

[文章编号] 1000-2782(1999)04-0102-07

植物抗旱分子机理

郭卫东¹, 沈 向¹, 李嘉瑞¹, 郑学勤²

(1. 西北农业大学园艺系, 陕西杨陵 712100)

(2. 华南热带作物生物技术国家重点实验室, 海南儋州 571737)

[摘 要] 植物能够通过渗透调节、脱水保护、代谢调整等多种途径适应干旱胁迫。在受到轻度干旱胁迫时, 渗透调节是主要途径。当干旱胁迫的强度超出渗透调节的范围时, 失水成为必然, Lea 蛋白及糖类脱水保护物质在植物中的积累有利于保护生物大分子, 尤其是膜系统免受破坏。长期轻度干旱能改变某些植物的代谢途径, 有利于植物适应干旱环境。主要阐述了与渗透调节、脱水保护、代谢调整相关的基因表达调控及抗旱基因工程的研究进展。

[关键词] 植物; 抗旱; 基因; 分子机理

[中图分类号] Q 789 [文献标识码] A

在自然条件下, 植物往往因为环境胁迫而不能充分发挥其遗传潜力, 其中, 干旱是阻碍植物生长发育的重要非生物因子之一^[1]。然而, 不同植物对干旱的适应能力有很大差异, 了解植物适应干旱胁迫的分子机理有利于开展抗旱基因工程研究, 对提高植物抗旱能力, 促进农业生产的发展具有非常重要的意义。

1 渗透调节

在受到轻度干旱胁迫时, 植物能够通过渗透调节降低水势, 保持膨压。植物的渗透调节主要通过脯氨酸、甜菜碱等亲和性溶质的积累而实现^[2]。此外, 离子和水分通道的变化调节着离子和水分进出细胞, 也是渗透调节的重要方面。

1.1 渗透物质的积累

无机离子和小分子有机化合物都有渗透调节作用, 但是, 高浓度的无机离子常引起代谢紊乱^[3]。脯氨酸、甜菜碱等小分子有机物的大量积累不会破坏生物大分子的结构和功能, 表现出良好的亲和性, 而且具有较强的渗透调节作用, 因此, 是理想的渗透物质。

脯氨酸的累积是由脯氨酸生物合成的活化和生物降解的抑制而产生的^[4]。植物体中脯氨酸的生物合成有 2 条途径, 即谷氨酸途径和鸟氨酸途径(图 1)^[5~7]。这 2 条途径在不同的生理状态下表现不同。在渗透胁迫且氮素缺乏时, 谷氨酸途径是合成脯氨酸的主要途径, 而在氮素摄入充足时, 主要通过鸟氨酸途径合成脯氨酸^[5]。

Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸合成酶(P5CS)是一个双功能酶, 具有 γ -谷氨酰激酶和谷氨酰 γ -半醛脱氢酶活性, 催化脯氨酸生物合成的谷氨酸途径的前两步, 其活性受脯氨酸反馈抑

制。Hu 等从蚕豆(*Vigna aconitifolia*) 中分离得到编码 P5CS 的 cDNA. 渗透胁迫诱导 P5CS 基因高水平表达, 表明 P5CS 是脯氨酸生物合成中起关键作用的酶^[6]。

鸟氨酸 δ -氨基转移酶(δ -OAT) 催化鸟氨酸转氨基生成谷氨酰- γ -半醛(GSA), 绕过了从谷氨酸生成 GSA 的前两步反应。蚕豆(*V. aconitifolia*) δ -OAT cDNA 得到克隆^[5], 其编码多肽的分子质量为 48.1 ku, 是植物脯氨酸生物合成中另一个关键酶。

脯氨酸生物合成的最后一步是由 Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸还原酶(P5CR) 催化的。用大豆 P5CR 基因转化烟草, 在 CaMV 35S 启动子控制下表达, 能引起 P5CR 的积累, 但是, 并未引起脯氨酸的大量积累, 而且, 在渗透胁迫时也未发现 Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸(P5C) 累积。这表明, 在脯氨酸生物合成中 P5C 的还原并不是限速步骤^[8]。

