

作物抗旱基因研究进展及在马铃薯抗旱种质创新中的应用

王晓斌^{1,2}, 胡开明^{1,2}, 范阿琪^{1,2}, 赵 锋^{1,2},
张俊莲^{1,3}, 王 蒂^{1,2}, 白江平^{1,2}

(1. 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 甘肃 兰州 730070;
2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃农业大学园艺学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 整理并分析了近年来已经公开发表的 68 个抗旱相关基因, 其中包括转录因子, 以及提高渗透物质积累, 具有解毒和抗氧化胁迫, 控制作物生物大分子合成的基因, 并对这些基因在作物抗旱中的作用机理及应用进展进行了分析。得出转录因子主要是通过激活或者抑制下游与干旱相关基因的表达, 与渗透调节相关的基因主要是维持细胞内外渗透平衡, 具有解毒和抗氧化胁迫的基因主要是通过清除活性氧的积累, 与生物大分子合成有关的基因主要在逆境中可以产生一些逆境蛋白, 从而提高作物耐逆性。同时整理并分析了利用基因工程改良马铃薯种质的发展现状与存在问题。

关键词: 作物; 抗旱基因; 功能基因; 马铃薯; 种质
中图分类号: S943.2; S532 **文献标志码:** A

Progress of crop drought tolerant gene mining and the potential application of developing drought-tolerant potato breeding

WANG Xiao-bin^{1,2}, HU Kai-ming^{1,2}, FAN A-qi^{1,2}, ZHAO Feng^{1,2},
ZHANG Jun-lian^{1,3}, WANG Di^{1,2}, BAI Jiang-ping^{1,2}

(1. Gansu Key Lab of Crop Improvement & Germplasm Enhancement – Gansu Provincial Key Lab of Aridland Crop Science, Lanzhou, Gansu 730070, China;
2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;
3. College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: This paper reviewed the function of 68 drought-tolerant genes reported that could enhance the osmotic accumulation, detoxification and antioxidant, bio-molecule. The results showed that the function of transcription factor mainly by activating or inhibiting the expression of downstream drought genes; osmotic genes mainly maintained cell inside and outside osmotic balance; detoxification and antioxidant genes mainly eliminated the accumulation of reactive oxygen species; the genes involved in biological macromolecular synthesis can produce some adversity protein and enhanced crop resistance. In addition, existing problems are listed in order to provide a theoretical basis for the future in arid and semi-arid areas autopolyploid potato breeding drought-resistant crops.

Keywords: crop; drought resistance gene; functional genes; potato; germplasm

作物生长发育会受到各种生物胁迫与非生物胁迫的影响, 生长发育受到抑制以及导致产量下降^[1-2]。植物在长期进化过程中, 产生了以适应或抵御生物与非生物胁迫对植物体所造成伤害的能力, 如通过脯氨酸和可溶性糖含量积累来响应渗透性胁迫^[1]。近年来, 伴随着分子生物学和生物技术的发展, 植物抗旱机制的研究也不断深入, 已在水分代谢、物质代谢、渗透调节和活性氧清除等方面取得

收稿日期: 2016-01-05
基金项目: 国家自然科学基金(31460369); 甘肃科技基金(1308RJZA131, 1308RJJA005); 中科院西部之光项目; 兰州科技研究项目(2013-4-156)
作者简介: 王晓斌(1990—), 男, 甘肃天水人, 硕士, 研究方向为作物遗传育种。
通信作者: 白江平(1978—), 男, 甘肃天水人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事作物遗传育种方面的研究。E-mail: baijp@gsau.edu.cn。

了一定成果。尤其是随着基因芯片和转录组学的发展,与植物干旱应答响应相关的基因已被大量发现,包括一些调控基因和可以提高渗透物质积累、增加生物大分子的合成、能够增强活性氧清除能力以及可以增强与植物抗旱有关酶合成的功能基因。

随着全球气温升高和降雨量的减少,要求作物品种必须适应干旱和高温的生长条件,选育具有良好抗旱能力的作物新品种已变得十分重要。作物抗旱品种选育一般有两条途径:一是通过传统育种方法选育;二是通过直接导入抗旱基因来提高抗旱性,进而选育抗旱品种。目前已经有大量与抗旱有关的信号分子、转录因子和功能基因已成功转入到植物中,并提高了植物的耐旱性。

马铃薯作为世界第四大作物,也是我国北方地区的主要栽培作物,近年来马铃薯的种植面积和区域有增加的趋势,但是主要集中在干旱和半干旱地区,而这些地区降雨量少,水资源短缺,蒸发量大,因此干旱已成为该区马铃薯生产的主要限制因素,所以加强马铃薯抗旱性研究、选育抗旱品种成为该区马铃薯研究的重要方向之一。

本文整理并分析了近年来已发表的并通过转化验证的可以提高植物抗旱性的功能基因以及转录因子,如提高渗透物质积累、具有解毒和抗氧化胁迫及控制植物生物大分子合成的功能基因等及其应用现状,为今后创制适于半干旱地区生产应用的马铃薯抗旱新材料和新品种选育提供科学依据。

1 植物抗旱有关基因的研究现状

根据 Abraham Blum^[3] 的报道,目前已经在 487 种植物中发现了 104 个与植物抗旱有关的基因,而通过转化实验验证,在拟南芥和主要农作物中与抗旱有关的基因有 68 个(表 1)。

在拟南芥中现已证实可以提高抗旱的基因有 15 种,其中绝大多数是转录因子,属于功能基因的较少。水稻中可以增强抗旱能力的基因有 14 个,其中转录因子 5 个,其余为功能基因,Yuka Kitomi 等^[4] 研究表明,干旱胁迫可诱导 *DRO1* 功能基因的表达,使得水稻根系伸长和根在地下的空间分布变大,也可诱导 *ZFP252*^[5] 功能基因的表达,可以消除活性氧积累,使水稻抗旱性增强;小麦中与抗旱有关的基因有 9 个,其中 4 个为 DREB 类和 NAC 类转录因子,其余为功能基因;大麦中发现 *HvCBF4* 可以提高其抗旱能力^[6];玉米中找到与植物抗旱有关的基因 7 个,*ZmbZIP72*^[7] 和 *ZmDREB2A*^[8] 属于转录因子,其余为功能基因,主要与 ABA 途径有关;棉花中主要与抗

旱有关的基因是 DREB 类转录因子和 MPK(促分裂原蛋白激酶)类基因;大豆中可以提高其抗旱能力的基因主要是转录因子类和 GST(谷胱甘肽 S - 转移酶)等功能基因;目前,在马铃薯中发现与抗旱有关

表 1 拟南芥与主要农作物中与抗旱有关的基因
Table 1 The drought tolerant gene in *Arabidopsis thaliana* and crops

