

干旱、盐、温度对植物体 NADP-苹果酸酶的影响与机理

刘增辉¹, 邵宏波^{1,2,*}, 初立业¹, 张正斌^{3,*}

(1. 青岛科技大学 生命科学研究所以, 青岛 266042; 2. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 烟台 264003;

3. 中国科学院 遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心, 石家庄 050021)

摘要: NADP-苹果酸酶是植物体代谢的重要酶之一, 参与了多个代谢过程, 在植物体内广泛存在, 与各种环境胁迫关系密切。目前, 胁迫条件下的植物体 NADP-苹果酸酶基因的表达情况以及酶活性的变化是关注的重点, 同时, NADP-苹果酸酶在抗胁迫方面的机理研究也在逐渐的展开。综述了干旱、盐、高温和低温胁迫条件下 NADP-苹果酸酶活性及该酶基因表达变化的特点, 揭示了其在对植物体抵御各种胁迫带来的危害时所发挥的作用以及作用机理。

关键词: NADP-苹果酸酶; 胁迫; 基因表达; 生理生态机理

The effect and the mechanism of drought, salt and temperature on NADP-malic enzymes in plants

LIU Zenghui¹, SHAO Hongbo^{1,2,*}, CHU Liye¹, ZHANG Zhengbin^{3,*}

1 Institute for Life Sciences, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266042, China

2 Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

3 Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050021, China

Abstract: NADP-malic enzyme (NADP-ME) is one of the most important enzymes in plants, which take part in many metabolisms. It is widely distributed in plants, and has close relation with vary stresses. The studies on NADP-ME in plants focus on the change of its gene expression and enzyme activity under stress for the being time. Meanwhile, the study of mechanism that NADP-ME plays role under stress is carrying out gradually. In this review, we survey the characteristics of the activity and genes expression of NADP-ME under drought, salt and temperature stress. We also discuss the roles played by NADP-ME when it resists to varying stresses, and the mechanisms how it performs.

Key Words: NADP-malic enzyme; stress; gene expression; ecophysiological mechanism

植物生长常受到环境的影响, 了解环境变化对植物生长特别是农作物生长的影响, 能够更好的指导植物培养以及农作物的种植。对植物生长影响的因子包括生物因子和非生物因子。其中, 由于气候的变化, 非生物因子对植物生长的影响越来越大, 因而关注其对植物生长的影响有着重大意义。现在很多国内外的研究都在专注于外部环境因子对植物的生长影响研究, 其中, NADP-苹果酸酶与外部环境的关系受到了很多研究人员的关注。对植物生长来说外部影响的非生物胁迫因子主要有干旱、盐和温度。

根据辅酶因子的不同, 苹果酸酶分为 NAD-苹果酸酶(NAD-Malic Enzyme; NAD-ME) 和 NADP-苹果酸酶(NADP-Malic Enzyme; NADP-ME), 它们在植物体内广泛存在, 主要存在于细胞质基质、线粒体、叶绿体中^[1,2]。NADP-ME 在金属离子 Mn^{2+} 或 Mg^{2+} 存在的情况下, 催化苹果酸氧化脱羧生成丙酮酸和 CO_2 , 同时将 $NADP^+$ 还原为 NADPH, (即: $L\text{-苹果酸} + NADP^+ \rightarrow \text{丙酮酸} + CO_2 + NADPH + H^+$), 是苹果酸代谢的关键酶之

基金项目: 中国科学院百人计划资助项目; 国家 863 计划资助项目(2006AA100201); 国家科技支撑计划资助项目(2006BAD29B02); 中国科学院院地合作项目; 中国科学院创新团队国际合作伙伴资助项目; 中国科学院青年科学家计划资助项目(2009Y2B211)

收稿日期: 2009-08-08; **修订日期:** 2009-11-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shaohongbochu@126.com; zzb@sjziam.ac.cn

