

植物对干旱胁迫的分子反应^{*}

宋松泉^{1*} 王彦荣²(¹ 中国科学院西双版纳热带植物园, 勐腊 666303; ² 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃草原生态研究所, 兰州 730020)

【摘要】 干旱胁迫是影响植物生长发育的主要因子。渗透保护剂的合成和积累、脱水伤害的修复、自由基清除酶和 LEA 蛋白基因表达的增量调节能增加植物的耐干旱性。植物在干旱条件下至少有 4 条信号转导途径, 其中 2 条信号途径是依赖 ABA 的, 另外 2 条途径是不依赖 ABA 的。在植物干旱胁迫的信号转导中, 双组分的组氨酸激酶可能起渗透感受器的作用, Ca^{2+} 和 IP_3 可能是脱水信号的第 2 信使。转基因植物是一种评价编码蛋白功能的良好系统。

关键词 干旱胁迫 基因表达 ABA 信号转导 转基因植物

文章编号 1001- 9332(2002) 08- 1037- 08 中图分类号 Q945. 17 文献标识码 A

Molecular response of plant to drought stress. SONG Songquan¹ and WANG Yanrong² (¹ Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303; ² College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University; Gansu Grassland Ecological Research Institute, Lanzhou 730020). - Chin. J. Appl. Ecol., 2002, 13(8): 1037~ 1044.

Drought stress is a bottleneck factor for plant growth and development. Synthesis and accumulation of osmoprotectants, up-regulation of gene expression implicated in repair of desiccation injury, free radical-scavenging enzymes and late embryogenesis-abundant (LEA) protein could increase the drought tolerance of plant. There are at least four pathways of signal transduction in plant subjected to drought stress, two are abscisic acid (ABA)-dependent, and two are ABA-independent. In the signal transduction of plants encountered drought stress, two-component His protein kinase could act as an osmosensor, and Ca^{2+} and inositol triphosphate (IP_3) could be the second messenger for dehydration signaling. Transgenic plant is an excellent system in evaluating function of encoded protein.

Key words Drought stress, Gene expression, ABA, Signaling transduction, Transgenic plant.

1 引言

当植物蒸腾速率超过水分吸收速率或土壤缺乏植物可利用的水分时, 植物发生干旱胁迫。干旱胁迫是植物逆境最普遍的形式, 在许多地区是农业发展的瓶颈 (bottleneck)。据统计, 世界干旱、半干旱地区占地球陆地面积的 1/3, 我国干旱、半干旱地区约占国土面积的 1/2。植物是不能移动的, 在它们的生活周期中至少在某些阶段会遇到短暂的相对水分含量下降。植物对干旱胁迫的反应能够在几秒钟内 (例如蛋白质磷酸化状态的变化) 或者几分钟和几小时内 (例如基因表达的变化) 发生, 主要取决于物种和基因型、水分丧失的强度和持续时间、发育的年龄和阶段、器官和细胞的类型以及亚细胞分室作用 (compartmentation) [5]。

为了适应干旱胁迫, 许多植物产生高度耐脱水的结构, 如种子、孢子或者花粉; 一些与干旱胁迫有关的保护性物质及其基因被诱导增加表达 [8, 16]。干旱、盐和结冰诱导的脱水构成了直接的渗透胁迫, 冷和低氧可能通过影响水分吸收和丧失, 间接地引起渗透胁迫 [30]。

尽管对干旱胁迫引起的伤害或者植物的耐旱性机制还不清楚, 对控制植物干旱胁迫反应的调节网络 (regulatory network) 也不完全了解, 但近几年来关于植物干旱胁迫的分子反应的研究报道在快速增加。在干旱胁迫的信号转导方

面, 至少通过 ABA 和一些反应基因的启动子组件 (promoter module) 的研究, 已取得了长足的进展。本文就干旱胁迫诱导的蛋白质/基因的潜在细胞功能、干旱胁迫对基因表达的调节、干旱胁迫的信号转导以及评价基因功能的转基因植物等方面的研究进展进行综述。

2 干旱胁迫诱导的蛋白质/基因的潜在细胞功能

研究植物对干旱胁迫的分子反应的策略主要是利用脱水耐性系统、遗传模式物种 (如拟南芥) 的突变体以及具有不同干旱耐性水平的农作物品系 [13, 16]。脱水耐性系统包括一些能够耐严重脱水的专一器官 (如种子) 或植物种类 (如复活植物、苔藓和蕨类植物)。通过对这些系统的分子分析, 揭示了含有耐脱水性的遗传信息的表达。分析遗传模式物种的突变体是研究植物干旱耐性的第 2 种策略。这个系统利用详细的遗传信息、众多的突变体以及可用的位点基因克隆。例如通过分析 ABA 缺乏的番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 突变体和马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 叶片下垂的突变体, 明确了 ABA 在脱水耐性中的作用。第 3 种研究植物干旱耐性的策略是利用在农业上具有重要经济价值的作物, 以及分析它们

* 国家重点基础研究发展规划资助项目 (G2000048704)。

** 通讯联系人。

2002- 04- 14 收稿, 2002- 05- 09 接受。

在干旱胁迫后的反应. 因为通过广泛的育种或者体外筛选 (in vitro selection), 可以获得具有不同耐性水平的品系, 从而寻找在干旱反应中涉及的基因.

在不同的植物中, 许多基因对干旱胁迫起反应. 利用差异筛选 (differential screening), 已经克隆了由干旱胁迫增量调节的基因, 其中最大的基因家族是系列胚胎发育后期高丰度表达的蛋白 (late-embryogenesis abundant proteins, LEA 蛋白) 的相关基因. 而另一些基因可能与水分缺乏植物的次生胁迫 (secondary stress) 有关, 例如 *pcht28* (编码一种酸性内几丁质酶) 和 *SC514* (编码脂氧合酶) 增加对病原体的感病性^[16]. 图 1 总结了在胁迫耐性和胁迫反应中干旱胁迫诱导基因的功能.

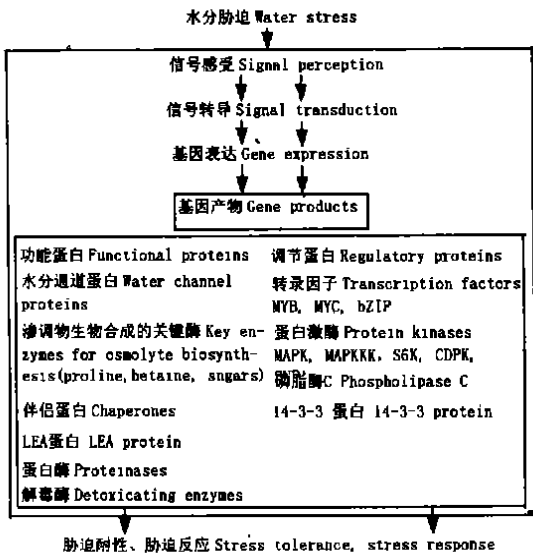


图 1 在胁迫耐性和胁迫反应中干旱胁迫诱导基因产物的功能
Fig. 1 Function of drought-stress-inducible gene products in stress tolerance and stress response.

