

## 植物水分胁迫下功能蛋白的研究进展

李善菊, 任小林

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:** 介绍了水分胁迫下的几种功能蛋白(水分通道蛋白、渗透调节物质生物合成的关键酶、LEA 蛋白等)的特性, 以及几种主要的渗透调节物质(脯氨酸、甜菜碱、多胺)在植物体内的定位、生理功能和它们在植物体内的生物合成途径以及合成酶类的相关基因。

**关键词:** 脯氨酸; 甜菜碱; 多胺; LEA 蛋白; 脱水蛋白; 水通道蛋白

**中图分类号:** Q 945.17; Q 946.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-3409(2005)03-0064-06

## Research Progresses of Functional Protein Under Water Stress

LI Shan-ju, REN Xiao-lin

(Horticulture College, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The characteristic of several functional proteins (aquaporins, the key enzymes of osmotic solute biosynthesis, LEA protein) under water stress is presented. The place and physiological function of main osmotic solute (proline, betaine, polyamines) are discussed, the biosynthesis paths and the relative genes of synthesis enzymes also are summarized.

**Key words:** proline; betaine; polyamines; LEA protein; dehydrin; aquaporins

干旱会使植物因缺水而受伤害, 严重时导致植物死亡。我国的干旱半干旱地区占国土面积的一半以上, 年受旱面积达 200~270 万  $\text{hm}^2$ 。植物生长在土壤中, 本身不能移动, 为了适应、抵抗缺水或其它不利的环境状况, 植物会做出各种反应来维持自身的水分状况, 以避免或减轻缺水对细胞的伤害。虽然在长期的进化中一些植物已经演化出一套适应干旱机制和策略, 但许多重要的作物和果树对干旱很敏感, 干旱常造成巨大的经济损失, 因而筛选和培育抗旱性强的品种显得尤为重要。

为了响应水分胁迫, 不同植物种除了体内产生的一系列生理生化变化外, 其基因表达也受到深刻影响, 并诱导产生许多特异基因产物, 水分胁迫的基因产物主要分为两大类: 在水分胁迫耐性和细胞适应性中涉及的功能蛋白, 以及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。功能蛋白包括水分通道蛋白、渗透调节物质合成的关键酶(脯氨酸、甜菜碱、糖等)、伴侣蛋白、LEA 蛋白、蛋白酶、解毒酶等<sup>[1]</sup>。

由于植物生长依赖膨压驱动的细胞壁伸展, 所以选择吸收和积累低分子量渗透调节物质被认为是植物防止脱水用以抵抗胁迫的一种重要的策略<sup>[2]</sup>。因而渗透调节是多年来抗旱研究的重点。参与渗透调节的主要物质有无机离子( $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 等)和有机溶质。其中有机相溶性物质主要有三类: 一类为游离态氨基酸类, 如脯氨酸等, 二类为季胺类化合物, 如甜菜碱、多胺等, 第三类为糖醇类化合物, 如甘露醇、山梨醇和海藻糖等, 这些物质都有较大的水溶性, 植物在干旱或胁迫时能够吸收或合成无毒无害的小分子渗透调节物,

并在细胞内积累以提高体内渗透压, 从而维持一定的膨压和水势, 防止脱水, 保持细胞生长、气孔开放和光合作用等生理过程的正常进行<sup>[3]</sup>。这些渗透剂能够积累到较高水平而不影响生物体内的代谢过程或干扰蛋白质的结构和功能, 不同植物干旱胁迫下积累不同的渗透调节物质, 来提高自身的渗透调节能力, 以适应干旱。

### 1 脯氨酸及其生物合成相关蛋白

#### 1.1 脯氨酸在植物体内的定位

早在上个世纪初就发现 Pro 是植物蛋白质的组分之一, 并以游离态广泛地存在于植物体中, 还存在于真菌原生动物、海藻中等等<sup>[4]</sup>。干旱胁迫条件下, P5CR 的基因受到强烈的诱导, 植物体中 Pro 的生物合成发生在细胞质中, 逆境胁迫下 Pro 的积累主要发生在叶片中。

#### 1.2 脯氨酸在植物体内积累的功能

Pro 积累的作用大致归为: (1) 作为细胞的有效渗透调节物质降低叶片细胞的渗透势, 防止细胞脱水; (2) 防止膜通透性的变化, 保护质膜的完整性, 稳定膜的结构和保护细胞内酶的结构, 减少胞内蛋白质的降解; (3) 作为可直接利用的无毒形式的氮源, 作为能源和呼吸底物, 参与叶绿素的合成<sup>[5]</sup>; (4) 有清除植物体内自由基的功能。有试验表明芝麻在干旱胁迫较轻时抗旱性弱的品种积累 Pro 多于抗旱性强的品种, 而随着胁迫加强, 抗旱性强的品种游离 Pro 积累强度大于抗旱性弱的品种, 复水后抗旱性强的品种游离 Pro 下降

收稿日期: 2005-01-10

基金项目: 国家“十五”科技攻关(2001BA606A-04)资助项目

作者简介: 李善菊(1974-), 女(汉), 在读硕士, 主要从事果树生理及园产品采后处理研究工作; 通讯作者: 任小林(1964-), 男(汉), 博士, 副教授, 主要从事果树生理及果品采后处理研究工作。