—^[1]。由于苹果酸是代谢过程的中间产物之一,所以 NADP-苹果酸酶在植物的生长代谢及发育过程中扮演着重要角色,对保持植物细胞的渗透势,稳定细胞质的 pH 和保持植物根系的离子吸收平衡起重要作用,是生物体生命活动中重要的酶之一^[3-5]。根据其在植物体内发挥的功能不同主要分为光合型和非光合型。光合型 DANP-ME 主要存在于叶绿体中,主要功能是催化苹果酸生成 CO₂,并将其提供给核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)用于 CO₂的固定,该过程受到光的调节,因而与光合作用密切相关^[6]。其非光合型的功能还不被人们清楚,但是相对于光合型 NADP-ME,其具有更高的 *K_m* 值,低的专一性,更窄的适宜 pH 范围和更大的分子量^[7-8]。非光合型 NADP-ME 的基因表达也非常有特点,该基因是一个非组成型表达基因,特异的在各种器官、不同的生长发育阶段和不同的环境中表达^[4-5]。编码 NADP-ME 的基因并不是唯一的,而是由多个基因组成的基因家族所编码。在水稻中发现 4 个编码该酶的基因,他们的表达具有组织的特异性,由于 NADP-ME 广泛的存在于植物体组织中,所以其被认为与不同的环境胁迫密切相关^[8]。

1 干旱对苹果酸酶的影响

对植物生长来说,干旱是一个生长限制因子,干旱会促使植物体发生渗透胁迫、自由基积累、膜脂过氧化及硝酸积累等生理毒害作用,造成了代谢紊乱。对植物生长的影响主要表现在抑制叶片的伸展、引起气孔的关闭、减少 CO₂的摄入,增加叶肉细胞阻力和降低光合作用过程中相关酶的活性,最终影响 CO₂的固定还原和光合同化力的形成,破坏叶绿体的结构,降低叶绿素含量等,抑制植物的光合作用,使得叶片净光合速率降低^[9-10]。

NADP-ME 在生物体内催化苹果酸氧化脱羧生成丙酮酸和 CO₂,是光合作用过程中的重要酶之一。在干旱条件下,NADP-ME 扮演着抵御干旱的角色。由于干旱胁迫,叶片的气孔关闭,这会使得细胞内的苹果酸含量降低,同时 NADP-ME 的活性升高,¹⁴C 标记实验表明,部分苹果酸进入线粒体,发生脱羧反应,生成带标记的碳水化合物^[11-13]。反过来,Outlaw 和 Laporte 研究表明 NADP-ME 在控制气孔的关闭方面也可能扮演着重要角色,其主要通过降解苹果酸的方式在白天调节气孔的开与关^[13-14]。

在很多 C₃植物体内存在 C₄途径酶系统,在发生干旱时,C₄途径酶的活性升高,加强代谢,用于补偿干旱造成的 C₃途径代谢损失。研究表明在干旱胁迫时,一些植物的 C₃代谢途径受到抑制,同时 C₄代谢途径加强^[14]。魏爱丽等研究表明,小麦穗器官的 NADP-ME 的活性高于旗叶叶片,在轻度干旱时,虽然各器官的光合速率逐渐下降,但各器官的 NADP-ME 活性均明显升高。这表明,轻度干旱能够诱导 NADP-ME 基因的表达,以至 NADP-ME 的活性升高,抵御干旱^[15]。同时,在干旱时,小麦可通过提高 NADP-ME 的活性来部分补偿其它酶活性下降对光合作用带来的损失,这说明 NADP-ME 活性的增加是植物对干旱环境的一种生态适应性机制^[15-17]。

植物有多种耐旱机制,在干旱胁迫时,植物体从表型到单个细胞都会发生一系列的变化来抵御干旱胁迫带来的危害,NADP-ME 就是一种能帮助植物抵御干旱的酶。现在普遍认为胁迫信号刺激了植物体内的某一信号系统,通过信号转导的方式调动了植物的防御基因,从而导致这种蛋白基因的大量表达,抵御外来的影响^[18-19]。1992 年,Cushman 等报道了干旱能够诱导冰草 NADP-ME 的 mRNA 表达量的大量增加^[20]。胁迫信号传导的途径主要有 ABA 依赖型和非 ABA 依赖型。有研究表明,干旱胁迫时,植物的保卫细胞里 ABA 的浓度增加,同时 NADP-ME 浓度上升,苹果酸浓度下降^[21]。这说明 ABA 可能与 NADP-ME 基因表达的信号传导有关。NADP-ME 催化的反应主要起传递 CO₂的作用,主要发生在光合作用的暗反应(光合 II)过程中^[22]。干旱胁迫会造成光合作用的下降,气孔吸收 CO₂的能力减弱,为了维持暗反应的正常进行,植物体可能是通过提高 NADP-ME 的量,加强 CO₂的传递与固定,用于补偿胁迫造成的暗反应中 CO₂的不足。C₃植物受到干旱胁迫时 C₄酶系统活性的增强就是很好的说明^[15]。另外,NADP-ME 蛋白具有亲水性,干旱胁迫时,NADP-ME 等亲水性蛋白增加有助于提高细胞的渗透压,减少水分的散失,因而起到保护细胞的作用^[23-24]。