基因产物主要分为两组: 在干旱胁迫耐性和细胞适应性中涉及的功能蛋白, 在胁迫反应时可能在基因表达和信号转导中起作用的调节蛋白. The gene products are mainly classified into two groups: functional proteins that are involved in drought-stress tolerance and cellular adaptation, and regulatory proteins that may function in gene expression and signal transduction in stress response. MAPK: 分裂素活化的蛋白激酶 Mitogen-activated protein kinase; MAPKKK, MAPK: 激酶 Kinase; SGK: 核糖体 S6 蛋白激酶 Ribosomal S6 protein kinase; CDPK: 依赖于 Ca^{2+} 的蛋白激酶; 14-3-3 蛋白, 一种通过激酶调节和蛋白质-蛋白质相互作用的信号分子^[9] Calcium-dependent protein kinase; 14-3-3 protein, a signaling molecule acting by kinase modulation and protein-protein interactions^[39].

2.1 代谢相关基因

复活植物——*Craterostigma plantagineum* 在干旱和 ABA 处理时, 编码 3-磷酸甘油醛脱氢酶的 cDNA 表现出增加表达^[16], 蔗糖磷酸合酶和蔗糖合酶的总转录水平在对干旱的反应中立即增加^[9]. 在冰叶日中花 (*Mesembryanthemum crystallinum*) 中, 编码磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (phosphoenolpyruvate carboxylase) 的 mRNA 被干旱诱导, 说明了景天科酸代谢 (crassulacean acid metabolism) 的重要性, 这种代谢途径是许多植物在干旱胁迫条件下生长的主要反应, 能使植物在水分丧失最少的条件下固定 CO_2 ^[51].

蛋白酶也可能是一种胁迫代谢 (stress metabolism) 的重要特征, 它能摒弃冗余的蛋白质和使液泡贮藏的多肽解聚, 从而为新蛋白质的大量合成提供氨基酸^[6].

2.2 渗透调节和结构调节基因

植物对干旱胁迫的一种反应是在细胞质中合成和积累非毒性的渗透保护剂 (osmoprotectants) 或亲和性溶质 (compatible solutes)^[30, 42]. 脯氨酸、甘氨酸甜菜碱、甘露醇和山梨醇等无毒的渗透保护剂在植物中能积累到较高的水平, 而不破坏细胞的代谢作用. 其中一些渗透保护剂在植物中能够保护酶和膜免受高盐浓度的伤害, 另一些则能防止活性氧的伤害^[42]. 最广泛研究的亲和性溶质脯氨酸是从 L-谷氨酸经过 (Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸 (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate, P5C) 合成的, 由 P5C 合成酶 (P5CS) 和 P5C 还原酶 (P5CR) 催化. 在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中, 脯氨酸的合成和代谢被水分缺乏控制. P5CS 酶由干旱胁迫、盐和 ABA 诱导, 而 P5CR 则不被干旱胁迫、盐和 ABA 诱导^[55]. 由脯氨酸脱氢酶催化的脯氨酸降解为 P5C 被水分缺乏抑制, 以及被脯氨酸和重新水合诱导^[22]. 有趣的是, 脯氨酸的运输也可能被水分状态调节. 一个编码专一的脯氨酸运输体的基因 *ProT2* 被水分缺乏所诱导 (不是 *ProT* 基因家族的所有成员都被水分缺乏诱导)^[33], 表明脯氨酸在整个植株中的分布可能是渗透物起作用的重要方面^[5].

当拟南芥受到水分胁迫 (叶片水势约为 -1.6 MPa) 时, 叶片中内源甘氨酸甜菜碱的含量比对照叶片增加 18 倍左右^[54]. 在水分胁迫处理过程中, 外源甘氨酸甜菜碱 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理的菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 植株比未处理的植株维持较好的水分状态, 表现出缓慢的叶片水势下降和较好的从萎蔫中恢复的能力, 而且克服水分胁迫对 CO_2 吸收和叶绿素荧光的不利影响^[53].

在水分缺乏过程中, 通道蛋白基因 (channel protein gene) 的表达证明了通道蛋白与干旱胁迫有关. 豌豆 (*Pisum sativum*) 的 7a cDNA 编码具有离子通道特征的多肽, 拟南芥 RD28 cDNA 和 *C. plantagineum* H2-5 cDNA 编码公认的水分通道蛋白 (water channel proteins)^[16]. 水孔素 (aquaporin) 是运输水分的膜蛋白家族^[46]. 在对水分缺乏的反应中可能涉及控制细胞的水分状态. 菠菜 (*Spinacia oleracea*) 的质外体水势影响 2 种水孔素的磷酸化状态. 水孔素的磷酸化作用增加通道的水分运输能力. 因此, 已经提出在水分缺乏过程中降低磷酸化状态将延缓水分从细胞中丧失^[18].

已经证明干旱胁迫引起细胞壁的化学组成和物理性质发生改变 (如伸展性), 这些变化可能涉及编码 S-腺苷蛋氨酸合成酶的基因^[10]. 在非胁迫条件下, S-腺苷-L-蛋氨酸合成酶基因的增加表达与木质化发生的区域有关. 因此, 在干旱胁迫组织中的增加表达也可能是由于细胞壁的木质化作用. 在延长干旱胁迫条件下, 细胞壁伸长停止, 接着木质化过程开始^[16]. Espartero 等^[10]也发现, 真菌诱导物 (fungal elicitor) 引起 S-腺苷-L-蛋氨酸合成酶的转录物与细胞壁形成需要的其它酶 (如 S-腺苷-L-高半胱氨酸水解酶或者甲基转移酶) 的转

录物协同诱导(coinduction)。

2.3 降解、修复和解毒基因

已经从豌豆和拟南芥中分离了编码与蛋白酶序列相似且被干旱诱导的蛋白质基因,这些酶的功能之一可能是降解由干旱效应伤害的不能恢复的蛋白质^[16]。在拟南芥干旱胁迫早期,编码泛素延长蛋白(ubiquitin extension protein)(通过蛋白水解过程获得活性泛素的融合蛋白)的 mRNA 水平增加^[21]。这种 mRNA 的增加对蛋白质降解是重要的,因为泛素具有标记变性蛋白质的作用^[4]。在干旱胁迫过程中,蛋白质残基可能被脱氨作用、异构化作用或氧化作用等修饰,因此,很可能具有蛋白修复功能的酶在干旱反应中被增量调节。实际上,苔藓对脱水的反应主要是修复作用^[31]。这种修复过程的一个实例是 L-异天冬氨酰甲基转移酶(L-isoadpartyl methyltransferase)能够使受伤害蛋白质中的被修饰的 L-异天冬氨酰残基转化成为 L-天冬氨酰残基^[16]。

由差筛分离的干旱诱导的 2 种基因产物具有类似于热休克蛋白的序列^[21]。这些编码蛋白可能是与蛋白质修复有关的伴侣蛋白(chaperonin)帮助在干旱胁迫过程中变性或者错误折叠的蛋白质恢复它们的自然构型。低分子量的热休克蛋白(low-molecular-weight heat shock protein)也可能是伴侣蛋白。热休克蛋白的其他功能可能是在细胞受到干旱时与专一的 mRNA 结合^[13]。

