助选育对环境胁迫具有一定耐受能力的新的作物品种。

4 展 望

在拟南芥中,已经利用基因芯片技术在转录水平上研究了许多响应干旱、低温、高盐胁迫的基因。同样,在玉米、大麦、小麦、番茄、水稻、高粱等植物中,科学家们也利用基因芯片技术得到了许多与非生物胁迫响应有关的基因。研究者利用基因芯片及将胁迫响应相关转录因子的突变体转入拟南芥,获得了许多胁迫相关转录因子所调控的下游基因,对这些基因进行研究有利于深入地了解植物胁迫响应的分子机制。使用同样的方法,研究者分别在水稻和油菜中的 DREB1 转录因子的下游调控基因进行了研究^[61-63]。

由于逆境胁迫所引起的应答反应是多通路、多基因协调作用的结果,因此仅凭单个功能基因的导入往往很难真正地获得长期有效的抗性。对抗逆信号通路的深入了解,特别是在调控机制上的研究结果将有助于抗逆基因工程的发展。近年来,国际上有些实验室开始借助于模式植物的研究成果,运用基因芯片、微阵列分析等手段开始大规模地筛选作物(如水稻、玉米、小麦)或经济植物(如杨树)自身的抗逆基因,尤其是对逆境胁迫产生早期应答的基因,旨在寻找在抗逆反应中起关键作用的调控因子,了解作物本身在逆境胁迫应答中的机制。另外,选择逆境诱导表达的启动子,将导入的外源基因的表达严格限制在胁迫诱导条件下,以降低在非胁迫环境下对植物正常生长的干扰,这也是目前的研究发展方向。

参考文献:

- [1] VINOCUR B, ALTMAN A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2005, 16(2): 123-132.
- [2] ALLEN R D. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants [J]. *Plant Physiol*, 1995, 107(4): 1049-1054.
- [3] GUPTA A S, HEINEN J L, HOLADAY A S, et al. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(4): 1629-1633.
- [4] MCKERSIE B D, BOWLEY S R, HARJANTO E, et al. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase [J]. *Plant Physiol*, 1996, 111(4): 1177-1181.

- [5] YAMADA A , TSUTSUMI K , TANIMOTO S , et al. Plant RelA/SpoT homolog confers salt tolerance in escherichia coli and saccharomyces cerevisiae [J]. Plant Cell Physiol , 2003 , 44(1) : 3 – 9.
- [6] PEREMARTI A , BASSIE L , CHRISTOU P , et al. Spermine facilitates recovery from drought but does not confer drought tolerance in transgenic rice plants expressing Datura stramonium S – adenosylmethionine decarboxylase [J]. Plant Mol Biol , 2009 , 70(3) : 253 – 264.
- [7] SHEN B , JENSEN R G , BOHNERT H J. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts [J]. Plant Physiol , 1997 , 113(4) : 1177 – 1183.
- [8] ABEBE T , GUENZI A C , MARTIN B , et al. Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity [J]. Plant Physiol , 2003 , 131(4) : 1748 – 1755.
- [9] HOLMSTROM K O , SOMERSALO S , MANDAL A , et al. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine [J]. J Exp Bot , 2000 , 51(343) : 177 – 185.
- [10] XU D , DUAN X , WANG B , et al. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene , HVA1 , from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice [J]. Plant Physiol , 1996 , 110(1) : 249 – 257.
- [11] SIVAMANI E , BAHIELDIN A , WRAITH J M , et al. Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene [J]. Plant Sci , 2000 , 155(1) : 1 – 9.
- [12] DALAL M , TAYAL D , CHINNUSAMY V , et al. Abiotic stress and ABA-inducible Group 4 LEA from Brassica napus plays a key role in salt and drought tolerance [J]. J Biotechnol , 2009 , 139(2) : 137 – 145.
- [13] MISHRA S K , TRIPP J , WINKELHAUS S , et al. In the complex family of heat stress transcription factors , HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato [J]. Genes Dev , 2002 , 16(12) : 1555 – 1567.
- [14] GIBERT C , RUS A M , Bolarin M C , et al. The yeast HAL1 gene improves salt tolerance of transgenic tomato [J]. Plant Physiol , 2000 , 123(1) : 393 – 402.
- [15] APSE M P , AHARON G S , SNEDDEN W A , et al. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in Arabidopsis [J]. Science , 1999 , 285(5431) : 1256 – 1258.
- [16] QUINTERO F J , BLATT , Pardo J M. Functional conservation between yeast and plant endosomal Na⁺/H⁺ antiporters [J]. FEBS Lett , 2000 , 471(2/3) : 224 – 228.
- [17] ZHANG H X , BLUMWALD E. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit [J]. Nat Biotechnol , 2001 , 19(8) : 765 – 768.
- [18] HE C , YAN J , SHEN G , et al. Expression of an Arabidopsis vacuolar sodium/proton antiporter gene in cotton improves photosynthetic performance under salt conditions and increases fiber yield in the field [J]. Plant Cell Physiol , 2005 , 46(11) : 1848 – 1854.
- [19] GAXIOLA R A , LI J , UNDURRAGA S , et al. Drought-and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H⁺ – pump [J]. Proc Natl Acad Sci USA , 2001 , 98(20) : 11444 – 11449.
- [20] PARK E J , JEKNIC Z , SAKAMOTO A , et al. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in tomato protects seeds , plants , and flowers from chilling damage [J]. Plant J , 2004 , 40(4) : 474 – 487.
- [21] GAO F , GAO Q , DUAN X , et al. , Cloning of an H⁺-PPase gene from thellungiella halophila and its heterologous expression to improve tobacco salt tolerance [J]. J Exp Bot , 2006 , 57(12) : 3259 – 3270.
- [22] LV S , ZHANG K , GAO Q , et al. Overexpression of an H⁺-PPase gene from thellungiella halophila in cotton enhances salt tolerance and improves growth and photosynthetic performance [J]. Plant Cell Physiol , 2008 , 49(8) : 1150 – 1164.
- [23] SHI H , LEE B H , WU S J , et al. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in arabidopsis thaliana [J]. Nat Biotechnol , 2003 , 21(1) : 81 – 85.
- [24] SHINOZAKI K , YAMAGUCHI-SHINOZAKI K , SEKI M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses [J]. Curr Opin Plant Biol , 2003 , 6(5) : 410 – 417.
- [25] NISHIMURA N , OKAMOTO M , NARUSAKA M , et al. ABA hypersensitive germination2-1 causes the activation of both abscisic acid and salicylic acid responses in Arabidopsis [J]. Plant Cell Physiol , 2009 , 50(12) : 2112 – 2122.
- [26] KAGAYA Y , HOBOT , MURATA M , et al. Abscisic acid-induced transcription is mediated by phosphorylation of an abscisic acid response element binding factor [J]. TRAB1 Plant Cell , 2002 , 14(12) : 3177 – 3189.
- [27] KANG J Y , CHOI H I , IM M Y , et al. Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling [J]. Plant Cell , 2002 , 14(2) : 343 – 357.