2 盐分对植物 NADP-苹果酸酶的影响

盐害是指土壤中盐分过多对植物生长所造成的危害,一般土壤含盐 0.2%—0.5% 就不利于植物生长^[25]。

盐分对植物个体发育的影响非常显著,总体特征是抑制非盐生植物组织和器官的生长和分化,使得植物更早的进入发育进程^[26]。

为了降低过盐对植物体的损害,盐信号能诱导植物体内一些防御基因的表达,产生特殊的蛋白以及酶来提高植物的耐盐性,如:SOD 和 POD 等^[26]。植物盐信号也能诱导 NADP-ME 基因的表达,使得 NADP-ME 的活性增加^[27]。付振燕等研究表明,小麦幼苗在 200mmol/L NaCl 的处理下,叶片的 NADP-ME 在处理 6h 后活性达到最大,是未处理的 2 倍,说明盐胁迫诱导了小麦叶片的 NADP-ME 基因的表达,活性升高^[28]。同时有研究表明,在盐的诱导下,CAM 植物中两种芦荟(*Aloe vera* L. 和 *Aloe saponarea* Haw)的 NADP-ME 的 mRNA 在 12 个 h 后表达量开始增加,其酶活性也在同步增加,一直到 72h 都是如此。这说明,在盐的处理下 NADP-ME 基因的表达和该蛋白酶的积累受到强烈的诱导^[29]。同时,Sun 等研究表明,盐信号诱导芦荟的 NADP-ME 基因表达,与其耐盐性关系密切^[27]。在盐胁迫下,一些兼性 CAM 植物,如冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*),能由 C₃代谢途径改为 CAM 代谢途径,同时 NDAP-ME 的活性提高 4—10 倍^[30-31]。由此可见,NADP-ME 是 CAM 代谢途径中的关键酶,它很可能在 CAM 植物(如芦荟等)以及兼性 CAM 植物抵御盐等各种胁迫中发挥重要作用。

在长期的进化过程中,植物自身形成了一些生理生化途径来抵御盐胁迫的危害,包括合成和积累有机物、提高液泡以及细胞膜的 Na⁺/K⁺ 泵和 H⁺-ATP 的活性,提高水通道蛋白基因的表达和改变代谢途径等(图 1)^[32-34]。在盐胁迫下,植物体的各种调控机制是协同的,从而能够维持植物的生命特征。目前对于盐胁迫诱导 NADP-ME 基因表达的机理研究还不多。盐胁迫下,Na⁺通过细胞膜进入细胞的具体机制还不是很清楚,它可能利用 K⁺ 离子通道或者是非选择性的离子通道进入。为了平衡进入的阳离子,细胞内会积累一些阴离子,主要是苹果酸盐和 Cl⁻^[17-18,34]。其中苹果酸主要存储在细胞的液泡中,由磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶在细胞质中催化合成。现在对于这些苹果酸盐的去处还不清楚,但是有一些研究表明,在此阶段,细胞中有促进其降解的 NADP-ME 合成,它很有可能参与苹果酸盐的代谢^[13,35]。