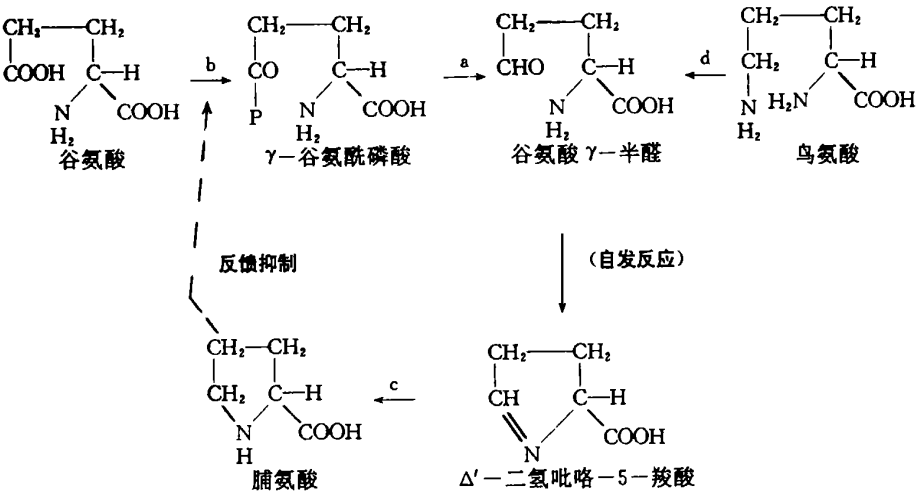


图 1 脯氨酸生物合成途径

a. 谷氨酰 γ -半醛脱氢酶; b. γ -谷氨酰激酶; c. Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸还原酶; d. 鸟氨酸 δ -氨基转移酶

渗透胁迫解除后, 植物体脯氨酸含量能够恢复至正常状态, 在此过程中, 脯氨酸脱氨酶(PDH) 起着重要作用。PDH 催化脯氨酸转化为谷氨酸的第 1 步反应。Z. Peng 等^[9]克隆了拟南芥 PDH cDNA, AtPDH. 在干旱胁迫条件下, P5CS 水平提高, PDH 转录水平很低, 此时游离脯氨酸水平提高约 10 倍。解除胁迫后, P5CS 基因表达水平下降, 8 h 后恢复常态。相反, PDH mRNA 水平则上升, 6 h 后达到峰值。脯氨酸水平随之降低。可见, P5CS 和 PDH 基因的相反方向调节是植物胁迫与恢复状态下控制脯氨酸水平的关键机制。

甜菜碱是植物中另一类常见的亲和性渗透物质, 广泛存在于高等植物、动物与细菌中, 其生物合成是从胆碱开始经 2 步氧化生成的(图 2)^[8, 10]。干旱胁迫下, 甜菜碱的累积与胆碱加单氧酶(CMO)和甜菜碱醛脱氢酶(BADH)活性的增加密切相关^[11]。

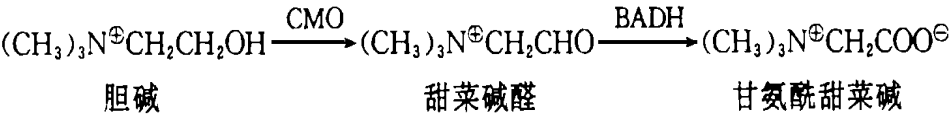


图 2 甜菜碱合成途径

胆碱加单氧酶催化胆碱氧化生成甜菜碱醛, Brouquisse 等发现^[11], 菠菜叶绿体基质中有这种依赖于铁氧还蛋白的酶存在。Burnet 等^[12]已从菠菜叶片纯化了 CMO。甜菜碱醛脱氢酶是甜菜碱醛特异性酶^[13], 其相应的 cDNA 已分别从菠菜、甜菜、大麦等植物中得到克隆。

此外, 蔗糖、海藻糖、甘露糖醇等糖类, 以及渗透蛋白、脱水素、胚胎发生后期丰富蛋白等大分子物质也对渗透调节有一定贡献。

1.2 水通道蛋白的作用

水通道蛋白(Aquaporin) 是水分跨膜运输的重要途径之一, 它是指作为跨膜通道的主嵌入蛋白(MIP) 家族中具有运输水分功能的一类蛋白质^[14]。在植物中发现的第 1 个水通道蛋白是大豆根瘤细胞中的植物编码蛋白(NOD26)^[15]。随后逐渐发现了大量水通道蛋白, 根据其序列特征可划分为 3 个亚类^[14, 15], 即分布于液泡膜上的液泡膜嵌入蛋白(TIP), 分布于细胞质膜上的胞质膜嵌入蛋白(PIP) 和根瘤细胞中的 NOD26。

干旱诱导豌豆(*Pisum sativum*) 产生编码水通道蛋白的 cDNA 7a^[16]和 Trh-31^[17], 拟南芥干旱诱导的 cDNA, RD28, 其编码蛋白也属水通道蛋白^[18]。这表明干旱能诱导水通道蛋白基因表达, 从而改变膜的水分通透性, 使水分更易于透过胞质膜或液泡膜进入细胞, 有利于实现渗透调节。