- [28] OH S J , SONG S I , KIM Y S , et al. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth[J]. *Plant Physiol* ,2005 ,138(1) : 341 – 351.
- [29] JAGLO K R , KLEFF S , AMUNDSEN K L , et al. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in Brassica napus and other plant species[J]. *Plant Physiol* ,2001 ,127(3) : 910 – 917.
- [30] HSIEH T H , LEE J T , CHARNG Y Y , et al. Tomato plants ectopically expressing arabidopsis CBF1 show enhanced resistance to water deficit stress[J]. *Plant Physiol* ,2002 ,130(2) : 618 – 626.
- [31] LIU Q , KASUGA M , SAKUMA Y , et al. Two transcription factors , DREB1 and DREB2 , with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought and low-temperature-responsive gene expression , respectively , in Arabidopsis[J]. *Plant Cell* ,1998 ,10(8) : 1391 – 1406.
- [32] WANG G , ZUO X , YUAN C , et al. Mip1 , a novel rat zinc-finger protein , inhibits transcriptional activities of AP-1 and SRE in mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. *Mol Cell Biochem* ,2009 ,322(1/2) : 93 – 102.
- [33] KASUGA M , MIURA S , SHINOZAKI K , et al. A combination of the Arabidopsis DREB1A gene and stress-inducible rd29A promoter improved drought and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer[J]. *Plant Cell Physiol* ,2004 ,45(3) : 346 – 350.
- [34] PELLEGRINESCHI A , REYNOLDS M , PACHECO M , et al. Stress-induced expression in wheat of the Arabidopsis thaliana DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions[J]. *Genome* ,2004 ,47(3) : 493 – 500.
- [35] BHATNAGAR-MATHUR P , DEVI M J , VADEZ V , et al. Differential antioxidative responses in transgenic peanut bear no relationship to their superior transpiration efficiency under drought stress[J]. *J Plant Physiol* ,2009 ,166(11) : 1207 – 1217.
- [36] XIN Z , BROWSE J. Eskimo1 mutants of Arabidopsis are constitutively freezing-tolerant[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1998 ,95(13) : 7799 – 7804.
- [37] VLACHONASIOS K E , THOMASHOW M F , TRIEZENBERG S J. Disruption mutations of ADA2b and GCN5 transcriptional adaptor genes dramatically affect Arabidopsis growth , development , and gene expression[J]. *Plant Cell* ,2003 ,15(3) : 626 – 638.
- [38] ZHU J , VERSLUES P E , ZHENG X , et al. HOS10 encodes an R2R3-type MYB transcription factor essential for cold acclimation in plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ,102(28) : 9966 – 9971.
- [39] ZHU J , SHI H , LEE B H , et al. An Arabidopsis homeodomain transcription factor gene , HOS9 , mediates cold tolerance through a CBF-independent pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2004 ,101(26) : 9873 – 9878.
- [40] KOVTUN V V , FADZHIEV M M. Treatment of habitual shoulder dislocation [J]. *Voen Med Zh* ,2000 ,321(7) : 68 – 69.
- [41] KOVTUN Y , CHIU W L , TENA G , et al. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ,97(6) : 2940 – 2945.
- [42] SHOU H , BORDALLO P , WANG K. Expression of the Nicotiana protein kinase (NPK1) enhanced drought tolerance in transgenic maize[J]. *J Exp Bot* ,2004 ,55(399) : 1013 – 1019.
- [43] SHI H , ISHITANI M , KIM C , et al. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺ /H⁺ antiporter[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* ,2000 ,97(12) : 6896 – 6901.
- [44] CHEN X. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in Arabidopsis flower development[J]. *Science* ,2004 ,303(5666) : 2022 – 2025.
- [45] LU S , SUN Y H , SHI R , et al. Novel and mechanical stress-responsive microRNAs in Populus trichocarpa that are absent from Arabidopsis[J]. *Plant Cell* ,2005 ,17(8) : 2186 – 2203.
- [46] REYES J L , CHUA N H. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination[J]. *Plant J* ,2007 ,49(4) : 592 – 606.
- [47] LIU P P , MONTGOMERY T A , FAHLGREN N , et al. Repression of AUXIN RESPONSE FACTOR10 by microRNA160 is critical for seed germination and post-germination stages[J]. *Plant J* ,2007 ,52(1) : 133 – 146.
- [48] ZHAO B , LIANG R , GE L , et al. Identification of drought-induced microRNAs in rice[J]. *Biochem Biophys Res Commun* ,2007 ,354(2) : 585 – 590.
- [49] NAVARRO L , DUNOYER P , JAY F , et al. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling[J]. *Science* ,2006 ,312(5772) : 436 – 439.
- [50] JONES-RHOADES M W , BARTEL D P. Computational identification of plant microRNAs and their targets , including a