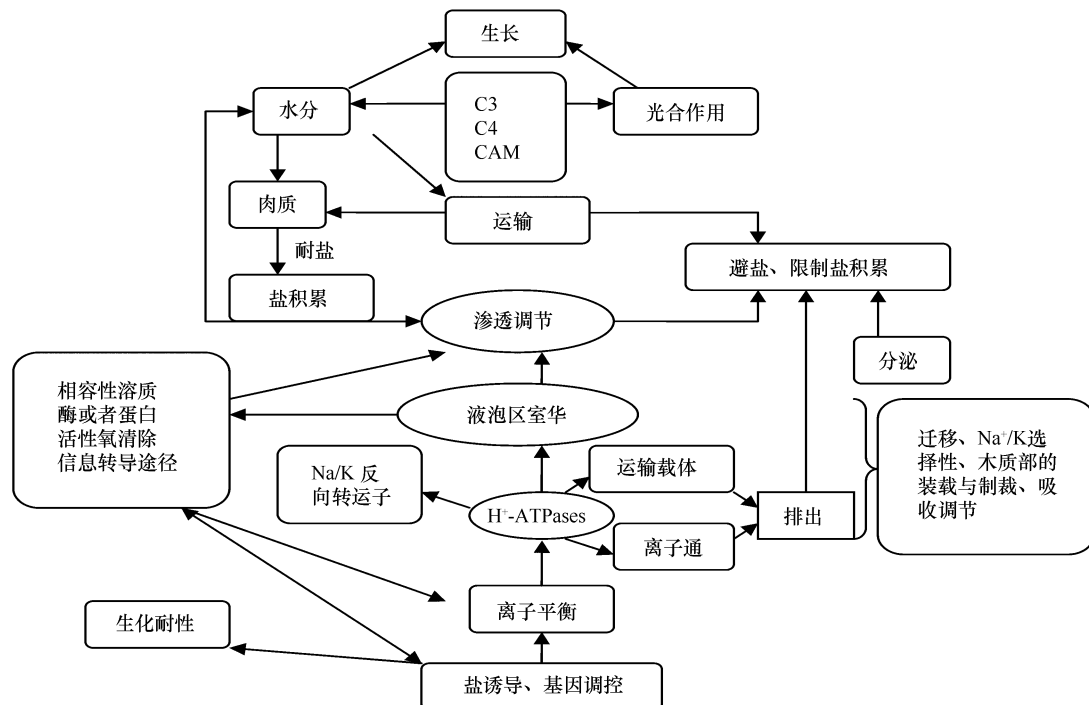


图 1 盐胁迫下与植物耐盐性相关的主要适盐途径^[32]

Fig. 1 The main adaptive strategies related to salt tolerance of plants under salt stress

3 温度对植物 NADP-苹果酸酶的影响

由于季节的变化,植物不得不经历温度变化的考验。尤其是农作物,温度过高或过低都会使其生长缓慢,严重的会影响农作物的产量。温度过高会使植物体的酶失活,从而破坏植物体的酶系统,同时也易造成植物失水。温度过低,使得植物根吸收活力下降,吸收减弱,同时也会使原生质流动性下降,酶活性下降和叶绿素分解,造成代谢失调^[36-37]。

在一定温度范围内的温差条件下,植物能够通过自身的调节去适应温度的变化。在 22—55℃ 范围内,CAM 植物瓦松、兼性 CAM 植物长药景天以及露花体内的 NADP-ME 活性随温度升高而一直升高,并且该酶在专一 CAM 植物瓦松体内的活性要明显高于其他两种植物^[38]。这表明 NADP-ME 是一种耐高温的酶,并且 CAM 植物更能耐高温,高温能够调节 NADP-ME 活性继而调节 CAM 活性^[38-39]。

低温对植物的危害更为广泛,主要分为冷害和冻害。冻害会对植物造成毁灭性的危害,以致死亡。而冷害主要是温度的降低造成生长缓慢,叶片变色,有时可能会出现色斑,但不会使植物体内的各种液体结冰,在一定条件下是可以恢复原状的^[37]。付振燕等研究表明,在 4℃ 处理下 24h,小麦叶片的 NADP-ME 活性逐渐升高,是开始时的 7 倍。这说明 NADP-ME 的活性受低温影响较大,至少在蛋白质水平上做出了响应。同时 RT-PCR 分析表明,在冷处理下,小麦 NADP-ME 基因 TaNADP-ME₁ 和基因 TaNADP-ME₂ 的表达都表现出先下降后上升的趋势^[28]。这表明,冷胁迫可能诱导 NADP-ME 基因的表达,可能与植物的御寒有密切关系。

