

朱宝成 梁玉玲 李庆余 主编

植物细胞与基因工程 研究



中国科学技术出版社

植物细胞与基因工程研究

朱宝成 梁玉玲 李庆余 主编

中国科学技术出版社

北 京

图书在版编目(CIP)数据

植物细胞与基因工程研究/朱宝成,梁玉玲,李庆余主编. - 北京:中国科学技术出版社,2001.12

ISBN 7-5046-3220-1

I.植… II.①朱…②李…③梁… III.①植物-细胞工程-研究
②植物-基因-遗传工程-研究 IV.Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 093474 号

中国科学技术出版社出版

北京海淀区中关村南大街 16 号 邮政编码:100081

电话:62103204

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

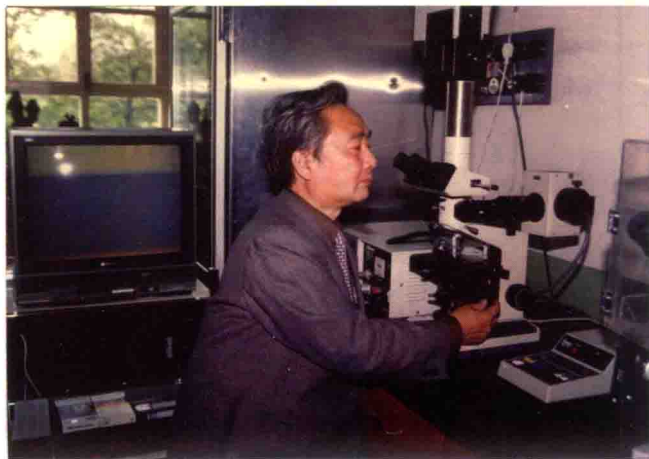
北京迪鑫印刷厂印刷

开本:787 毫米×1092 毫米 1/16 印张:21 字数:540 千字

2003 年 1 月第 1 版 2003 年 1 月第 1 次印刷

印数:1-300 册 定价:56.00 元

(凡购买本社的图书,如有缺页、倒页、
脱页者,本社发行部负责调换)