解除在氧化代谢过程中产生的有毒中间产物的酶(例如谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD))在对干旱胁迫的反应中增加。降低叶片含水量和随后的气孔关闭导致 CO₂ 的可用性降低和活性氧类(例如超氧阴离子自由基)的产生。在干旱过程中光呼吸活性也伴随着产生 H₂O₂ 的乙醇酸氧化酶活性的增加而上升。这是编码解除活性氧种类毒害的酶(例如抗坏血酸过氧化物酶)和 SOD 的基因在对干旱的反应中被增量调节的原因^[16]。

2.4 LEA 蛋白

目前已经知道,在发育的棉花(*Gossypium hirsutum*)胚中最早发现的 LEA 蛋白或转录物不仅存在于多种植物,如豌豆、大豆(*Glycine max*)、油菜(*Brassica napus*)、胡萝卜(*Daucus carota*)、蓖麻籽(*Ricinus communis*)、番茄、向日葵(*Helianthus annuus*)、拟南芥和一些禾谷类植物的胚中,与种子的脱水耐性有关^[3,13],而且也存在于幼苗和成年植株中,它们可以在转录水平上为 ABA、高渗透浓度和干旱胁迫所诱导^[20],具有保护幼苗和植物营养组织免受脱水伤害的作用。已经证明,许多在干旱胁迫植株的营养组织中和成熟脱水的种子中表达的 *lea* 基因有相似之处^[16]。脱水处理常常能够诱导种子中 *lea* 基因提前表达,ABA 也能诱导种子和营养组织中 *lea* 基因表达^[20]。在旱生植物的脱水过程中,一些与 LEA 有关的蛋白家族能被诱导产生,例如耐脱水的 *C. plantagineum* 在脱水状态下能够较长时间存活,重新水合后几个小时内就可完全恢复生理活性^[16]。

花胚细胞中, D7 LEA 蛋白大约占非细胞器胞质蛋白的 4% (接近 0.34 mmol·L⁻¹)。从亚细胞水平来看, LEA 蛋白主要定位在细胞质中。经 0.1 mmol·L⁻¹ ABA 处理的成熟玉米(*Zea mays*)籽粒中,较多的种子脱水素定位在靠近芽端(shoot apex)和根端(root apex)细胞的细胞质中,但其他组织包括糊粉层、盾片薄壁组织、盾片表皮、维管束源和胚叶细胞的细胞质和核中也存在脱水素蛋白^[16]。在玉米胚的盾片薄壁组织细胞中的常染色质(euchromatin)和细胞骨架元件(cytoskeletal element)也可能是脱水素定位的场所^[7]。

LEA 蛋白的共同结构特征是由偏性氨基酸组分(biased amino acid composition)形成的高度亲水的多肽^[16,20]。大多数 LEA 蛋白缺乏半胱氨酸和酪氨酸残基,但富含赖氨酸和甘氨酸,推测棉花 D19 蛋白的氨基酸顺序含有 13% 的甘氨酸和 11% 的谷氨酸。此外, LEA 蛋白还具有高温溶解性^[16]。LEA 蛋白具有高度的亲水性,因此在细胞结构中的分布可能不具有专一性;它们具偏性氨基酸组成,且在细胞中的浓度较高,不可能起酶的作用^[16]。

3 干旱胁迫对基因表达的调节

3.1 在干旱胁迫过程中对 ABA 起反应的基因表达

在植物营养生长过程中,当植株被暴露在干旱胁迫的条件时,其内源 ABA 含量增加。ABA 在触发植物对逆境刺激的反应中是 1 种必需的传递体(mediator)^[25]。许多干旱胁迫诱导的基因需要内源 ABA 的增加,且对外源 ABA 处理起反应^[16],但在 ABA 缺乏(*aba*)或者 ABA 不敏感(*abi*)的拟南芥突变体中,由 ABA 诱导的干旱胁迫基因的表达分析证明,在干旱或者冷条件下一些胁迫诱导的基因不需要内源 ABA 的积累^[16,38,39,41]。因此,在干旱胁迫反应中,不仅有依赖于 ABA 的途径,而且有不依赖于 ABA 的途径。Sninozaki 等^[39,41]研究发现,ABA 对一些基因的诱导需要先进行蛋白质的合成,在胁迫条件下内源 ABA 的产生与基因表达之间至少存在 2 条独立的途径。

在干旱条件下至少有 4 条不同的信号途径起作用:2 条信号途径(b 和 c)是依赖 ABA 的,而另外 2 条途径(a 和 d)是不依赖 ABA 的;d 途径与低温反应途径(e)部分重叠,依赖 ABA 的 b 途径需要蛋白质的生物合成(图 2)^[41]。

许多干旱胁迫诱导的基因能被外源 ABA 处理增量调节。一些植物在干旱和高盐条件下内源 ABA 含量大量增加^[5,16]。在依赖于 ABA 的 c 途径中(图 2,途径 c),干旱胁迫诱导的基因表达不需要蛋白质的生物合成^[39,41]。这些干旱诱导的基因在它们的启动子区域含有潜在的 ABA 反应元件(ABA-responsive element, ABRE; PyACGTGGC)。ABRE 在 ABA 调节的基因表达中起顺式作用,具有顺式作用 DNA 元件(*cis*-acting DNA element)的功能。ABRE 最初在小麦(*Triticum aestivum*) *Em* 和水稻(*Oryza sativa*) *rab* 基因中被鉴定^[16]。G-盒类似于 ABRE 的模序(motif),在红光、紫外光、厌氧和伤害的植物基因调节中起作用^[39]。ABRE 和 G-盒结合蛋白的 cDNA 已经被分离,紧接在亮氨酸-拉链模序

(Leu-zipper motif, bZIP) 之前具有 1 个碱性区域, 构成 1 个大的基因家族。已经证明, ACGT 核心模序 (ACGT core motif) 周围的核苷酸决定 bZIP 蛋白的结合专一性。此外, 为了限定

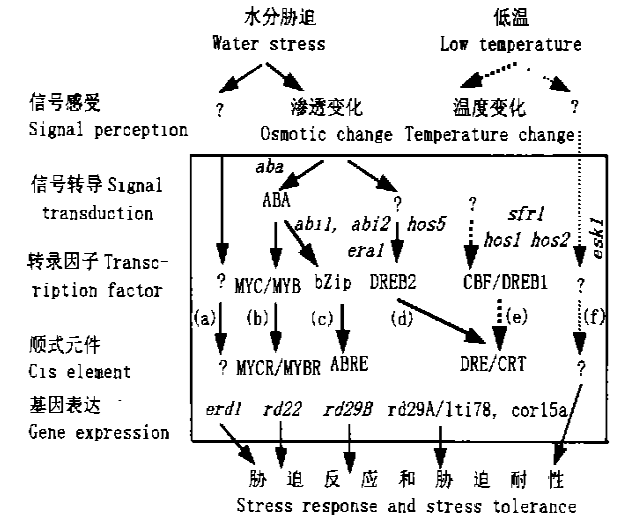


图2 拟南芥中原初干旱胁迫或冷胁迫信号与基因表达之间的细胞信号转导途径

Fig. 2 Signal transduction pathways between signaling of primary drought stress or cold stress and gene expression in *Arabidopsis thaliana*.