当低温胁迫时,植物 CO₂ 的吸收会有所减少,光合作用也减弱,合成的苹果酸也减少,但是 NADP-ME 的量却在增加,这说明 NADP-ME 此时扮演的不只是催化代谢反应的角色,可能还有御寒的作用。低温时,细胞内的膜系统是最敏感的受害部位,其流动性和稳定性是细胞以及整个植物赖以生存的基础,细胞膜的相变温度越低,抗寒性越强^[40-41]。为了降低相变温度,提高抗寒性,低温胁迫信号会诱导一些基因的表达,从而产生一些蛋白来维持膜的流动性,使其不易发生相变^[40-44],NADP-ME 有可能就是这些蛋白中的一种。NADP-ME 主要的定位在细胞的膜上(包括细胞膜、线粒体膜、叶绿体膜以及类囊体)^[26,43-44],低温诱导 NADP-ME 基因的大量表达,产生的 NADP-ME 可能用来维持膜的流动性,从而保证代谢活动的正常进行。另外,NADP-ME 是一种亲水性蛋白^[26],在低温时,它的大量产生可以使更多的自由水变成束缚水,从而减少细胞内的水结冰,提高御寒能力,这也可能是 NADP-ME 发挥御寒作用的途径之一。

4 小结

植物抵御各种环境胁迫的各种机制是相互协同的,外在环境的改变使得植物逐渐具备了防范外来危害的能力。除了干旱、盐以及温度对植物生长影响外,还有很多外在因素^[45-46]。NADP-ME 是光合作用过程中的关键酶之一,与它联系密切的有很多物质,它的变化会引起其他物质含量的变化继而引起其他的抗胁迫应答。在干旱、盐和温度胁迫下 NADP-ME 的活性都表现出大的变化,这表明 NADP-ME 基因是非专一诱导基因,其与干旱、盐和温度胁迫的关系密切。

目前,对于 NADP-ME 在抗性方面的基因表达调控研究还不是很多,特别是在转基因研究中,缺少 NADP-ME 基因表达调控与转基因植物自身代谢系统之间联系的研究,这也使其应用的效果有限,特别是在作物育种方面。例如:现在作物育种的方向之一就是 C₄ 植物体内的 NADP-ME 基因转到低光合效率的作物中,提高其光合效率。在 C₄ 植物中,NADP-ME 大量的表达,其 NADP-ME 含量相对较高,使植物具有高的光合效率^[28,32]。实验表明,在转高粱 C₄ 型 NADP-ME 基因的水稻中,NADP-ME 的活性能提高 1—7 倍,但水稻 CO₂ 交换特征没有明显改变,不能明显提高水稻的光合效率,并使植株的叶片白化,生长迟缓,光抑制加强^[47]。并且有研究表明 C₄ 植物的 NADP-ME 基因在 C₃ 植物体内高水平的表达时可能会给正在生长发育的叶绿体带来危害,转 NADP-ME 基因的植物其光合生产量无实质性提高^[45,48-49]。造成这个现象的主要原因就是缺少对 NADP-ME 基因表达调控与转基因植物体代谢系统联系的了解。

References:

- [1] Edwards G E, Andreo C S. NADP-malic enzyme from plants. *Phytochemistry*, 1992,31: 1845-1857.