快,而抗旱性弱的品种则下降慢<sup>[6]</sup>。这可能是逆境初期 Pro 的积累是植物对胁迫的暂时反应,有适应性的意义,又可能是细胞结构和功能受损伤的表现,是一种伤害反应<sup>[7]</sup>。

### 1.3 脯氨酸在植物体内生物合成及相关酶基因

植物体内的 Pro 含量主要受合成和氧化降解所控制,干旱诱导 Pro 的合成,使 Pro 积累量超过从蛋白质水解释放的 Pro 水平。Pro 的去路主要是参与蛋白质合成或被降解。植物体内 Pro 合成,根据合成前提物的不同分为二条途径:谷氨酸(Glu)途径,鸟氨酸(Orn)途径<sup>[10]</sup>。如图1。在盐胁迫下大麦幼苗多胺与脯氨酸合成竞争前体L-精氨酸(L-Arg),而且多胺的合成比脯氨酸合成对盐胁迫更敏感<sup>[8,9]</sup>。近来发现干旱早期植物体内的ABA的增加能促进Pro的积累,其原因在于ABA促进Glu生成Pro,而对Pro结合到蛋白质的过程没有影响。由于Pro的合成发生在细胞液内,与pH值有关,而pH值影响着P5CR的活性,而ABA影响pH值,从而影响Pro的代谢。

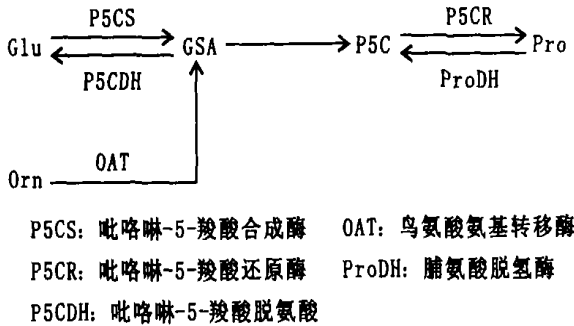


图1 脯氨酸的生物合成

赵福庚等对大麦幼苗盐胁迫试验表明,盐胁迫激活了Pro两条合成途径,胁迫8h以前Pro积累主要受Glu途径控制,随后Orn途径对Pro积累的贡献占主导地位<sup>[7]</sup>。Ha, Delauney, Roosen等认为植物在胁迫下Pro的生物合成以Glu途径为主<sup>[10,11]</sup>。Orn途径以种子内贮藏蛋白水解释放的精氨酸(L-Arg)为合成前体,在Arg催化酶催化下生成Orn,进一步在OAT(鸟氨酸氨基转移酶)作用下转化成GSA(谷氨酸半醛)。催化Glu变为Pro的主要酶有P5CS和P5CR,其中P5CS是限速酶,因而在过量表达Pro以提高植物耐性的基因工程中P5CS基因作为首选对象<sup>[12]</sup>。P5CS基因是一个双功能基因,编码r-谷氨酰激酶(r-GK)和谷氨酸-5-半醛脱氢酶(GSA)两种酶,P5CS基因在积累Pro和反馈调控植物中Pro合成水平等方面起着重要作用<sup>[13]</sup>。1995年Kishor等人将P5CS基因导入烟草,发现在转基因烟草中Pro的含量明显增高,在干旱胁迫下渗透保护作用增强<sup>[14]</sup>。ProDH是Pro转变为Glu的限速酶。至今已从细菌、酵母、水稻、黑麦、大豆、拟南芥、苜蓿等中克隆了多个Pro合成酶或与之相关的基因(见表1)。目前已在微生物上获得了高产Pro的突变体,现在正试图用共生菌作为桥梁,完成渗透调节基因向高等植物转移,从而实现抗旱目标。

干旱诱发的Pro积累有三条途径<sup>[7]</sup>:(1)失去了Pro合成的反馈抑制作用。(2)Pro氧化受到抑制。(3)蛋白质合成受到抑制,这样抑制了Pro向蛋白质的渗入。植物对渗透胁迫的适应有些是多基因控制,有些是单基因控制。研究表明原生质体培养法筛选到的烟草耐旱耐盐突变体Pro积累提高6~12

倍,而总氨基酸不变,表明Pro的积累受单基因控制<sup>[15]</sup>。

## 2 多胺及其生物合成相关蛋白

### 2.1 多胺在植物体内的定位

PA是近年来颇受关注的生物体代谢过程中产生的一类低分子量脂肪含氮碱,多胺类化合物是多种植物的天然成分,其中常见的有腐胺(Put),亚精胺(Spd)精胺(Spm)。水分胁迫下引起大量积累,其中Put变化最突出,Put是PA生物合成途径中的中心产物,在提高抗逆性方面起着重要作用。一般来说,细胞分裂最旺盛的地方,多胺的生物合成最活跃,含量也最高。在同一细胞内多胺的分布也不同,腐胺(Put)主要溶解在胡萝卜细胞的胞质内,而Spm主要存在于细胞壁上,在Santpaulice的花瓣中PA主要分布在液泡中<sup>[16,17]</sup>。