至少有 6 条信号转导途径: 2 条途径是依赖 ABA 的 (b, c), 其他 4 条是不依赖 ABA 的 (a, d, e, f)。胁迫诱导的基因 *rd29A/lr78*, *rd29B/lr65*, *rd22* 和 *erd1* 被用来分析基因表达和信号过程的调节。 *abi1*, *abi2* 和 *era1* 涉及 ABA 信号。 *hos5* 在与 DREB2 有关的脱水信号中起作用, *sfr6*, *hos1* 和 *hos2* 在与 DREB1/CBF 有关的冷信号中起作用。 *hsk1* 通过一个不依赖 DRE 的过程涉及对冷的反应。 细的和粗的箭头分别代表在脱水反应的基因表达中涉及的次要和主要的信号途径。 虚线箭头代表在低温反应中涉及信号途径^[41] There are at least six signal transduction pathways. Two are ABA-dependent (b, c), and the another four are ABA-independent (a, d, e, f). Stress inducible genes, *rd29A/lr78*, *rd29B/lr65*, *rd22* and *erd1* are used to analyse gene expression and regulation of signaling processes. *abi1*, *abi2* and *era1* are implicated in ABA signaling. *hos5* is involved in signaling related in DREB2, and *sfr6*, *hos1* and *hos2*, in cold signaling related in DREB1/CBF. *hsk1* responses to cold by a DRE-independent process. Arrows with thin line and with thick line represent second and primary signaling pathways implicated in gene expression of dehydration response, respectively. Arrows with dotted line represent signaling pathways implicated in low temperature response^[41]

ABRE 的功能, 需要 1 个偶联元件 (coupling element), 在 *HVA22* 基因的调节中组成 ABA 反应复合物 (ABA-responsive complex)^[39]。

在干旱胁迫条件下和种子脱水过程中有一些顺式作用元件 (cis-acting element), 而不是 ABRE 在 ABA 反应基因的表达中起作用。 *Sph* 盒和 *GTGTC* 模序调节依赖于 ABA 和 *VP1* (在胎萌 1 突变体中突变的玉米激活子) 的玉米 *C1* 基因的表达。 *C1* 基因产物是一种与 MYB (具有色氨酸簇模序的转录因子家族) 有关的转录因子, 在种子发育过程的花色素苷生物合成中起控制元件 (controlling element) 的作用。 *VP1* 编码 1 种转录激活子, 被认为与 bZIP 蛋白协同作用。 拟南芥 ABI3 蛋白与玉米 *VP1* 具有顺序和功能相似性^[39]。

3.2 依赖 ABA 且需要蛋白质生物合成的基因表达

在依赖于 ABA 的 b 途径中 (图 2), 干旱胁迫诱导的基因

表达需要蛋白质因子的生物合成。 干旱诱导的拟南芥基因 *rd22* 的表达可被 ABA 调节, 而且这种依赖 ABA 的表达需要蛋白质的生物合成^[39, 41]。 *rd22* 启动子的 1 个 67 bp 区域对于 ABA 反应的表达是必需的, 并含有一些保守的 DNA 结合蛋白模序, 例如 MYC (1 种具有碱性螺旋环螺旋 (basic helix loop-helix) 和亮氨酸-拉链模序 (Leu-zipper motif) 的转录因子家族) 和 MYB 的结构, 但这个区域不含 ABRE^[17]。 利用 67 bp DNA 作为探针, 通过 DNA 配体结合的方法, 已经克隆了 1 种被称为 *rd22BP1* 的转录因子 MYC 同系物的 cDNA。 *rd22BP1* 基因被干旱和盐胁迫诱导。 这些结果表明, 干旱和盐诱导的 MYC 同系物可能在 ABA 诱导的 *rd22* 表达中起作用^[1]。 编码与 MYB 有关蛋白的 *Atmyb2* 基因被脱水胁迫诱导。 一些 MYB 蛋白的结合位点已经被鉴定^[50]。 尽管 *Atmyb2* 不对冷和热胁迫起反应, 但高盐浓度条件和外源 ABA 的应用也导致 *Atmyb2* 的诱导。 重组的 ATMYB2 蛋白与 *rd22* 启动子的 67 bp 区域的 MYBRS 结合。 因此, ATMYB2 蛋白也可能作为一种控制依赖于 ABA 的 *rd22* 基因表达的转录因子, 与 *rd22BP1* 蛋白起协同作用^[1]。

水稻、玉米和拟南芥的一些 bZIP 转录因子对冷、脱水和外源 ABA 处理起反应。 这些 bZIP 蛋白与类 G 盒顺序结合。 结果表明, ABA 诱导的 bZIP 蛋白也在 1 条依赖于 ABA 的途径中 (图 2, 途径 b) 涉及。 已发现许多胁迫和 ABA 诱导的编码各种转录因子的基因^[16], 这些转录因子被认为在 ABA 诱导的基因的调节中起作用, 在 ABA 诱导的转录因子产生后, ABA 诱导的基因缓慢地对干旱胁迫起反应^[25, 39]。

3.3 在干旱胁迫过程中不依赖于 ABA 的基因表达

在 *aba* 或者 *abi* 的拟南芥突变体中, 许多基因被干旱、盐和冷胁迫所诱导。 这就提出这些基因在冷或者干旱条件下的表达不需要 ABA, 但的确对外源 ABA 起反应^[5, 16, 41]。 在这些基因中, 脱水和低温诱导的拟南芥基因 *rd29A/lr78*/*cor78* 和 *cor15a* 已经被详细地研究^[40, 47]。 在干旱、低温和高盐浓度胁迫条件下, 1 个称为脱水反应元件 (dehydration responsive element, DRE) 的 9bp 保守顺序 TACCGACAT 对于 *rd29A* 诱导的调节是必需的, 但不起 ABRE 的作用 (图 2, 途径 d)。 *rd29A* 启动子含有 ABRE, 可能在 ABA 反应的表达中起作用。 已经报道, 在许多冷和干旱诱导的基因的启动子区域存在与 DRE 有关的模序^[39]。 这些结果表明, 与 DRE 有关的模序 (包括 G-重复) 含有 1 个 CCGAC 的核心结构, 涉及干旱和冷反应, 但不依赖于 ABA 的基因表达^[39]。

有一些干旱诱导的基因对冷或 ABA 处理不起反应, 这就提出有第 4 条干旱胁迫反应途径 (图 2, 途径 a)。 这些基因包括 *rd19*、*rd21* (编码不同的巯基蛋白酶, 如半胱氨酸蛋白酶 (cysteine protease) 和 *erd1* (编码 Clp 蛋白酶的调节亚基)^[28]。 目前, 有关这条途径了解得最少。

4 干旱胁迫的信号转导

信号转导包括从干旱胁迫信号的感受各种基因表达和生理反应的整个级联 (cascade)。 在级联中起作用的信号分

子还没有被广泛地研究,是目前最具挑战性的研究领域. 干旱、高盐浓度和低温使植物发生水分亏缺,也可能在细胞水平引起膨压下降.由膨压降低引起的跨质膜渗透势的变化可能是干旱胁迫反应在分子水平的1种主要触发器^[39]. 酵母的渗透感受器(osmosensor)已被广泛地研究^[45,52]. 根据酵母渗透感受器的知识,植物干旱胁迫信号感受的研究已取得了一些进展^[6,49].