- [2] Cheng Y X, Liu S K. Prokaryotic Expression, Purification and Antibody Production of Rice (*Oryza sativa* L.) NADP-Malic Enzyme. *Plant Physiology Communications*, 2007, 43(5): 847-851.
- [3] Detarsio E, Wheeler M C, Bermudez V A, Andreo C S, Drincovich M F. Maize C₄ NADP-Malic Enzyme. *The Journal of Biochemistry*, 2003, 278(16): 13757-13764.
- [4] Martinoia E, Rentsch D. Malate compartmentation: responses to a complex metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1994, 45: 447-467.
- [5] Drincovich M F, Casati P, Andreo C S. NADP-malic enzyme from plants: a ubiquitous enzyme involved in different metabolic pathways. *FEBS letters*, 2001, 490: 1-6.
- [6] Edwards G E, Huber S C. The C₄ pathway// Hatch M D and Boardman N K eds. *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*. New York: Academic Press, 1981: 237-281.
- [7] Pupillo P, Bossi P. Two Forms of NADP-dependent Malic Enzyme in Expanding Maize Leaves. *Planta*, 1979, 144: 283-289.
- [8] Chi W, Yang J H, Zhang Q C, Wu N H. Different expression patterns of four NADP-malic enzyme genes in rice. *Progress in Natural Science*, 2004, 14(12): 1402-1410.
- [9] Sun M X, Zu C L, Xu J N. Progress in Plant under Drought Stress. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2004, 32(2): 365-367.
- [10] Wu Y M, Lu J Z, Wang S J, Li R Z. Research Progress on Eco-physiological Responses of Plants to Drought Conditions. *Rain Fed Crops*, 2008, 28(2): 90-93.
- [11] Schnabl H. Rapid gluconeogenesis in starch containing guard cell protoplasts// Spanswick R M, Lucas W J, Dainty J eds. *Plant Membrane Transport: Current Conceptual Issues*. Amsterdam: Elsevier, 1980: 455-456.
- [12] Schnabl H. CO₂ and malate metabolism in starch-containing and starchlacking guard cell protoplasts. *Planta*, 1980, 149: 52-58.
- [13] Outlaw W H, Manchester J, Brown P H. High Levels of Malic Enzyme Activities in *Vicia faba* L. Epidermal Tissue. *Plant Physiology*, 1981, 68(5): 1047-1051.
- [14] Laporte M M, Shen B, Tarczynski M C. Engineering for drought avoidance: expression of maize NADP-malic enzyme in tobacco results in altered stomatal function. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 369(53): 699-705.
- [15] Wei A L, Wang Z M, Zhai Z X, Gong Y S. Effect of Soil Drought on C₄ Photosynthesis Enzyme Activities of Flag Leaf and Ear in Wheat. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(5): 508-512.
- [16] Li W H, Hao N B, Ge Q Y, Zhang Q D. Advance in Study on C₄ Pathway in C₃ Plant. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 16(2): 97-106.
- [17] Shao H B, Chu L Y, Jaleel C A, Zhao C X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, 2008, 331(3): 215-225.
- [18] Shao H B, Chu L Y, Shao M A. Calcium as a versatile Plant Signal Transducer under Soil Water Stress. *BioEssays*, 2008, 30(7): 639-651.
- [19] Ni F T, Chu L Y, Shao H B, Liu Z H. Gene Expression and Regulation of Higher Plants Under Soil Water Stress. *Current Genomics*, 2009, 10: 269-280.
- [20] Cushman J C. Characterization and expression of a NADP-malic enzyme cDNA induced by salt stress from the facultative crassulacean acid metabolism plant, *Mesembryanthemum crystallinum*. *European Journal of Biochemistry*, 1992, 208: 259-266.
- [21] Schroeder J I, Kwak J M, Allen G J. Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature*, 2001, 410: 327-330.
- [22] Zhang S Q. Photosynthesis II: Photosynthetic carbon assimilation// Wu W H ed. *Plant Physiology*. Beijing: Science Press, 2003: 162-164.
- [23] Li Z H, Zhang L J, Cui Z H, Zhu Y S, Fan J J, Ruan Y Y, Wang C. Bioinformatical Analysis on C₄ NADP-ME from Maize. *Biotechnology Bulletin*, 2009, 3: 61-64.
- [24] Sun C X, Shen X Y, Liu Z G. Status and Advances in Studies on the Physiology and Biochemistry Mechanism of Crop Drought Resistance. *Rain Fed Crops*, 2002, 22(5): 285-288.
- [25] Jiang X M, Huan M R, Wang M X. A Review on Salt and Drought Resistance Gene Engineering in Plants. *Journal of Nanjing Forestry University*, 2001, 25(5): 57-62.
- [26] Liao Y, Peng Y G, Chen G Z. Research advances in plant salt tolerance mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(5): 2077-2089.
- [27] Sun S B, Shen Q R, Wan J M, Liu Z P. Induced Expression of the Gene for NADP-malic Enzyme in Leaves of *Aloe vera* L. under Salt Stress. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2003, 35(5): 423-429.
- [28] Fu Z Y, Zhang Z B, Liu Z H, Hu X J. Effects of PEG, NaCl, 4°C, ABA, SA and Dark Stresses on Hexaploid Wheat NADP-ME. *Plant Breeding*. (in submission).
- [29] Sun S B. Construction and screening of the cDNA subtractive library of *Aloe vera* L., and the induced expression of the gene for NADP-malic enzyme under salt stress. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003.
- [30] Holtum J A M, Winter K. Activity of enzymes of carbon metabolism during the induction of Crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Planta*, 1982, 155: 8-16.
- [31] Winter K, Foster J G, Edwards G E, Holtum J A M. Intracellular Localization of Enzymes of Carbon Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* Exhibiting C₃ Photosynthetic Characteristics or Performing Crassulacean Acid Metabolism. *Plant Physiology*, 1982, 69: 300-307.
- [32] Dajic Z. Salt Stress// Madhava Rao K. V, Raghavendra A. S, Janardhan Reddy K. eds. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Germany: Springer, 2006: 41-82.
- [33] Zhang Z B, Shao H B, Xu P, Hu M Y, Song W Y, Hu X J. Focus on Agricultural Biotechnology: Prospective for Bio-watersaving Theories and their Applications in the Semi-arid and Arid Areas. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8: 2779-2789.