基因类型 Gene types	植物种类 Plant types	基因 Genes
MYB/ MYC	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>MYB44</i> ^[9] , <i>MYB4</i> ^[10] , <i>MYB2</i> ^[11]
	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>MYB3R - 2</i> ^[12]
DREB/ CBF	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>DREB1A</i> ^[13] , <i>DREB2A</i> ^[14]
	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>DREB1A</i> ^[15]
	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	<i>DREB2</i> ₃ ^[16]
	大麦 <i>Hordeum vulgare</i>	<i>CBF3</i> ^[6]
	玉米 <i>Zea mays</i>	<i>DREB2A</i> ^[8]
	大豆 <i>Glycine max</i>	<i>DREB2</i> ^[17] , <i>DREB3</i> ^[18]
	棉花 <i>Gossypium hirsutum</i>	<i>DREB</i> ^[19]
	高粱 <i>Sorghum bicolor</i>	<i>DREB2</i> ^[20]
	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>DREB2</i> ^[21]
ERF	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>ERF</i> ^[22]
WRKY	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>WRKY20</i> ^[23]
	大豆 <i>Glycine max</i>	<i>WRKY20</i> ^[23]
	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>WRKY17</i> ^[24]
	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>WRKY1</i> ^[25]
bZIP (AREB, ABF)	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AREB1</i> ₂ ^[26]
	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>bZIP23</i> ^[27]
	玉米 <i>Zea mays</i>	<i>bZIP72</i> ^[7]
NAC (SNAC)	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>NAC5</i> ^[28]
	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	<i>NAC6</i> ^[29] , <i>NAC69</i> ^[30]
	玉米 <i>Zea mays</i>	<i>SNAC1</i> ^[31]
	大豆 <i>Glycine max</i>	<i>NAC5</i> ₆ ^[32]
	棉花 <i>Gossypium hirsutum</i>	<i>NAC5</i> ₆ ^[33]
功能基因 Function genes	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>CPL5</i> ^[34] , <i>RLK</i> ^[35] , <i>MPK2</i> ₃ ^[36] , <i>HARDY</i> ^[37] , <i>ATHB6</i> ^[38] , <i>P5CS</i> ^[39] , <i>SnRK2</i> ^[40]
	水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>SIK1</i> ^[41] , <i>ZFP252</i> ^[5] , <i>TLDI</i> ^[42] , <i>DSGI</i> ^[43] , <i>DRO1</i> ^[4] , <i>Hsf1</i> ^[44] , <i>DST</i> ^[45] , <i>MPK3</i> ^[46] , <i>CIPK</i> ^[47]
	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	<i>SnRK2</i> ₄ ^[48] , <i>SnRK2</i> ₁₀ ^[49] , <i>AQP7</i> ^[50] , <i>srg6</i> ^[51] , <i>RLK</i> ^[52]
	玉米 <i>Zea mays</i>	<i>ABP9</i> ^[53] , <i>PP2C</i> ^[54] , <i>SnRK2</i> ^[55] , <i>MPK3</i> ^[56]
	大豆 <i>Glycine max</i>	<i>GST</i> ^[57]
	棉花 <i>Gossypium hirsutum</i>	<i>MPK2</i> ^[58] , <i>MPK16</i> ^[59] , <i>SnRK2</i> ^[60]
	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>SnRK2</i> ^[61]

的基因仅有 *SnRK2*、*WRKY1* 和 *DREB1*，相对而言，花生、番茄、辣椒和西瓜等作物抗旱基因的发掘还比较少。

2 植物抗旱基因的分类与作用机理

根据抗旱基因在植物体中发挥的作用不同,可以将抗旱基因分为功能基因和调控基因,其中功能基因主要包括渗透调节基因、具有解毒和抗氧化胁迫的基因和生物大分子合成基因以及激活蛋白激酶活性的功能基因,调控基因包括 MYC/MYB、DREB、WRKY、bZIP 和 NAC 类调控因子。

2.1 植物抗旱基因的聚类分析

通过聚类分析可以推测未知基因的功能,为抗旱基因的挖掘以及抗旱品种的选育提供科学依据。Abraham Blum 等^[3]收集整理,目前已在拟南芥和主要作物中发现 78 个基因可以增强植物抗旱性,根据这些基因的作用机理,可将其分为两大类,即功能基因和调控基因,功能基因编码的蛋白质对逆境中的植物直接起保护作用,调控基因编码的蛋白质在信号传导途径和对逆境胁迫基因表达过程中起调控作用。利用 MEGA5.05 对 68 个调控基因和功能基因的编码序列分别进行聚类分析(图 1,图 2)。

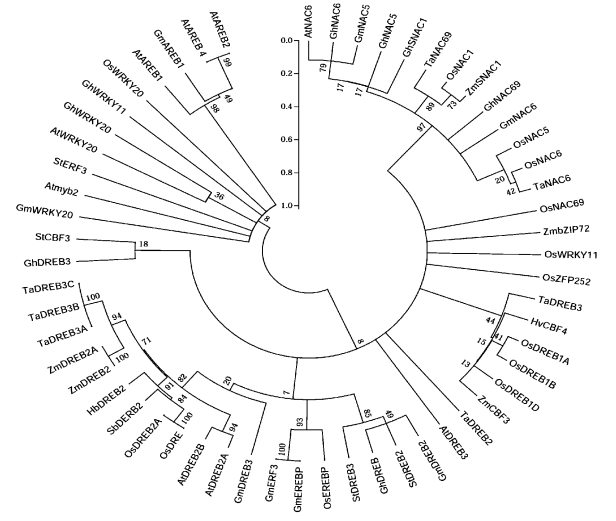


图 1 植物抗旱相关调控基因的聚类分析

Fig.1 Cluster analysis of plant drought-tolerant related regulatory genes
注 Note: At—*Arabidopsis thaliana* 拟南芥; Gm—*Glycine max* 大豆; Gh—*Gossypium hirsutum* 陆地棉; Hv—*Hordeum vulgare* 大麦; Sl—*Solanum lycopersicum* 番茄; Os—*Oryza sativa* 水稻; Sb—*Sorghum bicolor* 高粱; St—*Solanum tuberosum* 马铃薯; Ta—*Triticum aestivum* 小麦; Zm—*Zea mays* 玉米. 下同 The same below.

bZIP—basic leucine zipper; AREB—ABA responsive element binding protein; ABF—ABRE binding factor; AP2/EREBP—DRE binding protein/CRT binding factor; NAC—cup-shaped cotyledon; SNAC—stress-responsive NAC; ZFP—zinc finger protein.

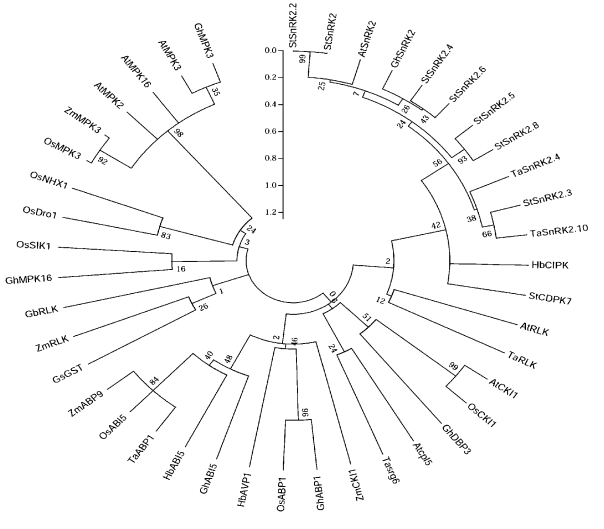


图 2 与植物抗旱相关功能基因的聚类分析
Fig.2 Cluster analysis of plant drought-tolerant function gene

聚类结果(图 1)表明,这些调控基因可以聚为两大类(顺时针方向),第一大类调控基因主要是三大转录因子家族 NAC、AP2/ERF 和 TFIIIA - type zinc finger 和 bZIP 家族,其中 AP2/ERF 占绝大多数。又可以分为 4 个小类,即 *AtNAC6* 到 *TaNAC6*; *TaDREB3* 到 *ZmCBF3*; *GmDREB2* 到 *TaDREB3C*; *GhDREB3* 到 *StCBF3*; 以及 *OsNAC69*、*ZmbZIP72*、*OsWRKY11*、*OsZFP252*、*TaDREB2* 和 *AtDREB3*。其中, NAC 家族属于 ABA 依赖型,主要控制气孔关闭,调节细胞膜内外渗透压相对平衡以及诱导生物大分子的合成; AP2/ERF 家族主要调控气孔的关闭和脯氨酸含量的积累; TFIIIA - type zinc finger 家族的调控基因主要是诱导脯氨酸和可溶性糖含量的积累; bZIP 家族属于 ABA 依赖型,然而 *bZIP72* 和 *ZFP252* 属于 bZIP 家族的调控因子, *ZFP252* 主要是通过调控脯氨酸和可溶性糖的积累来增强植物的抗旱能力。第二大类主要包括 AREB、WRKY 和 MYB 家族的调控基因,其功能主要是通过减少叶片的萎蔫和水分的丢失,以及增加气孔的密度和调节气孔的开闭提高植物的耐受性。