李庆余教授在研究室工作



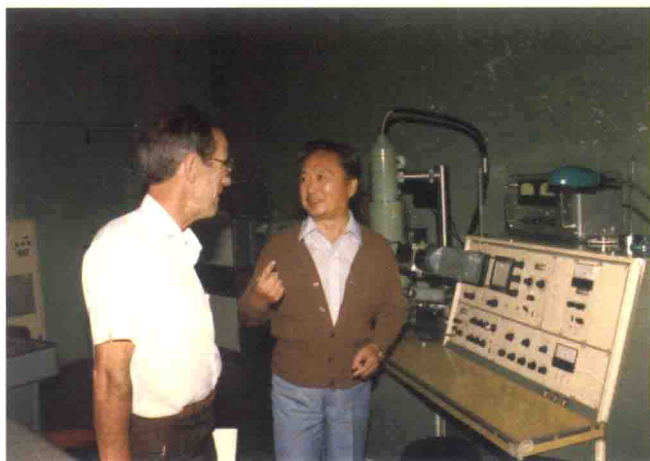
李庆余教授与来访的世界银行专家交谈



李庆余教授在美国访问



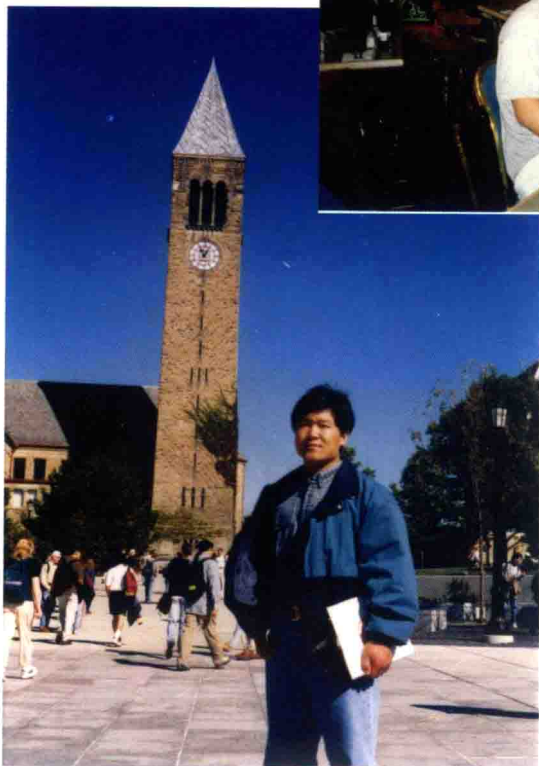
李庆余教授与来校讲学的美国专家



李庆余教授与来访的加拿大微生物专家



杨天波教授与来访的加拿大专家



朱宝成教授在美国 Cornell 大学



朱宝成博士与 Cornell 大学 Ray Wu 教授



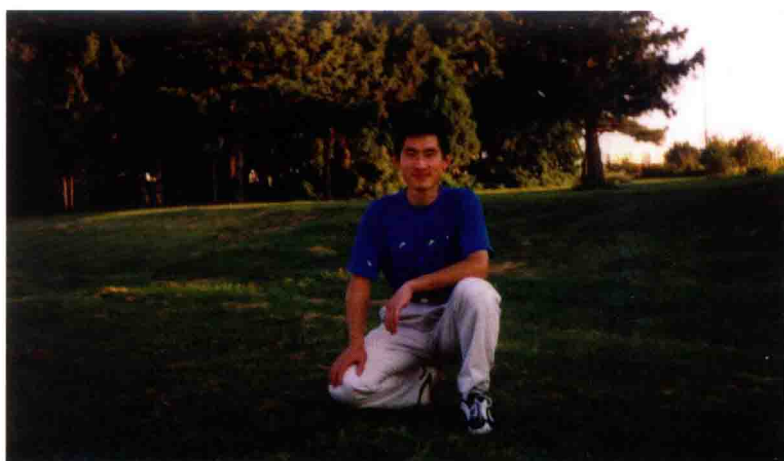
李潞滨博士在昆明世博会花卉研讨会上作大会报告



李潞滨博士在昆明世博园“人与自然”馆



成亚利博士在 Laval 大学园艺研究中心实验楼



李亮亮博士在 Laval 大学校园

谨以此书敬贺
恩师李庆余教授
70 华诞及执教 45 周年

学 生

朱宝成	李潞滨	梁玉玲
燕克勤	吴爱民	成亚利
朱靖杰	王新尚	韩继刚
王俊刚	李亮亮	曲占良

二〇〇一年十月

前 言

值此著名植物生理学家李庆余先生执教 45 周年暨七十华诞之际,由河北大学生命科学学院朱宝成博士主编的《植物细胞与基因工程研究》文集出版了。本书汇集了河北大学植物细胞工程研究室成立十几年来在各类刊物上发表的部分论文。它是该研究室十几年来科研历程的展示和记录,凝聚了以李庆余先生为代表的两代人的心血、智慧和辛劳,代表着我院在该领域的研究水平。在此书付梓出版之际,谨向李先生致以崇高的敬意和热烈的祝贺;向本书的全体编著者致以亲切的问候和热烈的祝贺!

李庆余先生长期执教于河北大学,担任原生物系主任达 12 年,对学院学科专业的发展建设做出了许多重要贡献。李先生曾在美国纽约 VASSAR 学院、纽约植物园及马萨诸塞州国家海洋生物研究所进行学术研究,在英国、加拿大等国家作访问学者。他长期致力于植物细胞工程、植物基因工程和微生物遗传育种研究,其学术水平和研究成果在国内同行享有很高的声誉。李先生在从事繁重的科研任务和行政工作的同时,坚持在教学第一线为本科生、研究生授课,20 世纪 80 年代初率先开设细胞工程课程,开阔了学生的视野,拓宽了年轻教师的科研思路,为一批优秀人才在国内外的成长与发展奠定了坚实的基础。他以自己高尚的品行、渊博的知识、严谨的科学精神、儒雅的仪表,以及对学生严师慈父般的深情,泽被莘莘学子,赢得了广大学生衷心的尊敬和爱戴。他从政、为师、治学都堪为楷模,必将对学院的良好教风、学风的树立发扬继续产生深远的影响。

李先生退休之后,仍然热情关注、全力支持植物细胞工程研究室的发展。他的学生朱宝成教授接过李先生点燃的这把薪火,主持该研究室的研究工作。研究室先后承担了国家“863”计划、国家转基因植物研究与产业化专项、河北省科技攻关计划、河北省自然科学基金等多项研究课题,并取得了一些标志性的成果,曾荣获河北省科技进步奖、河北省自然科学奖。在抗蚜虫转基因小麦、抗旱耐盐碱转基因水稻研究达到了国内外的先进水平。纵观该室十几年来的发展历程,我们有理由相信,并热切期望该研究室的老师们,为植物细胞工程、植物基因工程研究的发展进步做出更大的贡献,取得更大的成绩。

向李庆余先生致以崇高的敬意!