### 2.2 多胺在植物体内积累的功能

高等植物中PA代谢对各种不良环境十分敏感,矿质元素缺乏、酸胁迫、低温胁迫、盐胁迫以及干旱胁迫等都引起植物体内PA的积累。PA有多种生物活性,多胺在促进苹果受精,增加产果率,加快果实生长,促进花芽分化<sup>[18]</sup>,保护农作物防御低温伤害、叶绿素损失,以及多胺在刺激生长发育,延缓衰老,对光系统(PS II)的保护作用和提高植物的抗盐、抗旱性的研究都取得了很大进展。PA的积累可增加细胞间渗透调节水分丢失,可作为pH值的缓冲剂,可保护质膜和原生质免于破坏,可调节活性氧代谢平衡。PA与膜的结合也改变膜的稳定性,生理浓度的Spm和Spd被报道有稳定燕麦原生质膜和大麦小麦等叶绿体类囊体膜的作用,(Borell)阻止叶绿素的损失,(Altman)在贮藏的甜菜中,多胺由于稳定膜,减少了甜菜碱,从受冻组织中流失。PA可促进胁迫发生时蛋白质的形成<sup>[19]</sup>。

### 2.3 多胺在植物体内生物合成及相关酶基因

高等植物的PA代谢对各种逆境都非常敏感,其细胞内的多胺水平为其生物合成氧化所调节。在水分胁迫下,植物体内Put的合成主要有二条途径:Arg途径和Orn途径,如图2。在芝麻中还存在一条途径,从Arg经Git到Put。

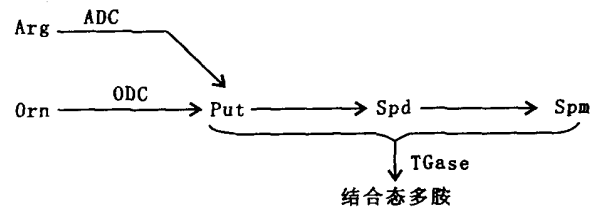


图2 腐胺的合成

Put合成中二个重要的酶为ADC(精氨酸脱羧酶)和ODC(鸟氨酸脱羧酶)。ADC存在于细胞溶质中,主要控制非细胞器中的Put和Spd生物合成,与细胞延长和抗逆性有密切关系,胁迫发生时ADC活性提高,Galston将ADC称为胁迫酶。ODC存在于核内或其他含DNA的细胞器中,它限制Spm生物合成的速率,与有丝分裂有关<sup>[20]</sup>。

## 3 甜菜碱及其生物合成相关蛋白

### 3.1 甜菜碱在植物体内的定位

甜菜碱是一类季铵化合物,不带净电荷,化学名称为N-甲基氨基酸,1883年Hosemann和Marne从干旱地区的中宁枸杞首次分离得到。正常生长的植物中其含量不高,并存在种间与组织间含量的差异,如芽中的含量比根高。

1975年Storey等首先观察到盐或水分胁迫引起,甜菜碱在植物中积累。汤佩松报道胁迫诱导增加的甜菜碱30%~40%定位于叶绿体中<sup>[21]</sup>。梨树在水分胁迫诱导下甜菜碱主要由叶片独立合成,在轻度水分胁迫下梨成龄叶中甜菜碱水平增高将近1倍<sup>[22]</sup>。

### 3.2 甜菜碱在植物体内积累的功能

许多高等植物在受到水分胁迫或盐胁迫时体内会积累大量的甜菜碱,它能够作为渗透剂,酶的结构保护剂,保护质膜的完整性,是无毒的细胞质调渗物质。很低浓度的外源甜菜碱也具有好的渗透调节保护作用。植物受胁迫时甜菜碱积累,当胁迫解除后叶片和根内的甜菜碱不象Pro含量立即下降,而是基本上保持稳定,说明甜菜碱的积累可能是永久或半永久性的<sup>[23]</sup>。

### 3.3 甜菜碱在植物体内生物合成及相关酶基因

甜菜碱代谢调节主要受合成决定,生物界有三条合成途径(如图3)。第三条途径在一些微生物中存在。

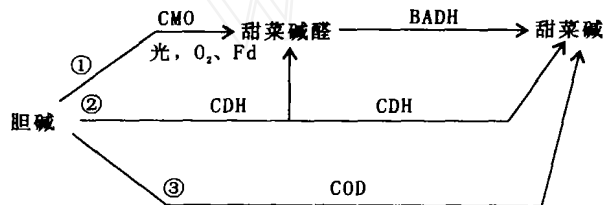


图3 甜菜碱的生物合成

胆碱经过COD(胆碱氧化酶)被直接氧化为甜菜碱,到目前为止COD只在微生物中发现。在高等植物中甜菜碱的合成通过第一条途径<sup>[24]</sup>,两步催化完成的,分别由CMO(胆碱单加氧酶)和BADH(甜菜碱醛脱氢酶)催化,CMO催化的反应是整个途径的决速步骤反应,受光刺激,需氧和依赖铁氧还蛋白。在哺乳动物和一些微生物中则由CDH(胆碱脱氢酶)催化,分一步或两步来合成甜菜碱。CMO定位于叶绿体基质中,CDH定位于线粒体中,大部分单子叶植物例如大麦的BADH定位于过氧化物体,但水稻中BADH则定位于溶酶体,菠菜、糖甜菜的BADH定位于叶绿体中分子量为54267D的同源二聚体,高等植物中该酶的基因也已被克隆<sup>[25]</sup>。许多作物如马铃薯、水稻、烟草、番茄中都未发现甜菜碱的积累,因而可以考虑将甜菜碱生物合成有关酶的基因转入,使这些作物中积累甜菜碱,从而提高抗逆性。