图 2 显示提高植物抗旱能力的功能基因可以聚为五大类(从顺时针方向看),即第一类 *StSnRK2.2* 到 *TaRLK*; 第二类 *AtCKII* 到 *Tasrg6*; 第三类 *ZmCKII* 到 *ZmABP9*; 第四类 *GsGST* 到 *GbRLK*; 第五类 *GhMPPK16* 到 *GhMPPK3*。第一类主要是拟南芥、马铃薯和棉花中的 SnRK2 家族基因,该家族的基因主要通过减少叶片水分散失,增加叶片的相对含水量,从而提升植物细胞对逆境的忍受能力;而该类中 CDPK 家族的基因主要是通过下游的调节途径,增

加植物对冷、干旱的忍受能力;第二类主要是拟南芥、水稻、小麦和棉花中的可以提高抗旱能力的功能基因,可以被 ABA 和干旱所诱导;第三类主要是 ABP 和 ABI5 类基因,与 bZIP 调控因子有着密切联系。ABP(abscisic acid (ABA) – responsive element binding protein)主要是通过根系伸长和气孔关闭促进植物保水能力的提高,ABI5 (ABA – insensitive 5)属于 ABA 非敏感性基因,在逆境胁迫中起到负调控作用;第四类主要是 RLK(receptor – like protein kinases)和 GST(glutathione S – transferase)二类基因,RLK 主要是通过 ABA 途径减少植物体内水分丢失,从而增强植物的抗旱能力,GST 通过激活谷胱甘肽 S – 转移酶的活性,促使植物根系的伸长和延缓生长发育来提高植物的耐受性;最后一类主要是 MPK(mitogen – activated protein kinase)基因,通过增加抗氧化酶的活性,减少或清除活性氧的积累,增加脯氨酸含量和减少水分的丢失来增强植物的耐旱性。

2.2 植物抗旱基因的作用机理分析

植物受到干旱胁迫会诱导产生多种不良反应,

如渗透压的改变,活性氧的积累,因此植物体必须迅速启动对这些不良反应的应答才能存活下来。根据徐立明,Yang^[62]等的研究,植物对干旱胁迫应答主要是通过渗透调节、活性氧清除、生物大分子物质的合成以及新陈代谢的改变来实现(图 3)。渗透调节主要是通过增加细胞溶质浓度,降低渗透势,保持膨压,维持细胞中的水分平衡和细胞各种生理活动的正常进行;干旱胁迫会引起植物细胞膜及内膜系统在结构和功能上发生显著改变,导致植物体内积累大量的活性氧,植物在长期进化过程中形成可以清除活性氧积累的小分子物质;植物生长在水分短缺的环境中,体内生物大分子蛋白合成和合成速率减少,体内原有的一些蛋白质的合成受到抑制,与此同时植物体会合成一些新蛋白质(即逆境诱导蛋白),如胚胎发育晚期丰富蛋白、水通道蛋白和渗透蛋白,逆境诱导蛋白对处于逆境中的植物起保护作用,可以提高植物耐逆境的能力;干旱胁迫对植物新陈代谢的影响主要是影响植物体的光合作用和气孔开闭和密度。

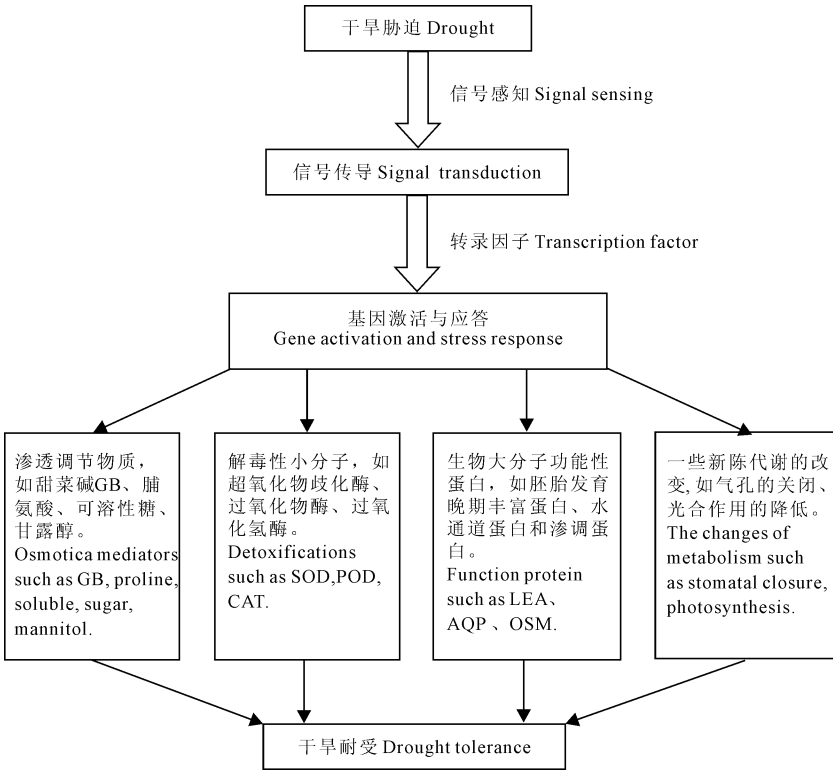


图 3 干旱胁迫下的遗传路径

Fig.3 A genetic pathway under drought stress

2.2.1 调控基因 转录因子又称反式作用因子(Trans – acting factor)是指可以结合在某基因上游特异核苷酸序列上的蛋白质,从而调控基因转录。转录因子根据其表达特点的不同可以分为两种,一种

是组成型转录因子,在任何时候都可以表达;另一种是诱导型转录因子,只有逆境胁迫才可诱导其表达,进而诱导其下游功能基因的表达。干旱胁迫可以诱导植物体内的组成型转录因子被磷酸化所激活,通

过信号传导以及蛋白激酶磷酸化和去磷酸化的级联反应进而诱导下游基因的表达,提高植物的耐旱性。转录因子在植物干旱胁迫中发挥极其重要作用,植物体内含有大量的转录因子。目前研究发现可以响应并提高植物抗旱性相关的转录因子有 MYC/MYB、DREB、WRKY、bZIP 和 NAC。

(1) MYB/MYC 类转录因子

MYB/MYC 类转录因子是植物转录因子中最大的一个家族,是一类主要依赖于 ABA 调控系统的转录因子^[63]。现已报道 MYB/MYC 能够广泛参与植物的多种反应,如植物的次生代谢、生长发育、细胞形态发生、植物生长的信号转导、生物和非生物胁迫应答,但 MYB/MYC 类转录因子与植物抗逆相关性研究较少。水稻 *MYB3R-2* 基因的表达可以增强拟南芥对于干旱的适应性^[64],而拟南芥中的 *AtMYB60* 和 *AtMYB44*^[9]可以提高抗旱基因的表达,能够有效调节气孔的运动,减小气孔开放和水分散失。

(2) DREB 类转录因子

DREB(dehydration response element block)类转录因子是 AP2/ERF 类基因家族中的一员,是一类对于旱起应答反应的结合蛋白,在干旱胁迫下可以调控多个与抗旱有关基因表达。对于 DREB 类转录因子研究最早的是 Stockinger^[65],他们从拟南芥的 cDNA 文库中分离得到可以编码 DREB 蛋白的 *CBF1* 和 *DREB1A*。到目前为止对于 DREB 研究已深入到小麦、水稻、玉米、马铃薯等多种作物中,其中拟南芥的 *DREB1* 在水稻中超量表达可以增加水稻的抗旱能力;大豆的 *GmDREB2*^[17]在拟南芥中也可以得到表达,并且可以通过增加叶片中脯氨酸含量来增强植物对于干旱的适应性。拟南芥的 *DREB2A*、棉花的 *GhDREB*^[19]可以在转基因小麦中表达并改善小麦对于逆境的适应;小麦中的 *TaDREB2* 和 *TaDREB3*^[16]可以避免逆境对植物的损害;玉米的 *ZmDREB2A*^[8]基因主要是通过控制与 LEA 合成有关基因来提高植物抗旱性。