2 脱水保护

在严重干旱条件下, 超出渗透调节范围时, 有些植物能够存活, 恢复供水后迅速恢复生长, 其机理在于, 这些植物在失水时产生的一些大分子或小分子有机物具有脱水保护功能, 能够在水分亏缺时保护膜系统及其他生物大分子免受破坏, 胚胎发生后期丰富蛋白(Lea 蛋白) 及糖类是这类脱水保护物质的代表。

2.1 Lea 蛋白

Lea 蛋白是指胚胎发生后期种子中大量积累的一系列蛋白质。Lea 蛋白广泛存在于高等植物中。在植物个体发育的其他阶段, 也能因 ABA 或脱水诱导而在其他组织中高水平表达。一般认为, Lea 蛋白在植物细胞中具有保护生物大分子, 维持特定细胞结构, 缓解干旱、盐、寒等环境胁迫的作用。

Lea 蛋白大多是高度亲水的。高度亲水性有利于 Lea 蛋白在植物受到干旱而失水时, 能够部分替代水分子, 蛋白质的多羟基能保持细胞液处于溶解状态, 从而避免细胞结构的塌陷, 稳定细胞结构, 尤其是膜结构^[19]。

在干旱脱水过程中细胞液的离子浓度会迅速升高, 高强度的离子浓度会造成细胞的不可逆伤害。在第 3 组 Lea 蛋白的基元序列所构成的兼性 α -螺旋结构中, 亲水和疏水氨基酸分处于螺旋的特定位置, 形成分子内螺旋束, 其表面具有束缚阴离子和阳离子的能力, 因此, 也能控制高盐伤害^[20]。

植物在受到干旱胁迫时, Lea 基因的高水平表达和 Lea 蛋白的大量积累也表明 Lea 蛋白基因具有干旱保护功能^[21]。Xu 等^[22]将 HVA1 cDNA 全序列导入水稻, 获得了抗旱的转基因水稻, 从而直接证实了 Lea 基因的干旱保护功能。

2.2 可溶性糖

在严重干旱状态下, 植物细胞中蔗糖含量迅速增加, 对细胞具有保护作用^[23]。这种保护作用一方面是通过玻璃态化实现的, 糖类的积累能产生具有固体机械特性的超饱和液体, 从而避免发生细胞溶液结晶, 防止细胞塌陷, 限制大分子的混合, 使细胞处于一种稳定的静止状态^[24]。另一方面, 通过体外研究表明^[23], 蔗糖、麦芽糖、海藻糖等双糖能在干燥状态下稳定酶活性, 也能保护膜结构。可见, 糖类也是植物体中一类重要的脱水保护剂。

3 代谢调整

在长期干旱胁迫条件下, 植物通过代谢途径的转变来适应环境。这方面研究较多的是午时花(*Mesembryanthemum crystallinum*) 光合途径转变。

午时花是一种兼性盐生植物, 在受到干旱或高盐胁迫时其光合作用从 C_3 途径转变为景天酸代谢(CAM) 途径^[25], 胁迫条件促进编码CAM 途径相关酶的 mRNA 增加, 这些酶的含量和活性随之提高^[26]。

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC) 是CAM 途径的关键酶之一, 水分胁迫能诱导午时花PEPC 高水平表达^[27]。

烯醇化酶(磷酸丙酮酸水合酶) 也是CAM 途径的重要酶。编码该酶的 cDNA, Pghla 和 Pghlb 已从午时花中得到克隆。在受到干旱或盐胁迫时, 叶片中 Pgh1 转录速率提高, 烯醇化酶转录产物在叶片中积累, 从而使叶片中烯醇化酶活性得到提高^[28]。胁迫引起的光合途径转变包含着复杂的调控机制, 在转录水平、转录后水平和翻译后水平都存在调节作用。

4 抗旱基因转化植物的研究

植物遗传转化已成为当今植物生物学的核心研究手段, 也是栽培植物品种改良的实用工具之一^[29]。但是, 抗旱基因转化植物的研究报道较少, 主要以模式植物烟草为研究对象, 探讨抗旱基因的作用。依据植物抗旱分子机理的不同, 可以利用不同的外源基因转化植物以达到提高植物抗旱性的目的。

4.1 提高植物体渗透物质含量

梁峥等^[30]利用甜菜碱醛脱氢酶(BADH) 基因转化烟草, 转基因烟草植株中甜菜碱的含量提高。甘露糖醇-1-磷酸脱氢酶基因转化烟草后, 能提高植物体中甘露糖醇的含量^[31]。这些研究都是旨在提高植物体中渗透物质含量, 增强植物的渗透调节能力, 从而达到抵抗渗透胁迫的目的。