已先后从菠菜、甜菜、山菠菜中克隆到CMO并进行了转基因研究<sup>[26]</sup>。Noccio等在烟草中表达菠菜的CMO基因,CMO的活力高达100倍,但甜菜碱的合成并未增加,原因是胆碱不能大量进入叶绿体,这可能是叶绿体膜上的胆碱运转体活力较低之故,因而内源胆碱的低含量以及胆碱到叶绿体的输入速率限制了甜菜碱的生物合成速度和最终浓度,今后应注重如何使植物内胆碱含量增加且有利于向叶绿体运转。

在一些微生物如球形节杆菌(*A. rhizobacter globiformis*)各滋养节杆菌(*A. rhizobacter Pascens*)中,COD可以催化胆碱直接合成甜菜碱。转COD基因植物也可以获得这种能力,但同样存在内源胆碱在叶绿体中的低含量限制甜菜碱的合成问题。

BADH基因已从大肠杆菌、菠菜、甜菜、山菠菜、大麦、高粱、水稻等中得到克隆和鉴定,不同生物的BADH有较高的同源性<sup>[27]</sup>。其转基因植株的胁迫抗性有一定提高,但体内甜菜碱的含量较低。有试验证明双价基因的导入更有利于植物

胁迫抗性的提高,将转betA基因(编码CDH的基因)烟草与合成BADH的转基因植株进行杂交所形成的后代植株积累的甜菜碱的含量比单独表达CDH的基因植物高2倍<sup>[28]</sup>。因而双价基因的导入将是抗逆性研究的一个方向。其相关合成酶基因的克隆和表达如表一。

表1 调渗物质合成酶基因

基 因	表达产物	供 体	受 体
TPS	海藻糖-6-磷酸合酶	酿酒酵母	烟草等
Int1	肌醇甲基转移酶	冰叶午时花	烟草等
mtD	1-磷酸甘露醇脱氢酶	大肠杆菌(E.coli)	水稻烟草、玉米等
gutD	6-磷酸山梨醇脱氢酶	大肠杆菌(E.coli)	水稻烟草、玉米等
OTSa	海藻糖合成酶	大肠杆菌(E.coli)	烟草、马铃薯
OTSB	海藻糖磷酸酯酶	大肠杆菌(E.coli)	烟草、马铃薯
P5CS	吡咯啉-5-羧酸合成酶	乌头叶红豆	烟草、拟南芥
BADH	甜菜碱醛脱氢酶	甜菜、山菠菜等	烟草
Tsase	海藻糖合酶	担子菌灰树花	甘蔗
CordA	胆碱氧化酶	细菌	拟南芥
SacB	果聚糖蔗糖酶	枯草杆菌	水稻
betA	胆碱脱氢酶	大肠杆菌(E.coli)	烟草
betB	甜菜碱醛脱氢酶	大肠杆菌(E.coli)	烟草

## 4 LEA 蛋白

LEA蛋白(晚期胚胎丰富蛋白 late embryogenesis abundant, LEA)也有人称之为晚期胚胎发生期丰富蛋白。Dure和Chlan最早在棉花子叶中检测到Lea基因,并于1985年得到了该基因的翻译产物,即LEA蛋白质。在干旱胁迫下植物大量表达的LEA蛋白也具有渗透调节作用,实验表明转入LEA蛋白基因的悬浮培养细胞其后代的抗旱能力随LEA蛋白含量的升高而增强<sup>[29]</sup>。

LEA蛋白是一类高度亲水性蛋白,是很多植物种子发育后期产生的一类小分子特异多肽,一般它们伴随着种子成熟过程而形成,在种子萌发时很快消失。LEA蛋白虽有发育阶段特异性,但可以被诱导,且在组织器官水平上不存在组织特异性,例如在ABA和脱水信号的诱导下根茎叶等组织器官都检测到LEA蛋白。LEA蛋白的细胞浓度通常很高,例如在成熟的棉花胚细胞中,D7LEA蛋白大约占非细胞器胞质蛋白的4%,从亚细胞水平来看一般认为LEA蛋白主要存在于细胞质和细胞核中,而非种子蛋白体中,LEA蛋白诱导表达无组织特异性。

根据蛋白质一级结构的同源性差异,人们把已经鉴定出的LEA蛋白基因分成了三组<sup>[31]</sup>:第一组包括小麦和玉米的Em基因;第二组包括水稻的RAB(responsive to ABA)基因和大麦的Dehydrin(脱水蛋白)基因;第三组包括胡萝卜的Dc3和Dc8,大麦的pHVal以及玉米的MLG3基因。又参照棉花胚中LEA蛋白的氨基酸序列和mRNA同源性Durn将LEA蛋白分为6族<sup>[32]</sup>:D19LEA(1族)、D11LEA(2族,又称脱水素)、D7LEA(3族)、D113LEA(4族)、D29LEA(5族)和D95LEA(6族)。