(3) WRKY 类转录因子

WRKY 类转录因子是目前研究最多的一类转录因子,主要通过控制 WRKY 蛋白与启动子 W-Box 区域的特异性结合来调控基因表达,生物胁迫和非生物胁迫可以诱导 WRKY 类转录因子的表达调控,目前对于 WRKY 类转录因子的研究主要集中在对植物生长发育过程中调控以及在生物与非生物胁迫下的调控作用^[66]。现已报道多个 WRKY 类转录因子参与了植物的抗旱响应,在水稻中热处理可以诱导 *OsWRKY11* 基因的过量表达使得水稻萎蔫的叶片

慢慢变绿,可以减少叶片水分丢失,增强抗旱性,存活率提高^[21];Luo 等^[67]将野生大豆中的 *GsWRKY20* 基因导入到拟南芥中,其主要是通过控制气孔的闭合和气孔的密度来提高植株对于干旱的耐受性;Okay 等^[68]研究发现在小麦中存在着多个 WRKY 的基因,包括 *TaWRKY16*、*TaWRKY17*、*TaWRKY19-C*、*TaWRKY24*、*TaWRKY59*、*TaWRKY61* 和 *TaWRKY82*,这些基因都与小麦抗旱等多种抗逆性有着密切联系。

(4) bZIP 类转录因子

碱性亮氨酸拉链(basic region/leucine zipper motif, bZIP)类转录因子是目前研究最多的转录因子基因之一,在植物抗病、抗旱、抗寒和抗盐等方面发挥着重要的作用。Ying 等^[69]发现玉米的 *ZmbZIP72* 基因主要是通过减少叶片水分丢失,增加脯氨酸积累,减少渗透物质外渗以及增加植物在逆境下的存活率来提高拟南芥的抗旱性,同时在水稻中也发现 *bZIP72*^[70]可提高水稻干旱的耐受力;Gao 等^[71]研究发现大豆 *GmbZIP1* 基因可以提高大豆的抗旱性,主要是通过控制 ABA 和气孔的开闭来实现。

(5) NAC 类转录因子

NAC 类转录因子是植物所特有的一类转录因子,在植物生长发育、侧根和分生组织形成、激素调节和抵抗逆境胁迫等方面发挥着重要作用。现已研究表明,NAC 类转录因子参与干旱、高盐应答基因表达,在植物抗旱、高盐等非生物胁迫中发挥重要作用^[72]。目前已报道在水稻中含有 3 个与抗旱相关的基因 *OsNAC6/SNAC2*^[5]和 *ONAC045*^[73];Xue 等^[31]证实 *TaNAC69* 基因可以增加小麦的抗旱性。

2.2.2 功能基因 植物在受到逆境胁迫时通过诱导一些可以改变细胞内外渗透压,清除活性氧积累以及合成一些可以提高植物抗旱能力的生物大分子功能基因的表达以及激活蛋白激酶基因的表达。

(1) 渗透调节相关基因

植物体在受到干旱胁迫时,可诱导渗透调节相关基因的表达,参与植物主要渗透调节物质脯氨酸、可溶性糖、甜菜碱和甘露醇含量的增加。

① 脯氨酸合成酶相关基因

植物长期处于干旱胁迫环境中,会引起体内脯氨酸含量的增加。脯氨酸含量的积累不仅对植物膜起到保护性作用,而且脯氨酸的偶极性可以保护膜蛋白结构的完整性,从而减少植物体内水分丢失。截至当前发现能够增加脯氨酸含量的基因包括 *P5CS*^[74]、*hpf1*^[44]、以及 *MtCaMPI*^[75],它们具有相似的功能,都能够干旱胁迫下促进脯氨酸的积累,从而达到抗旱目的。

② 可溶性糖合成酶相关基因

植物处于干旱胁迫时,体内可溶性糖含量会大量积累。可溶性糖的积累可以降低细胞的渗透势,对细胞内酶活性起到一定保护作用。*AtCBF4* 是促进植物体内可溶性糖含量积累和增强植物抗旱性的主要基因。*AtCBF4* 是在拟南芥中发现,并将其成功地转入到大豆中,发现大豆植株在受到干旱胁迫时细胞中可溶性糖含量明显增加^[76];何美敬等^[77]在花生中研究发现 AhSuSy(蔗糖合酶)可以增加根中的蔗糖含量,从而能够增强植物的抗旱性。

③ 甜菜碱合成相关基因

甜菜碱作为一种小分子渗透物质,植物处于干旱胁迫时,植物体内甜菜碱会出现大量积累,甜菜碱积累有助于保持细胞内外渗透势平衡,同时甜菜碱大量积累也有助于蛋白质四级结构的稳定。甜菜碱生物合成受到胆碱单加氧酶和甜菜碱醛脱氢酶活性的影响,因此对于生物体内控制渗透物质甜菜碱含量的基因,一般是通过控制这两种酶的活性来控制甜菜碱积累。现已研究表明,控制这两种酶活性的基因有 *CMO* 基因和 *BADH* 基因。Luo D 等^[78]发现水稻中含有 *CMO* 和 *BADH* 基因。目前对于甜菜碱醛脱氢酶的研究虽有相关报道,但主要集中于对耐盐性的研究,对抗旱机理的研究相对较少。

④ 甘露醇合成有关基因

与甘露醇生物合成相关基因 1-磷酸甘露醇脱氢酶(*mtl D*)来源于烟草。Abebe 等研究发现转入 *mtl D* 基因的小麦植株与野生型的小麦相比体内甘露醇的含量明显增加,并且对干旱和耐盐性的耐受力明显增强。

(2) 具有解毒和抗氧化胁迫的基因

干旱胁迫对植物影响是多方面的,其中氧化损伤是很重要的一个负面影响。研究发现,植物受到干旱胁迫时植物体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)会出现积累的情况,比如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等大量的积累,能够有效抵抗氧化损伤所引起的伤害。现已证实可以清除活性氧以避免或减轻对植物损害的基因包括 *ABP9*^[53]、*GbMPK3*^[79] 以及 *ZFP245*(锌指蛋白 245)^[80]。*ABP9* 是在玉米中发现在拟南芥中得到表达,*ABP9* 可以对活性氧积累起到一定的清除作用,从而减少活性氧的积累;*GbMPK3* 是在烟草中发现的促分裂原蛋白激酶,可以增加抗氧化酶的活性,从而可以减少活性氧的积累;*ZFP245*(锌指蛋白 245)可以清除活性氧的积累,从而增强植物对干旱的忍受能力。

(3) 生物大分子合成相关基因

植物对干旱胁迫响应主要通过一些蛋白质的含量变化来适应,这些蛋白质主要包括胚胎发育晚期丰富蛋白(Late embryogenesis abundant protein, LEA)、水通道蛋白(Aquaporin, AQP)和渗透蛋白(OSM),这些蛋白质在植物抗逆生理中发挥着极其重要作用。

胚胎发育晚期丰富蛋白(LEA)与植物抗旱关系最为密切,主要在植物胚胎发育后期产生,并随着种子成熟其含量逐渐增加。植物在干旱和渗透胁迫条件下,胚胎发育晚期丰富蛋白得以丰富表达,可以增强植物的抗旱性。

水通道蛋白(AQP)是植物体内一系列分子量为 26~34 kD、具有强选择性和能够高效转运水分子的膜蛋白,也是一种对胁迫起保护作用的膜蛋白。

渗透蛋白(OSM)属于一种阳离子蛋白,最早是在烟草悬浮细胞中获得,随后在番茄和马铃薯等茄科类作物中发现,其在生物胁迫和非生物胁迫下都可以诱导与渗透蛋白相关基因的表达。

(4) 蛋白激酶

蛋白激酶在逆境胁迫下主要激活不同的磷酸化途径介导外界环境信号感知和传递,调控下游基因表达,启动相应生理生化过程来提高植物耐受性。截至目前,参与植物逆境胁迫相关的蛋白激酶主要有 GUDK(Growth under drought kinase)、MAPK(Mitogen-activated protein kinase)、RLK(Receptor-like kinase)、CDPK(Calcium and calmodulin-dependent protein kinase dependent)和 SnRK(Sucrose non-fermenting-1-related protein kinase)五类。