- stress-induced miRNA [J]. *Mol Cell*, 2004, 14(6): 787–799.
- [51] SUNKAR R, KAPOOR A, ZHU J K. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(8): 2051–2065.
- [52] ALLEN E, XIE Z, GUSTAFSON A M, et al. microRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants [J]. *Cell*, 2005, 121(2): 207–221.
- [53] PANT B D, BUHTZ A, KEHR J, et al. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis [J]. *Plant J*, 2008, 53(5): 731–738.
- [54] LU C, FEDOROFF N. A mutation in the *Arabidopsis* HYL1 gene encoding a dsRNA binding protein affects responses to abscisic acid, auxin, and cytokinin [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2351–2366.
- [55] JUNG H J, KANG H. Expression and functional analyses of microRNA417 in *Arabidopsis thaliana* under stress conditions [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45(10/11): 805–811.
- [56] LIU H H, TIAN X, LI Y J, et al. Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana* [J]. *RNA*, 2008, 14(5): 836–843.
- [57] WANG W S, PAN Y J, ZHAO X Q, et al. Drought-induced site-specific DNA methylation and its association with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(6): 1951–1960.
- [58] CHEN M, HA M, LACKEY E, et al. RNAi of met1 reduces DNA methylation and induces genome-specific changes in gene expression and centromeric small RNA accumulation in *Arabidopsis* allopolyploids [J]. *Genetics*, 2008, 178(4): 1845–1858.
- [59] GUIL S, ESTELLER M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: Tying it all together [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(1): 87–95.
- [60] KEYTE A L, PERCIFIELD R, LIU B, et al. Intraspecific DNA methylation polymorphism in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *J Hered*, 2006, 97(5): 444–450.
- [61] DUBOUZET J G, SAKUMA Y, ITO Y, et al. OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought, high-salt and cold-responsive gene expression [J]. *Plant J*, 2003, 33(4): 751–763.
- [62] ITO Y, KATSURA K, MARUYAMA K, et al. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice [J]. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(1): 141–153.
- [63] SAVITCH L V, ALLARD G, SEKI M, et al. The effect of overexpression of two Brassica CBF/DREB1-like transcription factors on photosynthetic capacity and freezing tolerance in *Brassica napus* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(9): 1525–1539.

Progresses of the Study on Plant Abiotic Stress Response Genes

RUAN Meng-bin, PENG Ming

(Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Haikou 571101, China)

Abstract: Around the world, abiotic stress is increasing as a result of a global climate changes, which has become the one of most important challenges for the world. The studies on plant response to abiotic stress can help us to understand how plant tolerant the abiotic stress. In the paper, the progresses of the study on plant abiotic stress response genes were reviewed.

Key words: plant; abiotic stress; gene; progress