气孔是植物吸收 CO₂ 和蒸腾丧失水分的通道. 气孔保卫细胞已经成为分析植物早期信号转导机制的1种模式系统^[35,36]. 在对干旱的反应中,植物合成激素 ABA,引起气孔关闭,以减少水分丧失. 在气孔关闭过程中,细胞质 Ca²⁺ 浓度增加, Ca²⁺ 在渗透胁迫反应中起第2信使的作用. 在动物细胞中,肌醇三磷酸(inositol triphosphate, IP₃)涉及 Ca²⁺ 从细胞内贮存库释放到细胞质中;在植物细胞中,IP₃ 可能起类似的作用. 在植物细胞的干旱胁迫反应中, Ca²⁺ 和 IP₃ 是最可能的第2信使. 在植物、酵母和动物的各种信号转导级联中,蛋白质磷酸化过程被认为具有重要的作用. 已经在植物中发现各种蛋白激酶,这些激酶在包括干旱胁迫和 ABA 反应的各种信号转导途径的磷酸化过程中起作用(图3)^[39].

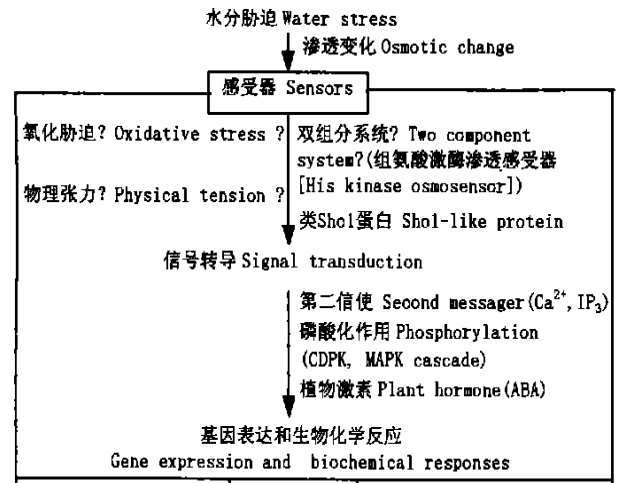


图3 在干旱胁迫反应中涉及信号感受和信号转导的第2信使和因子

Fig. 3 Second messengers and factors involved in the signal perception and the signal transduction in drought-stress response. 双组分的组氨酸激酶在植物中被认为起1种渗透感受器的作用. Ca²⁺ 和 IP₃ 是脱水信号的最可能的第2信使. 磷酸化过程在干旱胁迫和 ABA 信号转导途径中起作用. 在干旱胁迫过程中, ABA 在基因表达的调节和生理反应中起重要作用^[39]. Two component His kinase is thought to function as an osmosensor in plants. Ca²⁺ and IP₃ are the most probable second messengers of the dehydration signal. The phosphorylation process functions in drought-stress and ABA signal transduction pathways. ABA plays important roles in the regulation of gene expression as well as physiological responses during drought stress^[39].

4.1 渗透感受器

典型的“双组分系统(two-component system)”是由1种感受器激酶(sensor kinase)或组氨酸蛋白激酶(His protein kinase, HPK)和1种反应调控因子蛋白(response regulator protein, RR)组成^[6]. HPK 含有1个N末端输入区域和1个具有组氨酸残基的C末端激酶区域;RR 含有1个具有天冬氨酸残基的N末端接受区域和1个C末端输出区域^[6]. 大肠

杆菌渗透反应系统由1个HPK 渗透感受器(EnvZ)和1个RR 转录因子(OmpR)组成. EnvZ 利用 ATP 作为磷酸供体而自动磷酸化. 来自 EnvZ 传递组件(transmitter module)的磷酸被转移到 OmpR 接受组件(receiver module)的天冬氨酸残基上(图4). 在高渗条件下,磷酸化的 OmpR 起转录因子的作用,增量调节 *OmpC* 基因和减量调节 *OmpF* 基因^[6]. 这2个基因编码调节膨压的细菌外膜蛋白^[39].

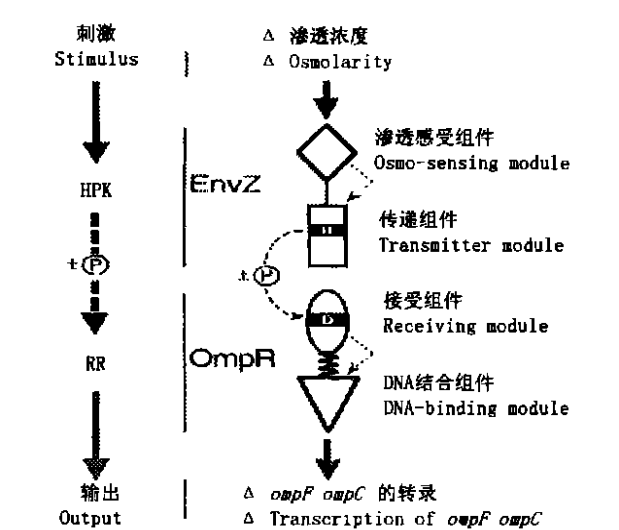


图4 基本的双组分系统的例子

Fig. 4 Example of a basic two-component system. 大肠杆菌渗透反应系统由 HPK 渗透感受器(EnvZ)和 RR 转录因子(OmpR)组成. EnvZ 利用 ATP 作为磷酸供体自动磷酸化. 来自 EnvZ 传递元件的磷酸被转移到 OmpR 接受元件的天冬氨酸残基(Asp),从而影响了 OmpR DNA-结合元件的启动子相互作用,调节2种孔蛋白基因. *ompF* 和 *ompC* 的转录. 渗透浓度的变化由 EnvZ 的氨基末端元件感受. 在上述反应中,EnvZ 改变磷酸化的 OmpR 的水平. 点线表示蛋白质内的调节相互作用,虚线表示磷酸化/去磷酸化事件. The *E. coli* osmolarity-response system consists of an HPK osmosensor(EnvZ) and an RR transcription factor(OmpR). EnvZ autophosphorylates using ATP as the phosphate donor. The phosphate from the transmitter module of EnvZ is then transferred to an Asp residue in the receiver module of OmpR, thereby affecting the promoter interactions of the OmpR DNA-binding module, which regulates the transcription of two porin genes, *ompF* and *ompC*. Changes in osmolarity are perceived by the amine-terminal module of EnvZ. In response to such changes, EnvZ changes the level of phosphorylated OmpR. The dotted lines depict intra-protein regulatory interactions. The dashed line depicts phosphorylation / dephosphorylation events. P: 磷酸基 Phosphoryl group; H: 组氨酸 His; D: 天冬氨酸 Asp^[6].

在酵母中,高渗透浓度活化包括 PBS2(MAPKK)和 HOG1(MAPK)的1条MAPK级联,然后活化一些在甘油(重要的渗透保护剂)生物合成中涉及的基因. 在高渗透胁迫反应的早期阶段起作用的3个基因产物(Sln1p、Ypd1p和 Ssk1p)编码组成原核生物类型的双组分调节系统的信号分子^[32,52]. Sln1p 被认为在高渗透浓度条件下起感受器蛋白的作用,使反应调控因子蛋白 Ypd1p 和 Ssk1p 磷酸化. 3个蛋白因子进行4个步骤的磷传递(His-Asp-His-Asp). 在高渗透浓度下,磷酸化的 Ssk1p 活化 Ssk2p 或 Ssk22p(MAPKKK)^[23],引起通过 Ser-Thr 磷酸化的 Pbs2p(MAPKK)的活化. 然后,磷酸化的 Pbs2p 通过 Thr-Tyr 的磷酸化活化 Hog1p(MAPK).