① 受体类胞质激酶

受体类胞质激酶是一类受干旱诱导的蛋白激酶,Niu 等^[81]研究发现 GUDK 主要通过磷酸化来激活 *Os-AP37* 基因的表达,提高水稻的耐旱性,实现了在干旱条件下水稻产量的提高。

② 促分裂素原活化蛋白激酶

MAPK 是蛋白激酶中的一个大家族,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。MAPK 家族包括分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)、分裂原活化蛋白激酶激酶(MAPK kinase, MAPKK)和分裂原活化蛋白激酶激酶激酶(MAPK kinase, MAPKKK)。Xiong 等^[82]研究发现水稻中 *OsMAPK5* 蛋白激酶能够正向调节逆境的耐受性。

③ 受体蛋白激酶

受体蛋白激酶是一类跨膜蛋白激酶,在非生物胁迫和植物的生长、发育过程中发挥着极其重要作用。根据 Chen 等^[83]的研究结果水稻的 *OsSIK2* 受体

蛋白激酶可以明显增强转基因株系抗旱能力;Yang L 等^[84]研究证实大豆 GsCBRLK 主要是通过诱导蛋白表达水平或激活蛋白酶活性来提高植物的耐受性,Yang 等从野生大豆中筛选出新的受体蛋白激酶 GsLRPK,将其成功地导入到拟南芥中并证实拟南芥的抗旱力明显提高,Sun X 等^[85]也得到同样的结果。

④ 钙依赖而钙调素不依赖的蛋白激酶

钙依赖而钙调素不依赖的蛋白激酶参与植物非生物胁迫应答调控过程主要是通过磷酸化激活或者抑制下游蛋白活性。Zou J J 等^[86]研究发现干旱胁迫能够诱导拟南芥 *AtCPK8* 的过量表达,过表达 *AtCPK8* 转基因株系与野生型相比具有更强的耐旱能力;Wei S 等^[87]研究发现水稻中过表达 *OsCPK9* 主要是通过促进气孔关闭提高水稻的抗旱性。

⑤ 蔗糖非酵解蛋白激酶

植物 SnRK 参与调控干旱、高盐、低温、疾病和碳代谢过程。Umezawa 等^[40]研究发现转基因拟南芥 *SnRK* 与野生型相比抗旱性明显增强;Wang 等^[49]研究发现 *TaSnRK2.10* 过表达可以提高小麦的耐受性,主要是通过减少植物水分的丢失,提高小麦在干旱条件下的产量;Babatunde Bello^[58]研究发现 *SnRK2* 过表达可以增强棉花的耐旱性,主要是通过减少水分流失,调节膨压,提高相对含水量实现的;可以提高植物的耐逆性已经被 Mao 等^[61]在马铃薯研究中得以证实。

3 马铃薯抗旱相关基因的挖掘与利用前景

马铃薯是一种典型的温带气候性作物,其对于旱胁迫反映十分敏感,因此干旱是影响马铃薯产量和品质的主要环境因子,随着分子生物学和现代生物技术的快速发展,国内外研究者对马铃薯抗旱性研究也越来越多,主要是利用现代生物技术手段以及利用基因芯片技术和转录组学来提高马铃薯的抗旱性。

根据现有的研究结果,可以增强马铃薯抗旱能力的基因主要分为调控基因和功能基因两大类。第一类调控基因包括:(1) MYB 类转录因子 *MYBIR-1*^[88],利用反向 Northern 杂交分析证实 *StMYBIR-1* 过表达可以提高马铃薯的抗旱能力,但是对其它农艺性状没有显著的影响;(2) DREB 类转录因子 *DREB1A*、*DREB1B*^[89],过表达 *DREB1* 的甜马铃薯与野生型相比根明显伸长,抗旱性有显著地提高,主要是干旱胁迫诱导 *DREB1* 基因的表达促使马铃薯根系伸长;利用 PCR 方法成功从拟南芥中克隆获得了

转录因子 *DREB1A*^[89] 基因以及诱导性启动子 *rd29A*,通过 DNA 重组技术构建载体并通过农杆菌介导法对马铃薯进行遗传转化,结果表明转入 *DREB1A* 基因的马铃薯品种“陇薯 10 号”的抗旱性明显增强;以烟草花叶病毒 35S 作为启动子并通过农杆菌介导法对马铃薯进行遗传转化,过表达的 *DREB1B*^[90] 马铃薯与野生型相比抗旱抗寒性明显增强,主要是与增加了脯氨酸的含量以及减少了马铃薯体内的水分丢失、提高相对含水量有关;(3) NAC 类转录因子 *NAC2*^[91], *StNAC2* 基因在马铃薯叶、茎、块茎、花和根均有表达, *NAC2* 不仅可以被创伤、盐和干旱所诱导,而且也可以被马铃薯晚疫病致病因子所诱导。

第二类功能基因包括:(1) 渗透调节相关基因脯氨酸合成基因 *P5CS*(二氢吡咯-5-羧化物合成酶)^[92],利用农杆菌介导法对“东农 303”马铃薯微型薯进行遗传转化,与野生型马铃薯微型薯相比脯氨酸含量有显著提高,抗旱和抗盐能力有明显提高;甜菜碱合成基因 *BADH*^[93-94],通过根瘤农杆菌介导法将甜菜碱醛脱氢酶(*BADH*)基因导入马铃薯栽培品种“甘农薯 2 号”中,经 PCR、Southern 和 Northern 杂交证明 *BADH* 基因已整合到马铃薯基因组中并在转基因植株中转录和表达,与野生型相比马铃薯栽培种“甘农薯 2 号”相比 *BADH* 酶活性显著提高;(2) 蛋白激酶 *MIPS1*(肌醇-1-磷酸合酶)^[95], *MIPS1* 是肌醇生物合成的限速酶,通过实时定量 PCR 表明过表达的 *MIPS1* 提高了甜马铃薯的抗旱能力;利用 PCR 和 DNA 重组技术,克隆 *AtCDPK1*^[96],构建载体,利用农杆菌介导法进行遗传转化马铃薯微型薯‘费乌瑞它’,通过 RT-PCR 分析证实,该基因在‘费乌瑞它’的植株中均可以正常表达;毛娟等^[73]通过实验证实 *SnRK2* 在不同的处理和不同的马铃薯品种中的表达是有差异的。

如上所述,截至目前提高马铃薯抗旱能力的基因主要集中在 DREB 类的转录因子、渗透调节相关基因和蛋白激酶这些植物内部分子机制的研究上,而干旱对植物形态的影响研究较少,尤其是对根系的研究。根系是植物吸收水分、营养的直接器官,其发达与否对提高植物耐旱性有至关重要的作用,因此加强植物根系的研究对于提高植物的抗旱能力有极其重要的作用。同时,马铃薯是以收获块茎为主的农作物,培育具有发达根系的马铃薯新品种是提高马铃薯产量的前提。根据现有的研究结果(表 1)干旱胁迫下可以使植物根系伸长的基因有 *HARDY*^[4]、*ATHB6*^[44] 和 *Dro1*^[53],拟南芥 *HARDY* 基

因在水稻中过表达后通过根系体积的变大和根系数量的增多,增强转基因水稻对干旱和高盐胁迫的抗性,使转基因植株水分利用效率提高、光合作用增加和蒸腾减弱;*ATHB6* 在根中主要是通过控制主根和侧根的细胞分裂来增强植物抗旱能力,转入 *ATHB6* 基因的拟南芥与野生型相比耐受性明显增强;*Dro1* 的过表达可使水稻根系发达和根系空间结构变大,有利于水稻吸收更多的水分,转入 *Dro1* 基因的水稻与野生型相比抗旱能力明显增强。