LEA蛋白是一大类与逆境相关的蛋白,是由多基因调控的。目前人们对LEA蛋白与抗旱性关系的研究是从典型的遗传材料中筛选突变基因,分析特异作物的胁迫效应和检测抗旱作物系统的耐性。LEA蛋白是一类亲水性大家族,不同作

物的LEA 蛋白氨基酸组成有差异。大多数LEA 蛋白缺乏半胱氨酸、色氨酸、酪氨酸残基,但它们都是富含极性氨基酸组成亲水性多肽,甘氨酸含量> 6%,亲水指数> 1. 0,在 100 的水溶液中依然是可溶的,具有高度的亲水性<sup>[33]</sup>。LEA 蛋白抗旱功能与其序列和结构相关,在水分缺乏时,LEA 蛋白在细胞中像可溶性糖的作用一样,有增强束缚水的作用。

表 2 已经克隆了的干旱胁迫增量调节的  
LEA 蛋白及其基因<sup>[34]</sup>

LEA 蛋白	物种	基因座
LEAD19 蛋白	向日葵	Ha ds10
LEAD19 蛋白	小麦	Em
LEAD19 蛋白	大麦	B19 1;B19 3;B19 4
LEAD113 蛋白	番茄	Ple25
LEAD113 蛋白	Hordeum annuus	Ha ds11
LEAD11 蛋白	拟南芥	AtRABA T1
LEAD11 蛋白	车前叶玄参	Pcc27- 04
LEAD11 蛋白	玉米	M3(Rab- 17)
LEAD11 蛋白	大麦	B8;B9;B17
LEAD11 蛋白	番茄	pLE4
LEAD11 蛋白	车前叶玄参	pC6- 9
LEAD11 蛋白	番茄	Tas14
LEAD11 蛋白	智利番茄	Plc30- 15
LEAD11 蛋白	长柄繁缕	H26
LEAD11 蛋白	水稻	Prab 16A
LEAD11 蛋白	胡萝卜	Pccp40
LEAD11 蛋白	拟南芥	ERD10; ERD14
LEAD7 蛋白	小麦	Pma2005
LEAD7 蛋白	小麦	Pma1949
LEAD7 蛋白	车前叶玄参	Pcc3- 06
LEAD95 蛋白	车前叶玄参	Pcc27- 45

注:表中列基因在干旱胁迫的反应中提高 mRNA 的表达水平。干旱胁迫包括对整体植株或者植物离体器官进行不同的处理。

从目前文献来看LEA 蛋白功能主要有:(1)作为脱水保护剂。由于其高度亲水性与植物耐脱水性密切相关,在种子成水分的跨膜运输是通过熟脱水过程中起到保护组织免受伤害的作用。(2)参与渗透调节,对胚乳和植物生长组织的渗透胁迫有保护作用。(3)通过与核酸的结合调节细胞内其他基因的表达,例如玉米的lea- PMAH9 基因就含有一个核糖核蛋白的一致序列,可以单链DNA 结合,说明IEA 类基因可以编码RNA 调节蛋白。

1 族D19LEA 蛋白对胚乳发育和植物生长器官的渗透胁迫有保护作用。2 族D11LEA 蛋白在生物代谢中有分子伴侣和保护蛋白结构的作用,与植物抗旱性密切相关。3 族LEA 蛋白在细胞脱水过程中有滞留富集离子的作用。4 族LEA 蛋白在植物脱水时可保持膜稳定性,以代替水的作用。5 族LEA 蛋白在植物缺水期间有富集离子的作用。

脱水蛋白(dehydrin)是植物对于干旱胁迫的一种适应性的保护反应。它属于 2 族D11LEA 蛋白族,最早发表的对脱水蛋白的研究是 1988 年Mundy 报道的水稻中的RAR21,迄今已鉴定的大多数脱水蛋白均来自被子植物。免疫定位和亚细胞分级分离的研究表明,脱水蛋白可在细胞核及细胞质中出现,而在细胞核中出现的情况随细胞种类的不

同而异。脱水蛋白最主要的特征是它有一个富含赖氨酸的片段,即EKKGMDKIKEKLPG,称之为K 片段(K segment),由片段可形成一个兼亲性的(amphipathic)螺旋<sup>[35]</sup>。不同的脱水蛋白具有 1 到 11 个K 片段拷贝。其次,许多脱水蛋白有一个丝氨酸束(track),称为S 片段(S segment)。最后脱水蛋白还有一个保守的Y 片段,即(V/T)DEYGNP,存在于大多数脱水蛋白氨基酸序列C 端。含有K 片段也是 2 族LEA 蛋白的特征。K 片段的一个功能是可以与部分变性蛋白质及膜的疏水基相互作用,从而防止蛋白质和膜进一步变性。Close 认为脱水蛋白有去污和蛋白质伴侣的特性,缺水时与亲和溶液相互作用,维持高分子结构的稳定。脱水蛋白的表达受环境诱导、发育阶段及组织特异性的调控。