祝李庆余先生健康、长寿、愉快!

河北大学生命科学学院党委书记 佟贵银

河北大学生命科学学院副院长 朱宝成

2001 年 12 月

目 录

第一章 综 述

植物抗渗透胁迫基因工程.....	2
抗虫转基因水稻研究进展.....	7
植物转基因沉默	12
染色体原位杂交与分子标记在小麦基因定位中的应用	17
蜘蛛多肽毒素研究进展	23
植物抗真菌病害基因工程策略与研究进展	32
植物铁营养分子生物学研究现状	42
异源蛋白在丝状真菌中的表达及蛋白分解酶的控制	48
水体藻类污染生物防治新策略	53
兰科植物菌根	60
α -乙酰乳酸脱羧酶的研究与应用	67
微生物原生质体融合及遗传标记问题	73

第二章 植物细胞与组织培养

Desuppression of cell division in leaf primordia in <i>Plagiochila arctica</i> (Hepaticae) by 3,4-dehydropoline	78
药用作物掌叶半夏组织培养及药物成分分析	83
掌叶半夏细胞悬浮培养及单细胞培养再生植株	87
掌叶半夏悬浮培养下的体细胞胚胎发生的研究	91
掌叶半夏组织培养过程中的染色体变异	95
胀果甘草愈伤组织培养及甘草酸的产生	100
知母悬浮培养下的体细胞胚胎发生	105
沙打旺耐盐细胞系的筛选及特性分析	108
苜蓿培养细胞抗羟脯氨酸变异体的筛选和特性分析	114
甘薯块根愈伤组织的形成过程及淀粉动态	120
甘薯愈伤组织的诱导、生长调节及原生质体培养	123
草莓花药愈伤组织的形成及形态发生	126

第三章 植物转基因与分子生物学

Overexpression of a Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water - and salt - stress in transgenic rice	132
--	-----

Asymmetric Somatic Hybridization Between Common Wheat and Millet	140
Protoplast preparation and regeneration from spores of the biocontrol fungus <i>Pseudozyma flocculosa</i>	148
Establishment of a gene transfer system for <i>Pseudozyma flocculosa</i> , an antagonistic fungus of powdery mildew fungi	154
抗蚜虫转基因小麦与田间试验	164
海南捕鸟蛛毒素—I (HNTX-I) 的分离纯化及毒性试验	174
根癌农杆菌对黄瓜和朱顶红的转化	177
根癌农杆菌对月光花和稗草的遗传转化	180
Ti 质粒对甘薯叶片和愈伤组织的转化	184

第四章 植物抗病分子生物学

棉花黄萎病菌拮抗菌的筛选	190
棉花黄萎病拮抗菌产抗菌蛋白条件的研究	197
利用聚乙二醇纯化小球藻病毒 FJ-1	202
小球藻病毒 PBCV-1 颗粒的溶壁活性	205
小球藻病毒基因上游序列调控活性的研究	212
草莓灰霉病菌的培养、毒素提取及生物测定	217
草莓灰霉菌毒素的分离及硅胶薄层层析	222
草莓灰霉菌毒素的稳定性及致病力的研究	226
灰霉菌毒素对草莓愈伤组织细胞超微结构的影响	230

第五章 植物光形态建成

不同光质对黄瓜离体根形态建成的影响	234
光对尾穗苋幼苗内苋红素合成的诱导	238
蓝光诱导的苋红素合成——隐花色素的作用	244

第六章 微生物遗传育种

枯草芽孢杆菌 28kD 碱性蛋白酶的纯化与性质	250
紫孢侧耳与糙皮侧耳灭活原生质体融合研究	257
电击法介导的紫孢侧耳原生质体转化	261
紫孢侧耳、糙皮侧耳及其融合菌株的同工酶分析	266
原生质体诱变选育无孢平菇	269
荧光标记紫孢侧耳和糙皮侧耳原生质体融合研究	272
金针菇原生质体制备、再生及紫外线灭活研究	277
金针菇原生质体紫外诱变选育	282
金针菇原生质体外源 DNA 转化	286
金针菇的深层液体发酵及应用研究	290
维生素 B ₂ 产生菌原生质体诱变选育	295