马铃薯是一种主要以收获块茎为主的作物,因此选育根系发达的马铃薯品系是培育高产马铃薯品种的首要条件,*HARDY*、*ATHB6* 和 *Dro1* 功能基因在改变植物根系的长度、数量、空间结构和根系发达程度方面有着重要的作用,其在马铃薯中的功能值得进一步研究,为培育具有发达根系和抗旱能力的马铃薯新品种提供有效途径。植物耐旱性机理的深入研究和基因资源将为马铃薯抗旱育种与种质创新提供新的支撑点,相信不久的将来会有大量的抗旱基因将应用到马铃薯生产实践中。

参 考 文 献:

- [1] 王尊欣,张树珍.作物抗旱性及抗旱育种研究进展[J].作物杂志,2014,(2):26-32.
- [2] 程媛媛,苏孝良.植物抗旱机制研究进展[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2014,12(2):113-120.
- [3] Blum A. Genomics for drought resistance – getting down to earth[J]. Functional Plant Biology, 2014,41(10):1191-1198.
- [4] Kitomi Y, Kanno. N QTLs underlying natural variation of root growth angle among rice cultivars with the same functional allele of *DEEPER ROOTING 1*[J]. Rice, 2015,8(1):8-16.
- [5] Xu D Q, Huang J. Overexpression of a TFIIIA – type zinc finger protein gene *ZFP252* enhances drought and salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. FEBS Letters,2008,582(7):1037-1043.
- [6] Louren T, Saibo N, Oliveira M M, et al. Inducible and constitutive expression of *HbCBF4* in rice leads to differential gene expression and drought tolerance[J]. Biologia Plantarum, 2011,55(4):653-663.
- [7] Ying S, Zhang D F, Li Y, et al. Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, *ZmbZIP72*, confers drought and salt tolerance in transgenic[J]. Arabidopsis Planta, 2012,235(2):253-266.
- [8] Qin F, Kakimoto M, Kazuko Y S, et al. Regulation and functional analysis of *ZmDREB2A* in response to drought and heat stresses in *Zea mays*[J]. The Plant Journal, 2007,50(1):54-69.
- [9] Jung C, Shim J S. Non-specific phytohormonal induction of *AtMYB44* and suppression of jasmonate-responsive gene activation in arabidopsis thaliana[J]. Mol. Cells, 2010,29(1):71-76.
- [10] Hemm M R, Hermann K, Chapple C, et al. *AtMYB4*: a transcription factor general in the battle against UV[J]. Plant Science, 6(4): 135-136.
- [11] Yu L, H X, Li L, et al. *AtMYB2* transcription factor can interact with the CMO promoter and regulate its downstream gene expression [J]. Biotechnology Letters, 2012,34(9):1749-1755.
- [12] Dai X Y, Xu Y Y, Chong K, et al. Overexpression of an *R1R2R3 MYB* gene, *OsMYB3R-2*, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic arabidopsis[J]. Plant Physiology, 2007, 143(4):1739-1751.
- [13] Amanda P R, Josirley F C, Alexandre L N, et al. Phenotyping soybean plants transformed with *rd29A:AtDREB1A* for drought tolerance in the greenhouse and field[J]. Transgenic Res, 2014,23(1):75-87.
- [14] Yoshida T, Sakuma Y, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. Functional analysis of an Arabidopsis heat-shock transcription factor *HsfA3* in the transcriptional cascade downstream of the REB2A stress-regulatory system[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008,368:515-521.
- [15] Joseph G, Dubouzet, Sakuma Y. *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought – , high – salt – and cold – responsive gene expression[J]. The Plant Journal, 2003,33(4):751-763.
- [16] Morran S, OmidEini. Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors[J]. Plant Biotechnology Journal,2011,9(2):230-249.
- [17] Chen M, Wang Q Y, Cheng X G, et al. *GmDREB2*, a soybean DRE – binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007,353(2):299-305.
- [18] Chen M, Xu Z, Ma Y J, et al. Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, *GmDREB3*, in soybean (*Glycine max* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2009,60(1):121-135.
- [19] Gao S Q, Chen M, Xia L Q, et al. A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE – binding transcription factor gene, *GhDREB*, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat[J]. Plant Cell Rep, 2009,28(2):301-311.
- [20] Bihani P, Char B, Bhargava S. et al. Transgenic expression of sorghum *DREB2* in rice improves tolerance and yield under water limitation[J]. The Journal of Agricultural Science, 2011,149(1):95-101.
- [21] Kim Y, Yang K S, Sun H R, et al. Molecular characterization of a cDNA encoding DR EB-binding transcription factor from dehydration treated fibrous root s of sweet potato[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2007,46:196-204.
- [22] Tian Z, He Q, Xie C, et al. The potato ERF transcription factor *StERF3* negatively regulates resistance to phytophthora infestans and salt tolerance in potato[J]. Plant and Cell Physiology, 2015,56(5): 992-1005.
- [23] Luo X, Bai X. Expression of wild soybean *WRKY20* in Arabidopsis enhances drought tolerance and regulates ABA signaling[J]. Journal of Experimental Botany, 2013,66(8):2155-2169.
- [24] Jin H X, Xu G L, Deyue, et al. *GmNAC5*, a NAC transcription factor, is a transient response regulator induced by abiotic stress in soybean[J]. Scientific World Journal, 2013,2013:768972.
- [25] Moon S J, Han S Y, Byun M O, et al. Ectopic expression of