- [34] Shao H B, Chu L Y, Jaleel C A, Manivannan P, Panneerselvam R, Shao M A. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants biotechnologically and sustainably improving agriculture and the eco-environment in arid regions of the globe. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2009, 29(2):131-151.
- [35] Zhang S Q, Liu X, Lou C H. Regulation of Carbon Metabolism in Guard Cells in the Stomatal Movement. *Chinese Bulletin of Botany*, 2000, 17(4):345-351.
- [36] Xu W H, Yan Q H. Advances in the research of cold resistance in sugarcane. *Sugarcane*, 2003, 10(3):8-12.
- [37] Xu Y, Xue L, Qu M. Physiological and Ecological Mechanisms of Plant Adaptation to Low Temperature. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(4):88-94.
- [38] Wang C, Su X J, Wu L Y. Environmental Modulation On NADP-Malic Enzyme in CAM Plant. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 1994, 14(5):47-50.
- [39] Lin H H, Du L F, Li X F, Jia Y J, Liang H G. The Relationship Between CAM Activity of *Orostachys Fimbriatus* and NADP-Malic Enzyme. *Journal of Sichuan University*, 1995, 32(6):743-745.
- [40] Gareth J. Warren Cold stress: Manipulating freezing tolerance in plants. *Current Biology*, 1998, 18(5):514-516.
- [41] Chinnusamy V, Zhu J H, Zhu J K. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126: 52-61.
- [42] Floris M, Mahgoub H, Lanet E, Robaglia C, Menand B. Post-transcriptional Regulation of Gene Expression in Plants during Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009, 10:3168-3185.
- [43] Wang T, Su Y J, Liu L S. Plant low-temperature-induced protein and regulation of the expression of low-temperature-induced gene. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1997, 15(1):80-90.
- [44] Ding G H, Qin Z W, Zhou X Y. Recent Advances in Studies on Cold-induced-proteins and Genes of Plant. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2003, 19(6):33-36.
- [45] Tsuchida H, Tamai T, Fukayama H, Agarie S. High Level Expression of C₄-Specific NADP-Malic Enzyme in Leaves and Impairment of Photoautotrophic Growth in a C₃ Plant, Rice. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42(2):138-145.
- [46] Shao H B, Chu L Y, Liu Z H, Kang C M. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. *International Journal of Biological Sciences*, 2008, 4(1):8-14.
- [47] Ling L L. Photosynthetic characteristic and physiological mechanism of C₄ photosynthetic gene transgenic rice. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [48] Chi W, Zhou J S, Zhang F, Wu N H. Photosynthetic features of transgenic rice expressing sorghum C₄ type NADP-ME. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(7): 873-882.
- [49] Luo Z X, Zhang S Z, Yang B P. Transformation of Genes of C₄ Photosynthetic Key Enzyme into C₃ Plants. *Plant Physiology Communications*, 2008, 44(2):187-193.