在高等植物对水分缺乏的反应中, 类似于酵母的渗透感受机制可能起作用. 已经从拟南芥中克隆了 1 个杂合的组氨酸激酶(hybrid histidine kinase) ATHK1. 在 N 末端的一半紧接细胞外区域, ATHK1 含有 2 个疏水的跨膜区域, 被认为在功能上类似于酵母渗透感受器 SLN1. 利用酵母渗透感受缺乏的突变体, 通过分析 ATHK1 的感受(输入)和催化(输出)活性, 已经证明了这种可能性. ATHK1 能够抑制 *sln1-ts* (*sln1-4*) 突变体. 相反, 磷酸化位点 His 或 Asp 的取代不能补充 *sln1-ts* 突变体, 表明 ATHK1 在酵母中起组氨酸激酶的作用, 以及在外源信号(例如高渗透浓度)缺乏时, ATHK1 处于活性状态. 此外, ATHK1 允许缺乏渗透感受器 SLN1 和 SHO1 的酵母突变体活化 HOG1, 并在高渗透条件下正常生长. 这些结果表明, 在对外源渗透浓度增加的反应中, ATHK1 的活性从活化状态转变为失活状态. 因此, 在酵母中 ATHK1 似乎有感受和转导外源渗透信号到下游靶子的能力. 植物根部 ATHK1 mRNA 的含量比其他组织更丰富, 并易在高盐和低温条件下积累. 根部的高水平表达表明, ATHK1 对于环境信号(例如高盐和干旱)的有效感受是必需的^[49].

在拟南芥中也克隆了许多反应调控因子^[15]. 根据它们的结构, 反应调控因子可以分为 2 种类型, 即类型 A 和 B. 类型 A 反应调控因子主要由接受区域和短的 N 和 G-末端延伸组成, 而类型 B 反应调控因子具有接受区域和大量延伸的 G-末端区域(输出区域). 已证明, A、B 类型的反应调控因子具有不同的结构特征、表达方式和生化活性^[49].

4.2 第 2 信使

在植物细胞信号中, Ca^{2+} 是 1 种普遍的第 2 信使^[34]. 细胞质 Ca^{2+} 信号转导途径涉及植物细胞的膨压调节^[2]. Ca^{2+} 释放进入细胞质诱导气孔关闭. 细胞质游离 Ca^{2+} 浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的增加是 ABA 诱导保卫细胞膨压变化的主要机制. 许多其他的影响气孔的细胞外刺激都诱导保卫细胞中 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的增加^[24]. 磷酸肌醇信号与保卫细胞中 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的增加有关, 因为增加细胞质中的 IP_3 浓度引起 Ca^{2+} 的动员. 已经证明, 在高渗透胁迫后 IP_3 的含量增加. 在高渗透胁迫后, 前体脂类变化成为 IP_3 , 与肌醇磷酸代谢有关的酶活性发生变化. 在 ABA 诱导气孔关闭前, 保卫细胞中磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸的水平下降, IP_3 含量增加. 液泡对 IP_3 反应的能力被高渗透胁迫所促进^[39]. IP_3 或 cADPR (cydlic ADP-ribose) 显微注射入保卫细胞的细胞质, 可诱导保卫细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的增加, 从而触发保卫细胞膨压的丧失和气孔关闭^[24, 35].

在保卫细胞中, 细胞质 pH 可能是另 1 种 ABA 信号的第 2 信使, 它在不依赖 Ca^{2+} 的途径中起作用. ABA 引起保卫细胞的细胞质碱化(alkalization), 这与 ABA 活化了向外运输 K^+ 的通道(outward rectifying K^+ channel)有关^[24, 35].

4.3 干旱胁迫诱导的信号因子基因

在高等植物中与信号转导途径有关的许多基因(例如编码钙调素(calmodulin)、G-蛋白、蛋白激酶和转录因子的基因)被环境刺激所诱导. 一些蛋白激酶和磷脂酶 C(phospholipase

C, PLC) 的基因也被干旱、盐和冷胁迫所诱导^[39].

Hirayama 等^[11] 已经从脱水的拟南芥中分离了 PLC 和 AtPLC1 的 cDNA. AtPLC1 基因在转录水平被盐和干旱强烈地诱导, 被低温轻微地诱导. 此外, 拟南芥中依赖于钙的蛋白激酶 (calcium-dependent protein kinase, CDPK) 的 ATCDPK1 和 ATCDPK2 基因被干旱和盐胁迫迅速诱导. 干旱胁迫诱导的 PLC 和 CDPK 可能在信号转导的级联中起作用(图 3). 在玉米原生质体中, 胁迫诱导的 CDPK、ATCDPK1 的组成型活性催化区域的共同表达引起 ABA 诱导的 HVA1 启动子-报道融合基因(promoter-reporter fusion gene)的表达^[37]. HAV1 启动子不仅被冷、高盐和 ABA 处理激活, 而且被 Ca^{2+} 活化. 这些观察也支持了在干旱胁迫条件下的信号转导途径中 Ca^{2+} 的第 2 信使作用和 ATCDPK1 的正调控因子作用.

MAPK 是存在于所有真核生物中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是细胞内信号转导的重要因子^[12]. 根据系统分析, 至少有 4 个 MAPK 亚家族^[26]. ATMPK3 是 1 个 MAPK 基因, 在 mRNA 水平被干旱、低温、高盐和触摸所诱导^[27]. 此外, 在 MAPK 级联中涉及的两个蛋白激酶基因, MAPKK (ATMEKK1) 和核糖体 S6 激酶(RSK; ATPK19)被类似的胁迫所诱导. Jonak 等^[19] 已经证明, 苜蓿 (*Medicago sativa*) 的 MAPK、MMK4 在翻译后水平被各种胁迫包括干旱、低温和机械刺激活化; MMK4 基因也在转录水平被这些胁迫条件诱导. 专一的拟南芥 MAPK 和 MAPKK 基因的转录水平随着干旱、冷、触摸和高盐浓度而增加^[27].

5 用转基因植物来评价基因功能

转基因植物允许与干旱有关的基因在体内目标表达(targeted expression), 因此是 1 种评价由编码蛋白授与功能和耐性的良好系统. 通过控制 ABA 生物合成的基因的异位表达(ectopic expression), 改变体内的激素平衡, 从而阐明 ABA 在干旱反应中的作用是可能的. 利用转基因植物的另一个目的是提高农作物的耐干旱性. 尽管进行了转基因的广泛研究, 但具有提高胁迫耐性的转基因植物的例子仍然较少, 原因很可能是胁迫耐性涉及不同途径的基因表达产物的合成.