- CaWRKY1*, a pepper transcription factor, enhances drought tolerance in transgenic potato plants[J]. *Journal of Plant Biology*, 2014, 57(3):198-207.
- [26] Yoshida T, Fujita Y. *AREB1*, *AREB2*, and *ABF3* are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE – dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation[J]. *The Plant Journal*, 2010, 61(4):672-685.
- [27] Xiang Y, Tang N. Characterization of *OsbZIP23* as a key player of the basic leucine zipper transcription factor family for conferring abscisic acid sensitivity and salinity and drought tolerance in rice[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(4):1938-1952.
- [28] Song S H, Chen Y, Chen J, et al. Physiological mechanisms underlying OsNAC5 – dependent tolerance of rice plants to abiotic stress [J]. *Planta*, 2011, 234:331-345.
- [29] Tang Y M, Liu M Y, Chen X P, et al. Molecular characterization of novel *TaNAC* genes in wheat and overexpression of *TaNAC2a* confers drought tolerance in tobacco[J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 144(2):210-224.
- [30] Xue G P, Heather M, Wa ya, et al. Overexpression of *TaNAC69* leads to enhanced transcript levels of stress up-regulated genes and dehydration tolerance in bread wheat[J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(4):1-16.
- [31] Lu M, Ying S, Li Y, et al. A maize stress – responsive NAC transcription factor, *ZmSNAC1*, confers enhanced tolerance to dehydration in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(9):1701-1711.
- [32] Reis P A, Fontes E P. N-rich protein (NRP)-mediated cell death signaling: a new branch of the ER stress response with implications for plant biotechnology[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2012, 7(6):628-632.
- [33] Meng C M, Cai C P, Wang Z, et al. Characterization of six novel *NAC* genes and their responses to abiotic stresses in *Gossypium hirsutum* L.[J]. *Plant Science*, 2009, 176(3):352-359.
- [34] Jin Y M, Jung J W. AtCPL5, a novel Ser – 2 – specific RNA polymerase II C – terminal domain phosphatase, positively regulates ABA and drought responses in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2011, 190:57-74.
- [35] Zhou B, Zhao X, L Y H, et al. Transient expression of a foreign gene by direct incorporation of DNA into intact plant tissue through vacuum infiltration[J]. *Biotechnology Letters*, 2009, 31(11):1811-1815.
- [36] Umezawa T, Sugiyama N, Shinozaki K, et al. Genetics and phosphoproteomics reveal a protein phosphorylation network in the abscisic acid signaling pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Science Signaling*, 2013, 6(270):1-8.
- [37] Karaba A, Dixit S. Improvement of water use efficiency in rice by expression of *HARDY*, an *Arabidopsis* drought and salt tolerance gene [J]. *PNAS*, 2007, 104(39):15270-15275.
- [38] Söderman E, Hjelstrom M, Engström P, et al. The HD – Zip gene *ATHB6* in *Arabidopsis* is expressed in developing leaves, roots and carpels and up-regulated by water deficit conditions[J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40(6):1073-1083.
- [39] Szekely G, Abraham E, Szabados L, et al. Duplicated *P5CS* genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis[J]. *The Plant Journal*, 2008, 53(1):1-28.
- [40] Umezawa A, Yoshida R, Shinozaki K, et al. SRK2C, a SNF1 – related protein kinase2, improves drought tolerance by controlling stress-responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PNAS*, 101(49):17306-17311.
- [41] Ouyang S Q, Liu Y F, Liu P, et al. Receptor-like kinase OsSIK1 improves drought and salt stress tolerance in rice (*Oryza sativa*) plants[J]. *The Plant Journal*, 2010, 62(2):316-329.
- [42] Zhang S W, Li C H. Altered architecture and enhanced drought tolerance in rice via the down-regulation of Indole – 3 – Acetic Acid by TLD1/OsGH3. 13 Activation[J]. *Plant Physiology*, 2009, (151):1889-1901.
- [43] Park G, Park J J. A RING finger E3 ligase gene, *Oryza sativa* delayed seed germination 1 (*OsDSG1*), controls seed germination and stress responses in rice[J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 74(4):467-478.
- [44] Zhang L, Xiao S S. Overexpression of a Harpin-encoding gene *hrf1* in rice enhances drought tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(12):1-10.
- [45] Huang X Y, Chao D Y. A previously unknown zinc finger protein, DST, regulates drought and salt tolerance in rice via stomatal aperture control[J]. *Genes Dev*, 2009, 23(15):1805-1817.
- [46] Shen H S, Liu C T, Wang X P, et al. OsWRKY30 is activated by MAP kinases to confer drought tolerance in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2012, 80(3):241-253.
- [47] Xiang Y, Huang Y M. Characterization of stress-responsive *CIPK* genes in rice for stress tolerance improvement[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(3):1416-1428.
- [48] Mao X G, Zhang H Y. TaSnRK2.4, an SNF1 – type serine/threonine protein kinase of wheat (*Triticum aestivum* L.), confers enhanced multistress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(3):683-696.
- [49] 王 倩, 毛新国, 吕小平, 等. 小麦 *TaSnRK2.10* 的多态性及与农艺性状的关联[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(10):1865-1877.
- [50] Zhou S Y, Hu W, He G Y, et al. Overexpression of the wheat aquaporin gene, *TaAQP7*, enhances drought tolerance in transgenic tobacco[J]. *PlosOne*, 2012, 7(12):e52439,
- [51] Tong S M, Ni Z F. Ectopic overexpression of wheat *TaSrg6* gene confers water stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Science*, 2007, 172(6):1079-1086.
- [52] Zhou H B, Li S F, Zhang X Q, et al. Molecular analysis of three new receptor-like kinase genes from hexaploid wheat and evidence for their participation in the wheat hypersensitive response to stripe rust fungus infection[J]. *The Plant Journal*, 2007, 52(3):420-434.
- [53] Zhang X, Wang L, Zhao J, et al. Maize *ABP9* enhances tolerance to multiple stresses in transgenic *Arabidopsis* by modulating ABA signaling and cellular levels of reactive oxygen species[J]. *Plant Mol Biol*, 2011, 75(5):365-378.
- [54] Liu L X, Hu X L, Li D Q, et al. Over-expression of a *Zea mays* L. protein phosphatase 2C gene (*ZmPP2C*) in *Arabidopsis thaliana* decreases tolerance to salt and drought[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(5):531-542.
- [55] Huai J L, Wang M, Wang G Y, et al. Cloning and characterization of the *SnRK2* gene family from *Zea mays* [J]. *Plant Cell Rep*, 2008,

- 27(12):1861-1868.
- [56] Wang J X, Ding H D, Jiang M Y, et al. A novel mitogen-activated protein kinase gene in maize (*Zea mays*), *ZmMPK3*, is involved in response to diverse environmental cues[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2010,52(5):442-452.
- [57] Ji W, Zhu Y M, Li Y, et al. Over-expression of a glutathione S-transferase gene, *GsGST*, from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco[J]. Biotechnol Lett, 2010,32(8):1173-1179.
- [58] Zhang L, Xi D M, Li S W, et al. A cotton group C MAP kinase gene, *GhMPK2*, positively regulates salt and drought tolerance in tobacco[J]. Plant Mol Biol, 2011,77(2):17-31.
- [59] Shi J, Zhang L, An H L, et al. *GhMPK16*, a novel stress-responsive group *D*MAPK gene from cotton, is involved in disease resistance and drought sensitivity[J]. BMC Molecular Biology, 2011,12(22):22-28.
- [60] Bello B, Zhang X Y, Li F G, et al. Cloning of gossypium hirsutum sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2 Gene (*GhSnRK2*) and its overexpression in transgenic *Arabidopsis* escalates drought and low temperature tolerance[J]. PLoS ONE, 2014,9(11):e112269.
- [61] 毛娟,白江平,张俊莲,等.水分胁迫下马铃薯 *SnRK2* 基因的表达模式与生理响应[J].中国沙漠,2014,34(2):481-487.
- [62] Yang S J, Barbara, Huang Y F, et al. Narrowing down the targets: towards successful genetic engineering of drought-tolerant crops[J]. Molecular Plant,2010,3(2):469-490.
- [63] 唐益苗,赵昌平,高世庆,等.植物抗旱相关基因研究进展[J].麦类作物学报,2009,29(1):166-173.
- [64] Dai X Y, Xu Y Y, Chong K, et al. Overexpression of an *R1R2R3* MYB gene, *OsMYB3R-2*, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2007,143(2):1739-1751.
- [65] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F, et al. *Arabidopsis thaliana* CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis acting temperature: differences and cross talk between two stress signaling pathways[J]. Current Opinion Plant Biology,3(3):217-223.
- [66] 李 岢,周春江.植物 WRKY 转录因子的研究进展[J].植物生理学报,2014,50(9):1329-1335.
- [67] Luo X, Bai X, Hu M, et al. Expression of wild soybean WRKY20 in *Arabidopsis* enhances drought tolerance and regulates ABA signaling[J]. J Exp Bot, 2013,64(8):2155-2169.
- [68] Okay S, Derelli E, Unver T, et al. Transcriptome-wide identification of bread wheat WRKY transcription factors in response to drought stress[J]. Molecular genetics and genomics, 2014,5(289):765-781.
- [69] Ying H, Zhang D F, Li Y, et al. Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, *ZmbZIP72*, confers drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. Planta, 2012,235(2):253-266.
- [70] Lu G J, Gao C X, Han B, et al. Identification of *OsbZIP72* as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice[J]. Planta, 2009,229(3):605-615.
- [71] Gao S Q, Chen M, Ma Y Z, et al. The soybean *GmbZIP1* transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants[J]. PlantMolBiol, 2011,75(6):537-553.
- [72] 孙利军,李大勇,宋凤鸣,等.NAC 转录因子在植物抗病和抗非生物胁迫反应中的作用[J].遗传,2012,34(8):993-1002.
- [73] Zheng X N, Chen B, Han B, et al. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009,379(4):985-989.
- [74] Gyongyi Szekely, Edit Abraham, Agnes Cseplo, et al. Duplicated *P5CS* genes of arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis[J]. The Plant Journal, 2008,53(1):11-28.
- [75] Wang T Z, Zhang J L, Zhang W H, et al. A medicago truncatula EF-hand family gene, *MtCaMPI*, is involved in drought and salt stress tolerance[J]. PLoS ONE, 2013,8(5):1-9.
- [76] 王兴宇,魏 峡,王伟威,等.转 *AtCBF4* 基因大豆株系的抗旱性评价[J].大豆科学,2014,33(3):365-370.
- [77] 何美敬,刘立峰,穆国俊,等.花生蔗糖合酶基因 *AhSuSy* 的克隆和干旱胁迫表达分析[J].作物学报,2012,38(12):2139-2146.
- [78] Luo D, Niu X, Yu J, et al. Rice choline monoxygenase(*OsCMO*) protein functions in enhancing glycine betaine biosynthesis in transgenic tobacco but does not accumulate in rice (*Oryza sativa* L. ssp. japonica)[J]. Plant Cell Rep, 2012,31(9):1625-1635.
- [79] Long L, Gao W, Zhu L F, et al. GbMPK3, a mitogen-activated protein kinase from cotton, enhances drought and oxidative stress tolerance in tobacco[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2014,116(2):153-162.
- [80] Huang J, Sun S J, Juan H, et al. Tang Increased tolerance of rice to cold, drought and oxidative stresses mediated by the overexpression of a gene that encodes the zinc finger protein ZFP245[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009,389(3):556-561.
- [81] Niu N N, Liang X Q, Yang X J, et al. EAT1 promotes tapetal cell death by regulating aspartic proteases during male reproductive development in rice[J]. Nat Commun,2012,4:1445.
- [82] Xiong L Z, Yang Y N. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase[J]. The Plant Cell, 2003,15(3):745-759.
- [83] Chen L J, Wu R Y, Zhang Y Q, et al. An s-domain receptor-like kinase, *OsSIK2*, confers abiotic stress tolerance and delays dark-induced leaf senescence in rice[J]. Plant Physiology, 2013,163(4):1752-1765.
- [84] Yang L, Wu K C, Wu Z J, et al. GsLRPK, a novel cold-activated leucine-rich repeat receptor-like protein kinase from *Glycine soja*, is a positive regulator to cold stress tolerance[J]. Plant Science, 2014,215/216:19-28.
- [85] Sun X, Ang S, Sun M, et al. A novel Glycine soja cysteine proteinase inhibitor GsCPI14, interacting with the calcium/calmodulin-binding receptor-like kinase GsCBRLK, regulated plant tolerance to alkali stress[J]. Plant Mol Biol, 2014,85(1/2):33-48.
- [86] Zou J J, Li X D, Wu W H, et al. *Arabidopsis* calcium-dependent-protein KINASE8 and CATALASE3 function in abscisic acid-mediated signaling and H_2O_2 homeostasis in stomatal guard cells under drought stress[J]. Plant Cell, 2015,27(3):1445-1460.