4.2 增加脱水保护物质

利用Lea 基因转化植物以增加转基因植物中大分子脱水保护物质——Lea 蛋白含量的研究也有报道^[23, 32]。将大麦 Lea cDNA, HVA1 导入水稻获得的转基因水稻表现出较强的抗旱、耐盐能力, 去除胁迫后, 生长恢复迅速。这不仅证实了 Lea 蛋白的脱水保护功能, 而且表明了 Lea 基因在抗胁迫基因工程中的潜在利用价值^[23]。

海藻糖是广泛存在于微生物中的脱水保护物质, 具有稳定细胞膜及蛋白质结构的功能^[33]。更苏植物中也有较高的海藻糖含量^[34], 这与更苏植物在含水量极低时仍能存活有

密切关系。用酵母海藻糖合成酶基因 TPS1 转化烟草,能显著提高烟草抗旱能力^[35,36]。用大肠杆菌海藻糖合成酶基因复合体 *otsBA* 转化烟草和马铃薯^[37],也得到相似结论,即海藻糖在植物体中积累能提高其抗旱性。

4.3 通过代谢调节提高植物抗旱性

Mckersie 等利用超氧化物歧化酶(SOD)基因转化苜蓿,获得了抗渗透胁迫能力较强的转基因植株^[38]。其机理在于通过 SOD 的过量表达,改善苜蓿在干旱胁迫条件下的代谢环境,提高耐氧化胁迫的能力,从而增强抗旱性。

利用基因工程提高植物抗旱性的研究工作方兴未艾,前景广阔。但是,目前的研究工作还处在探索阶段,尚未出现利用抗旱基因工程培育的商业化用途的作物品种。随着抗旱分子机理研究的不断深入,抗旱基因工程必将走向实用化,为干旱节水农业的进一步发展做出重要贡献。

[参考文献]

- [1] Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stress[J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 1099 ~ 1111.
- [2] Bray E A. Molecular responses to water deficit[J]. *Plant Physiol*, 1993, 103: 1035 ~ 1040.
- [3] Yancey P H, Clark M E, Hand S C, et al. Living with water stress: Evolution of osmolyte systems[J]. *Science*, 1982, 217: 1214 ~ 1222.
- [4] Kiyosue T, Yoshida Y, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is up regulated by proline but down regulated by dehydration in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1323 ~ 1325.
- [5] Delauney A J, Hu C A, Kishor P B K, et al. Cloning of ornithine- δ -aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268: 18673 ~ 18678.
- [6] Hu C A, Delauney A J, Verma D P S. A bifunctional enzyme (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 9354 ~ 9358.
- [7] Le Rudulier D, Strom A R, Danekar A M, et al. Molecular biology of osmoregulation[J]. *Science*, 1984, 224: 1064 ~ 1068.
- [8] Szoke A, Miao G H, Hong Z, et al. Subcellular location of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean[J]. *Plant Physiol*, 1992, 99: 1642 ~ 1649.
- [9] Peng Z, Lu Q, Verma D. Reciprocal regulation of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants[J]. *Mol Gen Genet*, 1996, 253: 334 ~ 341.
- [10] Wood A J, Saneoka H, Rhodes D, et al. Betaine aldehyde dehydrogenase in sorghum. Molecular cloning and expression of two related genes[J]. *Plant Physiol*, 1996, 110: 1301 ~ 1308.
- [11] Brouquisse R, Wiegand P, Rhodes D, et al. Evidence for a ferredoxin dependent choline monooxygenase from spinach chloroplast stroma[J]. *Plant Physiol*, 1989, 90: 322 ~ 329.
- [12] Burnet M, Lafontaine P, Hanson A D. Assay, purification and partial characterization of choline monooxygenase from spinach[J]. *Plant Physiol*, 1995, 108: 581 ~ 588.
- [13] Weigel P, Weretilnyk E A, Hanson A D. Betaine aldehyde oxidation by spinach chloroplasts[J]. *Plant Physiol*, 1986, 82: 753 ~ 759.
- [14] Maurel C. Aquaporins and water permeability of plant membranes[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 399 ~ 429.