Clomeno Flores 等通过水分胁迫和ABA 处理云扁豆(*Phaseolus vulgaris*),诱导出 6 种 cDNA,其中有两种lea 基因,试验表明根部和地上部的lea 基因不同,植物不同器官对干旱胁迫和ABA 调控基因的表达不同。最近研究表明 TIP (tonoplast intrinsic protein)也是一种晚期胚胎丰富蛋白,朱长甫等以胡萝卜雷胚状体为材料,得到一个完整的ECP63 的DNA 克隆,并认为ECP63 属于LEA 蛋白<sup>[36]</sup>,至于它们与植物抗旱性的关系还有待于进一步研究。

5 水孔蛋白或水通道蛋白

在水分缺乏过程中,定位于质膜的通道蛋白(channel protein)与干旱胁迫有关。豌豆 7a cDNA 编码一种有离子通道特征的多肽,拟南芥 RD28 cDNA 和车前叶玄参 H2-5cDNA 编码水通道蛋白(water channel proteins)<sup>[30]</sup>。水孔蛋白(aquaporin,也称水通道蛋白)属运输水分的膜蛋白家族,在对水分缺乏的反应中可能涉及控制细胞的水分状态。干旱会引起植物体内许多变化,一些水孔蛋白或水孔蛋白同源物的表达就是植物适应干旱的一种积极反应。

水分在植物体内的运输有质外体途径、共质体途径和跨膜运输途径。水分的跨膜运输是通过脂双层的自由扩散运输或通过水通道蛋白的被动运输。水孔蛋白可以实现水分的跨膜快速运输<sup>[37]</sup>。植物水孔蛋白在植物体内形成水选择性运输通道,而有些水孔蛋白在植物逆境应答中起着重要作用,因此研究水孔蛋白与植物抗旱性的关系引起了广泛关注。

1992 年 Preston 等第一次分离出具有水分运输特性的蛋白CHIP28(channel forming protein of 28 ku2),在质膜上形成水分选择性运输通道<sup>[38]</sup>。短短几年内,人们已在细菌、酵母、动物、植物中分离出许多水孔蛋白同源基因。在植物中第一个水孔蛋白YIP 于 1993 年从拟南芥中分离出来的<sup>[39]</sup>。

植物水孔蛋白根据序列同源性可以分为 3 类:质膜内在蛋白(PIPs)、液泡膜内在蛋白(TIPs)和NLM 蛋白(Nodulin 26 like MIPs,NLMs)<sup>[40]</sup>。PIPs 主要分布在细胞质膜上,TIPs 主要分布在细胞液泡膜上,而NLMs 蛋白中NOD 26(Nodulin26)分布在细菌与植物的共生膜上。PIPs 又可再分为PIP1、PIP2、PIP3 和PIP33 类,TIPs 可再分为αβγδTIP4 类,它们主要运输水分。Johnson、Milap 等研究表明,YIP 在种子成熟晚期积累,在种子萌发及幼苗初期消失,由YIP 取代它。αTIP 的存在及其磷酸化调控可以调节液泡的膨压与融合,而YIP 则与幼苗初期细胞的伸长有关,它们共同在种子的成熟与萌发过程中精细地调控着细胞的渗透行为。

水孔蛋白在生物膜上的存在, 它能使植物快速灵敏地调节细胞内与细胞间的水分流动。有些水孔蛋白是组成型表达的, 而多数水孔蛋白是受环境因子如干旱、盐害等诱导表达的, 其表达调控机制大致可以分两类: 转录后水平的调控和转录水平的调控。前者主要通过磷酸化和去磷酸化作用实现的, 而后者则主要通过控制水孔蛋白的合成速度来实现。<sup>[42]</sup>

## 6 结 语

单靠渗透调节作用完成的耐旱性也有一定的局限性。如渗透调节的暂时性、有限性以及它并不能完全维持生理过

程。而且植物对水分胁迫或干旱的耐受性是由多个基因控制的, 数量性状, 只改变一个渗透胁迫基因的表达对植物的抗旱性产生决定性的影响是不理想的。转基因植物胁迫抗性的增强需要渗透调节物质的基因工程与抗氧化剂、水通道蛋白、晚期胚胎丰富蛋白等基因工程协调进行。到目前为止, 对抗旱机理的研究进展很大, 但还不能确定干旱胁迫下哪种生理反应最先开始, 不能确定起主导作用的物质是什么。相信随着分子生物学技术的不断发展和人们对水分研究的关注, 这些问题在不久的将来会得到满意的解决。