参考文献:

- [2] 程玉祥, 柳参奎. 水稻 NADP-苹果酸酶的原核表达、纯化和抗体制备. *植物生理学通讯*, 2007, 43(5):847-851.
- [8] 迟伟, 阳江华, 张青婵, 吴乃虎. 水稻的 4 个 NADP-ME 基因具有不同的表达模式. *自然科学进展*, 2004, 14(12):1402-1410.
- [9] 孙梅霞, 祖朝龙, 徐经年. 干旱对植物影响的研究进展. *安徽农业科学*, 2004, 32(2):365-367.
- [10] 吴永美, 吕炯章, 王书建, 李润植. 植物抗旱生理生态特性研究进展. *杂粮作物*, 2008, 28(2):90-93.
- [15] 魏爱丽, 王志敏, 翟志席, 龚元石. 土壤干旱对小麦旗叶和穗器官 C₄ 光合酶活性的影响. *中国农业科学*, 2003, 36(5):508-512.
- [16] 李卫华, 郝乃斌, 戈巧英, 张其德. C₃ 植物中 C₄ 途径的研究进展. *植物学通报*, 1999, 16(2):97-106.
- [22] 张蜀秋. 光合作用 II: 光合碳同化//武维华编. *植物生理学*. 北京: 科学出版社, 2003:162-164.
- [23] 李振华, 张立军, 崔震海, 朱延姝, 樊金娟, 阮燕晔, 汪澈. 玉米 C₄ 型 NADP-ME 的生物信息学分析. *生物技术通报*, 2009, 3:61-64.
- [24] 孙彩霞, 沈秀瑛, 刘志刚. 作物抗旱性生理生化机制的研究现状和进展. *杂粮作物*, 2002, 22(5):285-288.
- [25] 江香梅, 黄敏仁, 王明麻. 植物抗盐碱、耐干旱基因工程研究进展. *南京林业大学学报*, 2001, 25(5):57-62.
- [26] 廖岩, 彭友贵, 陈桂珠. 植物耐盐性机理研究进展. *生态学报*, 2007, 27(5):2077-2089.
- [29] 孙淑斌. 盐胁迫下库拉索芦荟 cDNA 消减文库的构建筛选及盐诱导的 NADP-苹果酸酶基因的盐诱导表达. 南京: 南京农业大学, 2003.
- [35] 张蜀秋, 刘新, 娄成后. 保卫细胞碳代谢与气孔运动. *植物学通报*, 2000, 17(4):345-351.
- [36] 许文花, 杨清辉. 甘蔗抗寒性研究进展. *甘蔗*, 2003, 10(3):8-12.
- [37] 徐燕, 薛立, 屈明. 植物抗寒性的生理生态学机制研究进展. *林业科学*, 2007, 43(4):88-94.
- [38] 王晨, 苏小记, 吴丽园. CAM 植物 NADP-苹果酸的环境调节. *西北植物学报*, 1994, 14(5):47-50.
- [39] 林宏辉, 杜林方, 李旭峰, 贾勇炯, 梁厚果. 瓦松的 CAM 活性与 NADP-苹果酸酶的关系. *四川大学学报*, 1995, 32(6):743-745.
- [43] 王艇, 苏应娟, 刘良式. 植物低温诱导蛋白和低温诱导基因的表达调控. *武汉植物学研究*, 1997, 15(1):80-90.
- [44] 丁国华, 秦智伟, 周秀艳. 植物低温诱导蛋白和诱导基因研究新进展. *中国农学通报*, 2003, 19(6):33-36.
- [47] 凌丽俐. 转 C₄ 光合酶基因水稻的光和特性及生理机制研究. 成都: 四川大学, 2007.
- [49] 罗遵喜, 张树珍, 杨本鹏. C₄ 光合关键酶基因转化 C₃ 植物. *植物生理学通讯*, 2008, 44(2):187-193.