- [15] Sandal N N, Marcker K A. Soybean nodulin 26 is homologous to the major intrinsic protein of bovine lens fiber membrane[J]. Nucleic Acids Res, 1988, 16: 9347.
- [16] Guerrero F D, Jones J T, Mullet J E. Turgor responsive gene transcription and RNA levels increase rapidly when pea shoots are wilted. Sequence and expression of three inducible genes[J]. Plant Mol Biol, 1990, 15: 11 ~ 26.
- [17] Chaudhary S, Crossland L. Identification of tissue-specific, dehydration-responsive elements in the Trg-31 promoter[J]. Plant Mol Biol, 1996, 30: 1247 ~ 1257.
- [18] Yamaguchi-Shinozaki K, Koizumi M, Urao S, et al. Molecular cloning and characterization of 9 cDNAs for genes that are responsive to desiccation in *Arabidopsis thaliana*: Sequence analysis of one cDNA clone that encodes a putative transmembrane channel protein[J]. Plant Cell Physiol, 1992, 33: 217 ~ 224.
- [19] Baker J, Steele C, Dure L. Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton[J]. Plant Mol Biol, 1988, 11: 277 ~ 291.
- [20] Dure L. A repeating 11-mer amino acid motif and plant desiccation[J]. Plant J, 1993, 3: 363 ~ 369.
- [21] Hong B, Barg R, Ho D T. Developmental and organ specific expression of an ABA and stress induced protein in barley[J]. Plant Mol Biol, 1992, 18: 663 ~ 674.
- [22] 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: 249 ~ 257.
- [23] Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1996, 47: 377 ~ 403.
- [24] Koster K L. Glass formation and desiccation tolerance in seeds[J]. Plant Physiol, 1991, 96: 302 ~ 304.
- [25] Ting I P. Crassulacea acid metabolism[J]. Annu Rev Plant Physiol, 1985, 36: 595 ~ 622.
- [26] Holtum J, Winter K. Activity of enzymes of carbon metabolism during the induction of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* L[J]. Planta, 1982, 155: 8 ~ 16.
- [27] Schmitt J M, Piepenbrock M. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase and crassulacean acid metabolism induction in *Mesembryanthemum crystallinum* L by cytokinin[J]. Plant Physiol, 1992, 99: 1664 ~ 1669.
- [28] Forsthoefel N R, Cushman M, Cushman J C. Posttranscriptional and posttranslational control of enolase expression in the facultative Crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum* L[J]. Plant Physiol, 1995, 108: 1185 ~ 1195.
- [29] Birch R G. Plant transformation: problems and strategies for practical application[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1997, 48: 297 ~ 326.
- [30] 梁 峥, 马德钦, 汤 岚, 等. 菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因在烟草中的表达[J]. 生物工程学报, 1997, 13: 236 ~ 240.
- [31] Tarczynski M C, Jensen R G, Bohnert H J. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol[J]. Science, 1993, 259: 508 ~ 511.
- [32] Imai R, Moses M S, Bray E A. Expression of an ABA induced gene of tomato in transgenic tobacco during periods of water deficit[J]. J Exp Botany, 1995, 46: 1077 ~ 1084.
- [33] Crowe J H, Crowe L M. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: The role of trehalose[J]. Science, 1984, 223: 101 ~ 103.
- [34] Bianchi G, Limiroli R, Pozzi N, et al. The unusual sugar composition in leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolius* L. Physiologia Plantarum, 1993, 87: 223 ~ 226.
- [35] Holmstrom K O, Mantyla E, Welin B, et al. Drought tolerance in tobacco[J]. Nature, 1996, 379: 683 ~ 684.
- [36] Romero C, Belles J M, Vaya J L, et al. Expression of the yeast trehalose-6-phosphate synthase gene in transgenic tobacco plants: pleiotropic phenotypes include drought tolerance[J]. Planta, 1997, 201: 293 ~ 297.
- [37] Goddijn OSM, Verwoerd T C, Voogd E, et al. Inhibition of trehalase activity enhances trehalose accumulation in transgenic plants[J]. Plant Physiol, 1997, 113: 181 ~ 190.
- [38] 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: 1177 ~ 1181.

Molecular Mechanism of Plant Drought Tolerance

GUO Wei-dong¹, SHEN Xiang¹, LI Jia-rui¹, ZHENG Xue-qin²

(1. Department Horticulture Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

(2. National Key Biotechnological Laboratory for Tropical Crops, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract: Plant could adapt water stress through osmotic adjustment, desiccation protection and metabolic changes. Under slight stress condition, osmotic adjustment plays the role. With more severe stress desiccation occurs, Accumulation of desiccation protectants such as LEA (Late Embryogenesis Abundant) protein and sugars avoids damage of biomacromolecules, especially membrane system in some extent. Long time mild water stress may change plant metabolic pathways, which is useful for plant to adapt stress conditions. This paper reviews the proceedings of gene expression and regulation in relation to osmotic adjustment, desiccation protection and metabolic changes. Proceedings of genetic transformation conferring drought tolerance is also reviewed.

Key words: plant; drought tolerance; gene; molecular mechanism