## 参考文献

- [1] Shinozaki K, Yamaguchi S, Shinozaki K. Gene expression of and signal transduction in water-stress response[J]. *Plant Physiol*, 1997, 115: 327.
- [2] 朱学艺, 张承烈. 植物响应水分胁迫的主要功能蛋白[J]. *西北植物学报*, 2003, 23(3): 503- 508
- [3] Morgan J M. Osmoregulation and water stress in higher plants[J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1984, 35: 299- 319.
- [4] McCue K F, Hanson A D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application[J]. *Trends Biotechnol*, 1990, 8: 358- 362.
- [5] Stewart C R, Lee J A. The role of proline accumulation in halophytes[J]. *Plant*, 1974, 53(1): 120- 129.
- [6] 揭雨成, 等. 干旱胁迫下蓖麻的生理生化变化与抗旱性的关系[J]. *中国农业科学*, 2000, 33(6): 33- 39.
- [7] 汤章城, 等. 逆境条件下植物脯氨酸积累及可能的意义[J]. *植物生理学通讯*, 1984, (1): 15- 21.
- [8] 赵福康, 等. 盐胁迫下大麦幼苗多胺与脯氨酸合成竞争前提 L- Arg[J]. *作物学报*, 2001, 27(5): 622- 625.
- [9] 赵福康, 刘友良, 等. 大麦多胺合成比脯氨酸合成对盐胁迫更敏感[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(4): 343- 349.
- [10] Delauney A J, Vema D P S. Proline biosynthesis and Osmoregulation in Plant[J]. *Plant J*, 1993, 4: 215- 233.
- [11] Roosens N H C J, Thu T T, Iskandar H M. Isolation of the ornithine- & aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiol* 1998, 117: 263- 271.
- [12] Smirnoff C, Thonke B, Popp M. The capability of D- pinitol and D- 1- O- methyl- mucinositol with malate dehydrogenase activity[J]. *Bot Acta*, 1990, 103: 270- 273.
- [13] 江香梅, 黄敏仁, 等. 植物抗盐碱、耐干旱基因工程研究进展[J]. *南京林业大学学报*, 2001, 25(5): 51- 62.
- [14] Kishor. Overexpression of  $\gamma$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increase proline production and osmotolerance in transgenic plant[J]. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1387- 1394.
- [15] 王艳青, 等. 植物抗逆中的渗透调节物质以及转基因工程进展[J]. *北京农业大学学报*, 1996, 19(3): 94- 98.
- [16] 崔风芝, 张涛涛. 多胺与园艺植物生长发育的关系[J]. *河北农业大学学报*, 1996, 19(3): 94- 98.
- [17] Pistocchi R, Bagin N, Creus J A. Polyamine uptake in carrot cell cultures[J]. *Plant Physiol*, 1987, 84: 374- 380.
- [18] 杨洪强, 接玉玲. 多胺与果树生长发育的关系[J]. *山东农业大学学报*, 1996, 27(4): 514- 520.
- [19] Kaur-sawheny R, Shih L M, Flores H E, et al. Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves[J]. *Plant Physiol*, 1982, 69: 405- 409.
- [20] 王沛洪. 植物多胺代谢的酶类与胁迫反应[J]. *植物生理学通讯*, 1990, (1): 1- 7.
- [21] 汤佩松. 高等植物呼吸代谢途径的调节控制和代谢与生理功能的相互制约[J]. *植物学报*, 1979, 21(2): 93- 96.
- [22] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [23] 梁峥, 骆爱铃. 甜菜碱和甜菜碱生物合成酶[J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(1): 1- 8.
- [24] Hanson A D, Grumet R. Betain accumulation: metabolic pathway and genetics[A]. In: Key J L (ed). *Cellular and Molecular Biology of Plant Stress*[M]. New York: Alan R Liss Inc, 1985. 71.
- [25] Weretilnyk E A, Hanson A D. Molecular cloning of a plant betaine- aldehyde dehydrogenase, an enzyme implicated in adaptation to salinity and drought[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 2475- 2479.
- [26] Russel B L, Rathinasabpathi B, Hanson A D. Osmotic stress induces expression of choline monoxygenase in sugar beet and amaranth[J]. *Plant Physiol*, 1998, 116: 859- 865.
- [27] 殷小军, 等. 甜菜碱的生物合成以及其相关基因的遗传工程[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(3): 299- 304.
- [28] 李永华, 邹琪. 植物体内甜菜碱合成相关酶的基因工程[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(5): 500- 505.
- [29] Xu D P, Duan X L, Wang B Y. Express of a late embryogenesis abundant protein gene, HNA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice[J]. *Plant Physiol*, 1996, 110: 249- 257.
- [30] Daniels M J, et al. The plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* contains a mercury-insensitive aquaporin that is a homology of the tonoplast water channel protein TIP[J]. *Plant Physiol*, 1994, 106: 1325- 1333.
- [31] 何军贤, 等. 种子LEA蛋白的研究进展[J]. *植物生理学通讯*, 1996, 32(4): 241- 246.

- [32] 张林生, 赵文明 LEA 蛋白与植物的抗旱性[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(1): 61- 66
- [33] Caray Arroyo A, Colmenero Flores J M, Carriarrubio A, et al Highly hydrophilic proteins in prokaryotes and eukaryotes are common during conditions of water deficit[J]. J. Biochem, 2000, 275(8): 5 668- 5 674
- [34] Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1996, 47: 377.
- [35] 耀大勇, 沈黎明 脱水蛋白研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 1998, 25(2): 119- 123
- [36] 梁文裕, 等 植物胚胎发育时期特异蛋白的研究进展[J]. 福建农林科技大学学报, 2003, 32(1): 98- 103
- [37] Kaldenhoff R, Eckert M. Features and Functions of Plant Aquaporins[J]. J Photochem Photobiol B, 1999, 52: 1- 6
- [38] Preston GM, Carroll TP, et al Appearance of Water Channels in Xenopus Oocytes Expressing Red Cell CHIP28 Protein [J]. Science, 1992, 256(5055): 385- 387.
- [39] Maurel C, Reizer J, Schroeder J, et al The Vacuolar Membrane Protein  $\gamma$ -TIP Creates water Specific Channels in Xenopus Oocytes[J]. EMBO J, 1993, 12(6): 2241- 2247.
- [40] Santoni V, Gerbeau P, Javot H, et al The High Diversity of Aquaporins Reveals Novel Facets of Plant Membrane Functions[J]. Curr Opin Plant Biol, 2000, 3(6): 476- 481.
- [41] Johnson KD, Heman EM, Chrispeels M J. An Abundant Highly Conserved Tonoplast Protein in Seeds[J]. Plant Physiol, 1989, 91: 1006- 1013
- [43] 于秋菊, 林忠平, 等 植物水孔蛋白研究进展[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2002, 38(6): 855- 866