[6] 王寒冬,张 波,陈文杰,等.青海小麦品种的种子表型性状分析[J].麦类作物学报,2015,35(4):471-478.

[7] 翁 华,魏有海,郭良芝,等.青海省春麦田杂草种类组成及群落特征[J].作物杂志,2015,3:116-120.

[8] 李 玮.麦田除草剂药害诊断及对产量的影响研究[J].广东农业科学,2013,18:66-68.

[9] Gealy D R, Wailes E J, Estorminos Jr. L E, et al. Ricecultivar differences in suppression of barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*) and economics of reduced propanilrates[J]. Weed Science, 2013, (3):116-120.

[10] Schulz M, Marocco A, Tabaglio V, et al. Benzoxazinoids in rye allelopathy-from discovery to application in sustainable weed control and organic farming[J]. Journal of Chemical Ecology, 2013, 39: 154-174.

[11] He H B, Wang H B, Fang C X, et al. Separation of allelopathy from resource competition using rice barnyard grass mixed cultures[J]. Plosone, 2012, 7(5): 1061-1073.

[12] Olofsson M, Navarez D, Rebulanan M, et al. Weed-suppressing rice cultivars-does allelopathy play a role? [J]. Weed Research, 1999, 39:441-454.

[13] 李 贵,吴竞仑,王一专,等.不同水稻品种抑制杂草潜力的田间评价[J].中国农业科学,2010,43(5):965-971.

[14] Wu H, Haig T, Prafley J, et al. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): Variation of phenolic acids in shoot tissues[J]. Journal of Chemical Ecology, 2001, 27(1): 125-135.

[15] 张晓珂,梁文举,姜 勇.东北地区不同小麦品种对黑麦草的化感作用[J].应用生态学报,2006,17(7):1191-1195.

[16] 张 芳,慕小倩,戴 明.8个栽培小麦品种的化感差异及其对除草剂药效的影响[J].麦类作物学报,2009,29(2):324-329.

[17] 孙红艳,林瑞余,叶陈英,等.化感小麦种质资源的筛选与评价[J].中国生态农业学报,2008,16(4):894-899.

[18] 陈 珊,谢惠玲,李圆萍,等.低碳胁迫下小麦抑草作用的化感效应与资源竞争分析[J].中国生态农业学报,2014,22(9):1069-1073.

[19] 陶俊杰,李 玮,魏有海,等.青藏高原干旱地区8种主栽小麦品种对旱雀麦的化感作用评价[J].干旱地区农业研究,2015,33(1):258-261.

[20] 叶仁杰,李彩娟,陈艳玲,等.小麦化感作用及其在农业生产中的应用综述[J].安徽农学通报,2011,17(15):49-55.

[21] 农业部农药检定所.农药田间药效试验准则(二)[M].北京:中国标准出版社,2004.

[22] William son G, Richardson D. Bioassay for allelopathy: Measuring treatment response with independent controls[J]. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14: 181-188.

[23] 杜 强,贾丽燕.Sps统计分析及入门到精通[M].北京:人民邮电出版社,2011.

[24] Gianoli E, Niemeyer H M. Environmental effects on the accumulation of hydroxamic acids in wheat seedlings: The importance of plant growth rate[J]. Journal of Chemical Ecology, 1997, 23:543-551.

[25] 左胜鹏.不同基因型小麦化感作用研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2011.

[26] 张晓珂,姜 勇,梁文举,等.小麦化感作用研究进展[J].应用生态学报,2004,15(10):1967-1972.

[27] 李红琴,刘宝龙,刘登才,等.青海省审定小麦品种的农艺性状多样性分析[J].麦类作物学报,2011,31(6):1967-1972.

(上接第 257 页)

[87] Wei S, Hu W, Zhou S, et al. A rice calcium-dependent protein kinase OsCPK9 positively regulates drought stress tolerance and spikelet fertility[J]. BMC Plant Biol, 2014, 14(1):133-146.

[88] Shin D J, Moon S J, Kim B G, et al. Expression of StMYB1R-1, a novel potato single MYB-Like domain transcription factor increases drought tolerance[J]. Plant Physiology, 2011, 155(1):421-432.

[89] 贾小霞,恩 芳,胡新元,等.转录因子 *DREB1A* 基因和 *Bar* 基因双价植物表达载体的构建及对马铃薯遗传转化的研究[J].草业学报,2015,23(3):110-117.

[90] Movahedi S, SayedTabatabaei B E, Khaksar G, et al. Constitutive expression of *Arabidopsis DREB1B* in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance[J]. Biologia Plantarum, 2012, 56(1): 37-42.

[91] Xu Q F, He Q, Tian Z D, et al. Molecular characterization of StNAC2 in potato and its overexpression confers drought and salt tolerance[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(6):1841-1851.

[92] 李葵花,高玉亮,吴京姬,等.转 *P5CS* 基因马铃薯“东农 303”耐盐、抗旱性研究[J].江苏农业科学,2014,42(11):131-133.

[93] 张 宁,司怀军,王 帝,等.转甜菜碱醛脱氢酶基因马铃薯的抗旱耐盐性[J].作物学报,2006,35(6):1146-1150.

[94] Zhang N, Si H J, Wang D, et al. Enhanced drought and salinity tolerance in transgenic potato plants with a *BADH* gene from spinach[J]. Plant Biotechnology Reports, 2011, 5(1):71-77.

[95] Zhai H, Wang F, Liu Q, et al. A myo-inositol-1-phosphate synthase gene, *lbMIPSI*, enhances salt and drought tolerance and stem nematode resistance in transgenic sweet potato [J]. Plant Biotechnol, 2016, 14(2):592-602.

[96] 聂利珍,于肖夏,李国婧,等.拟南芥 *AtCDPK7I* 基因克隆与转化马铃薯的研究[J].西北植物学报,2015,35(3):447-450.