作为渗透保护剂的低分子量代谢物的积累是许多生物对干旱、盐碱和低温条件的 1 种普遍适应. 在合成保护性渗透溶质(protective osmolyte)的工程植株中, 微生物似乎是有用的基因来源. 通过导入编码甘露醇-1-磷酸脱氢酶的细菌基因, 已经获得了合成和积累糖醇(甘露醇)的转基因烟草 (*Nicotiana tabacum*) 植株. 产生甘露醇的植株表现出耐盐性增加^[48]. 同样, 一种用大肠杆菌 *bet* 基因转化的淡水蓝藻产生大量的甘氨酸甜菜碱, 在 NaCl 存在时, 它稳定了光合作用活性, 从而较好地生长^[29]. 在水分缺乏时, 从乌头叶菜豆 (*Vigna aconitifolia*) 克隆的 P5CS 在烟草中的表达使脯氨酸的含量与野生型相比增加 2 倍. 利用微生物(*Bacillus subtilis* 和 *Streptococcus mutans*) 果糖转移酶基因已经构建了积累多

聚果糖分子的烟草植株。这些植株在聚乙二醇调节的干旱胁迫下表现出良好的生长, 积累的果聚糖水平与耐性程度呈正相关^[5]。渗透物的积累与植物胁迫耐性的关系见图 5。

干旱和许多其他胁迫的结果之一是活性氧分子的产生, 活性氧分子对细胞组分(如膜)产生严重的伤害。因此, 具有较高活性氧清除剂浓度的植株在非致死胁迫条件下表现出较好的胁迫耐性。当烟草 M⁺SOD 基因在苜蓿中过量表达时, 植株在冰冻胁迫后表现出较高的生长速率^[16]。

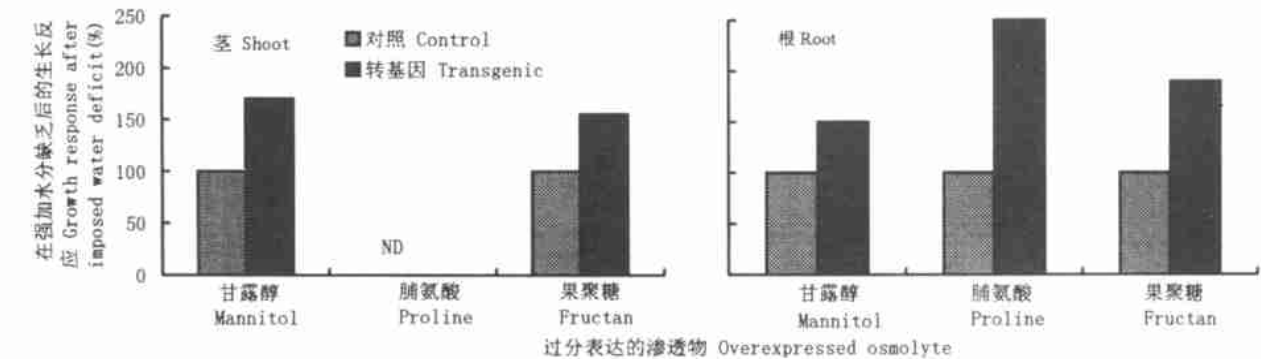


图 5 遗传工程植株中渗透物与胁迫耐性
Fig. 5 Accumulation of osmolytes and stress tolerance in genetic engineering plants.
在转基因植株中, 渗透物(甘露醇、脯氨酸和果聚糖)的过量表达能提高植株的干旱胁迫耐性 Over-expression of osmolytes (mannitol, proline and fructosan) can increase drought-stress tolerance of plant in transgenic plants.

6 结 语

干旱胁迫是影响植物生长发育的主要逆境因子, 严重制约干旱、半干旱地区的生产发展。充分利用我国丰富的植物资源特别是沙生植物资源, 研究植物干旱胁迫的分子机理, 提高植物(农作物)的脱水耐性, 对于减轻和防止沙漠化、保护环境、扩大种植面积以及增加农作物产量都具有重要的理论和实际意义。

种子脱水耐性的相对水平随发育过程而发生变化, 正常性种子成熟时胚的脱水耐性增加, 种子萌发时胚又变为不耐脱水。顽拗性种子在整个发育过程中不耐脱水, 对水分丧失高度敏感^[43, 44]。C. plantagineum (被子植物)、Tortula ruralis (苔藓植物)和蕨类植物能忍受严重的脱水^[16]。利用这些特性建立和完善具有脱水耐性的模式研究系统, 并对其进行详细分析, 可以揭示表达的含有脱水耐性的遗传信息。

尽管许多与干旱胁迫有关的基因已被鉴定, 但大部份资料仍然是描述性的, 因为只有少数编码蛋白的功能被确定^[16]。鉴定那些对干旱胁迫最敏感的代谢步骤, 诱导产生和分析突变体, 将与耐旱性有关的基因导入植物, 探讨其编码蛋白的功能及与脱水耐性的关系是继续阐明一些胁迫耐性机制的有效技术。

在植物对干旱胁迫的信号感受的研究中, 对信号感受器的知识仍很缺乏, 这一领域的工作主要受细菌和酵母渗透感受器研究的启发。Ca²⁺ 在植物细胞信号转导中是一种普遍存在的第 2 信使, 与植物的干旱耐性密切相关^[34], 都有待进一步深入研究。

Holmstr^Lm 等^[14]已成功地将 1 种编码海藻糖的酵母基因转入烟草。在这种转基因的植株中, 海藻糖的含量为 0.8 ~ 3.2 mg·g⁻¹ (干重), 而在未转化的对照中为 0.06 mg·g⁻¹。对照的幼苗在风干 2h 后表现出萎蔫迹象, 在风干 7 h 后坍塌; 在重新水合后, 这些未转化的幼苗死亡。转基因的幼苗只有在风干超过 7 h 时叶片边缘才受到影响; 在重新水合后, 它们完全恢复膨压和重新开始生长。

参考文献

1 Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, et al. 1997. Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell*, **9**: 1859~ 1868
2 Blatt MR. 2000. Ca²⁺ signaling and control of guard-cell volume in stomatal movements. *Current Opinion Plant Biol*, **3**: 196~ 204
3 Bewley JD, Black M. 1994. Seeds, Physiology of Development and Germination. New York: Plenum Press. 117~ 145
4 Bonifacino JS, Weissman AM. 1998. Ubiquitin and the control of protein fate in the secretory and endocytic pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **14**: 19~ 57
5 Bray EA. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*, **2**: 48~ 54
6 Chang C, Stewart RC. 1998. The two component system, regulation of diverse signaling pathways in prokaryotes and eukaryotes. *Plant Physiol*, **117**: 723~ 731
7 Close TJ. 1996. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration protein. *Physiol Plant*, **97**: 795~ 803
8 Cushman JC, Bohnert HJ. 2000. Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion Plant Biol*, **3**: 117~ 124
9 Elster R. 1994. Physiological and Molecular Characteristics of Sucrose-phosphate Synthase and Sucrose Synthase in Drought Treated Hungspflanze *Craterostigma plantagineum* Hochst. Ph D Thesis, Univ K^Lln.
10 Esparteiro J, Pinter-Toro JA, Pardo JM. 1994. Differential accumulation of S-adenosylmethionine synthetase transcripts in response to salt stress. *Plant Mol Biol*, **25**: 217~ 227.
11 Hirayama T, Ohto C, Mizoguchi T, et al. 1995. A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **92**: 3903~ 3907
12 Hirt H. 1997. Multiple roles of MAP kinase in plant signal transduction. *Trends Plant Sci*, **2**: 11~ 15
13 Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci*, **6**: 431~ 438
14 Holmstr^Lm K, Mantyla E, Welin B, et al. 1996. Drought tolerance in tobacco. *Nature*, **379**: 683~ 684
15 Imamura A, Hanaki N, Nakamura A, et al. 1999. Compilation and characterization of Arabidopsis response regulators implicated in His-Asp phosphorelay signal transduction. *Plant Cell Physiol*, **40**: 733~ 742