(上接第28页)

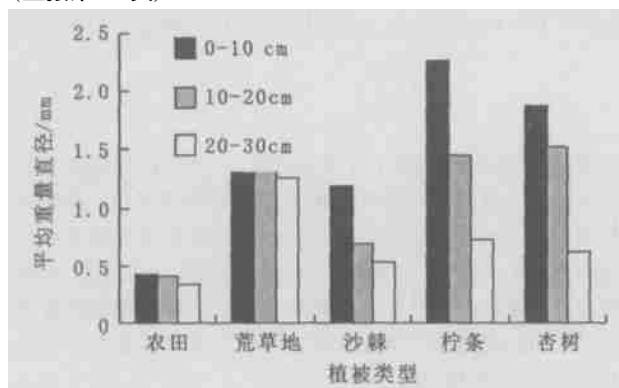


图3 不同植被下土壤团聚体平均重量直径差异

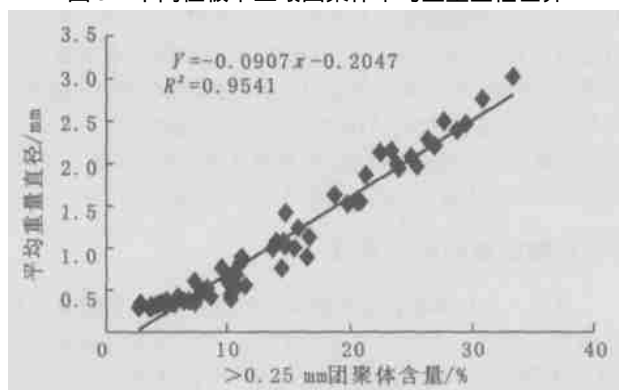


图4 平均重量直径与> 0.25 mm 水稳性团聚体含量关系

#### 参考文献

- [1] 查轩, 唐克丽 植被对土壤特性及土壤侵蚀的影响研究[J]. 水土保持研究, 1992, 6(2): 52- 58
- [2] 鲁植雄, 张维强, 潘君拯 分形理论及其在农业土壤中的应用[J]. 土壤学进展, 1994, 22(5): 40- 45
- [3] 杨培岭, 罗远培, 石元春 用粒径的重量分布表征的土壤分形特征[J]. 科学通报, 1993, 38(20): 1896- 1899
- [4] 丁文峰, 丁登山 黄土高原植被破坏前后土壤团粒结构分形特征[J]. 地理研究, 2002, 21(6): 700- 706
- [5] 彭祥林, 朱显谟 关于黄土- 古土壤研究简述[J]. 水土保持研究, 1995, 2(4): 20- 25
- [6] 吴承祯, 洪伟 不同经营模式土壤团粒结构的分形特征研究[J]. 土壤学报, 1999, 36(2): 162- 167.

#### 4 结论

彭祥林指出没有植被的繁衍就没有黄土高原的形成<sup>[5]</sup>, 植被恢复就是利用植被- 土壤之间的互动关系来提高土壤肥力, 改善土壤结构和功能, 已达到改善生态环境的目的。由于土壤侵蚀的影响, 土壤环境较差, 自然恢复植被需要的时间太长, 因此人工植被可以加速植被恢复的过程。

固原黄土丘陵人工植被对土壤团聚体的影响的研究结果说明: 植被恢复改善了土壤结构, 提高了土壤功能。土壤结构评价的指标- 团聚体分形维数农田最大, 山杏、沙棘和柠条其次, 荒地最小, 分形维数与> 0.25 mm 团聚体含量负相关。土壤团聚体平均重量直径柠条> 沙棘> 荒地> 山杏> 农田, 平均重量直径与> 0.25 mm 团聚体含量呈显著的正相关关系。

对土壤结构的评价不仅反映土壤结构状态, 更要反映土壤功能。Van Bavel(1949)就已经提出将平均重量直径当作土壤团聚体分布的指标, 80年代初发展起来的分形几何学理论与方法, 为研究土壤特性的不规则性提供了有效的工具。应用这两种方法对固原团聚体粒径分布状况计算, 这两种方法都能反映土壤团聚体状况, 说明土壤结构的改善。由于这两种方法表达较粒径分布更为简单, 而且团聚体分形维数不尽表示团聚体粒径大小, 还反映质地均一程度, 土壤通透性和抗蚀性以及土壤肥力(吴承祯<sup>[6]</sup>), 因此应用范围较广泛, 表达意义和功能较多, 是较为合理的土壤性质和功能的表达方式。