- 16 Ingram J, Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plant. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **47**: 377~403
- 17 Iwasaki T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 1995. Identification of a cis regulatory region of a gene in *Arabidopsis thaliana* whose induction by dehydration is mediated by abscisic acid and requires protein synthesis. *Mol Gen Genet*, **247**: 391~398
- 18 Johansson I, Karlsson C, Ek B, *et al.* 1996. The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and phosphorylated in response to Ca^{2+} and apoplastic water potential. *Plant Cell*, **8**: 1181~1191
- 19 Jonak C, Kiegl M, Ligterink W, *et al.* 1996. Stress signalling in plants: A MAP kinase pathway is activated by cold and drought. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 11274~11279
- 20 Kemode AR. 1997. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. *Seed Sci Res*, **7**: 75~95
- 21 Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K. 1994. Cloning of cDNA for genes that are early-response to dehydration stress(ERDS) in *Arabidopsis thaliana* L.: Identification of three ERDS as HSP cognate genes. *Plant Mol Biol*, **25**: 791~798
- 22 Kiyosue T, Yoshida Y, Yamaguchi-Shinozaki K. 1996. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but down-regulated by dehydration in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **8**: 1323~1335
- 23 Maeda T, Takehara M, Saito H. 1995. Activation of yeast PBS2 MAPKK by MAPKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor. *Science*, **269**: 554~558
- 24 McAnish MR, Brownlee C, Hetherington AM. 1997. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction. *Physiol Plant*, **100**: 16~29
- 25 Merkt S, Giraudat J. 1997. Genetic analysis of abscisic acid signal transduction. *Plant Physiol*, **114**: 751~757
- 26 Mizoguchi T, Ichimura K, Shinozaki K. 1997. Environmental stress response in plants: The role of mitogen-activated protein kinase (MAPKs). *Trends Biotechnol*, **15**: 15~19
- 27 Mizoguchi T, Irie K, Hirayama T, *et al.* 1996. A gene encoding a MAP kinase is induced simultaneously with genes for a MAP kinase and an S6 kinase by touch, cold and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 765~769
- 28 Nakashima K, Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K, *et al.* 1997. A nuclear gene *erd1* encoding a chloroplast-targeted Clp protease regulatory subunit homolog is not only induced by water stress but also developmentally upregulated during senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, **12**: 851~861
- 29 Nomura M, Ishitani M, Takabe T, *et al.* 1995. *Synechococcus* sp.: PCC 7942 transformed with *Escherichia coli* bet genes produces glycine betaine from choline and acquires resistance to salt stress. *Plant Physiol*, **107**: 703~708
- 30 Nuccio ML, Rhodes DR, McNeil SD, *et al.* 1999. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Current Opinion Plant Biol*, **2**: 128~134
- 31 Oliver MJ, Bewley JD. 1997. Desiccation-tolerance of plant tissue: A mechanistic overview. *Hort Rev*, **18**: 171~213
- 32 Posas F, Wurgler-Murphy SM, Maeda T, *et al.* 1996. Yeast HOG1 MAP kinase cascade is regulated by a multistep phosphorelay mechanism in SLN1-YPD1-SSK1 two component osmosensor. *Cell*, **86**: 865~875
- 33 Rentsch D, Hirner B, Schmelzer E, *et al.* 1996. Salt stress-induced proline transporters and salt stress-repressed broad specificity amino acid permeases identified by suppression of a yeast amino acid permease targeting mutant. *Plant Cell*, **8**: 1437~1446
- 34 Sanders D, Brownlee C, Harper JF. 1999. Communicating with calcium. *Plant Cell*, **11**: 691~706
- 35 Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, *et al.* 2001. Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **52**: 627~658
- 36 Schroeder JI, Kwak JM, Allen DJ. 2001. Guard cell abscisic acid signaling and engineering drought hardness in plants. *Nature*, **410**: 327~330
- 37 Sheen J. 1996. Ca^{2+} -dependent protein kinase and stress signal transduction in plants. *Science*, **274**: 1900~1902
- 38 Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 1996. Molecular responses to drought and cold stress. *Current Opin Biotechnol*, **7**: 161~167
- 39 Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 1997. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol*, **115**: 327~334
- 40 Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 1999. Molecular response to drought stress. In: Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K eds. *Molecular Responses to Cold, Drought, Heat and Salt Stress in Higher Plants*. Austin: RG Landes. 11~28
- 41 Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: Differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Current Opinion Plant Biol*, **3**: 217~223
- 42 Smimoff N. 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion Biotech*, **9**: 214~219
- 43 Song S-Q(宋松泉), Fu J-R(傅家瑞). 1997. Desiccation sensitivity and lipid peroxidation in Chinese wampee (*Causene lansium* (Lour.) Skeels). *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报), **23**: 163~168(in Chinese)
- 44 Song SQ, Fu JR. 1999. Desiccation sensitivity and peroxidation of membrane lipids in lychee seeds. *Trop Sci*, **39**: 102~106
- 45 Stock AM, Robinson VL, Goudreau PN. 2000. Two-component signal transduction. *Annu Rev Biochem*, **69**: 183~215
- 46 Taiz L, Zeiger E. 1998. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates Inc. 61~80
- 47 Thomashow MF. 1999. Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanism. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **50**: 571~599
- 48 Tarczynski MC, Jensen RG, Bohnert H. 1993. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science*, **259**: 508~510
- 49 Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2000. Two-component systems in plant signal transduction. *Trends Plant Sci*, **5**: 67~74
- 50 Uimari A, Strommer J. 1997. Myb26: A MYB-like protein of pea flowers with affinity for promoters of phenylpropanoid genes. *Plant J*, **12**: 1273~1284
- 51 Winter K, Smith JAC. 1996. *Crassulacean Acid Metabolism: Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. Berlin: Springer-Verlag.
- 52 Wurgler-Murphy SM, Saito H. 1997. Two-component signal transducers and MAPK cascades. *Trends Biochem Sci*, **22**: 172~176
- 53 Xing W, Rajashekar CB. 1999. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycine betaine. *Plant Sci*, **148**: 185~195
- 54 Xing W, Rajashekar CB. 2001. Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Env Exp Bot*, **46**: 21~28
- 55 Yoshida Y, Kiyosue T, Katagiri T, *et al.* 1995. Correlation between the induction of a gene for Δ^1 -pyrroline 5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *Plant J*, **7**: 751~760

作者简介 宋松泉,男,1957年生,理学博士,研究员,主要从事逆境植物分子生理学和种子生物学的教学和研究,发表论文60余篇。E-mail: sgsong@xtbg.org.cn