红外紫外复合辐射对果胶酶产生菌原生质体诱变研究	298
果胶酶生产菌原生质体再生及诱变育种	303
紫孢侧耳的原生质体诱变育种	307
红外辐射对果胶酶产生菌及其突变株生长和产酶性能的影响	312
果胶酶产生菌白色孢子突变株的诱变选育	317
二氧化碳激光对果胶酶产生菌 Asp.3.396 发酵期产酶性能的影响	320
青霉素生产菌原生质体诱变选育	323

第一章

综 述

植物抗渗透胁迫基因工程

朱宝成 燕 飞 王建辉

河北大学生命科学学院 保定 071002

土壤干旱和盐渍是影响农业生产的重要因素,据统计,全世界的盐土约占陆地面积的三分之一,而且有逐年增加的趋势。另外,每年由于干旱将使全球粮食产量降低 10% ~ 20%。干旱和盐害不仅在发生上有联系,而且均导致土壤溶液水势下降使细胞失水,甚至死亡。干旱和盐渍合称渗透胁迫。

培育抗旱耐盐作物品种是利用旱地和盐碱地的一条经济有效的途径。生理学和细胞学的研究为抗逆基因的鉴定和克隆提供了基础资料,植物耐盐分子机制的研究和生物技术的发展使培育耐盐作物成为可能。近年来,植物抗渗透胁迫基因工程研究进展迅速,新的基因不断涌现,转基因植物对渗透胁迫的抵抗能力不断增强。

1 植物适应渗透胁迫的细胞机理

嗜盐细菌体内积累大量盐分,其细胞成分与非嗜菌有本质区别,尤其是蛋白质,需要高离子强度来维持其正常功能。盐生植物体内也积累大量盐分,但是它的酶和蛋白质合成机构和非盐生植物一样对盐敏感。细胞内离子浓度分析表明不论是碱蓬 (*Suaeda forsk*) 一类盐积累型植物 (Hajibagheri 等, 1989; Hu 等, 1990), 或是有专门泌盐表皮毛的滨藜 (*Atriplex undulata*) (Storey 等, 1983), 盐分主要集中于中央大液泡,细胞质离子浓度不高,而且大量积累甜菜碱一类有机渗透剂。这种细胞内分室性的渗透调节使细胞达到比外界更低的水势,保证维持细胞生长所需的膨压,同时避免细胞质受到盐的损伤。可见,不论是盐生或非盐生植物,离子细胞内分室性的渗透调节是植物抗旱耐盐的共同细胞机理。

2 植物抗渗透胁迫基因工程策略

当植物受到干旱和盐渍胁迫时,会发生 Na^+/H^+ 、 K^+ 运输的改变,细胞对水的透性增加,许多具有渗透保护作用的有机小分子物质如糖类、脯氨酸、甜菜碱的积累增加,脱落酸 (ABA) 浓度升高,蛋白质组成发生改变等一系列的生理生化反应 (Adam 等, 1992)。植物通过诱导相容性溶质的生物合成,调节离子的吸收和区隔化,便于水分摄入以维持渗透压的平衡。

2.1 诱导相容性溶质的生物合成

当植物受到渗透胁迫时,为了消除胁迫造成的不平衡,通常在细胞内积累渗透保护物质 (Osmoprotectant) 以降低细胞的渗透势。渗透保护物质一般分两类:一类是小分子有机化合物,如脯氨酸和甜菜碱等;另一类是蛋白质。由于它们不干扰细胞内正常的生化反应,因此,将它们统称为相容性溶质 (Compatible solute) (Tarczynski 等, 1993; Bohnert, 1995)。大部

分非盐生植物在渗透胁迫下不积累或积累少量的相容性溶质,因而不能抵抗渗透胁迫对生长的影响。由此,人们设想利用分子生物学方法,改变非盐生植物的代谢途径,诱导相容性溶质的生物合成,从而提高非盐生植物抗渗透胁迫的能力。

目前,利用基因工程技术,可以使转基因植物合成如下几种相容性溶质。

(1) 糖醇 (Sugar alcohols) 糖醇是一种多元醇,含有多个羟基,亲水能力强,能有效维持细胞内水活度。它在植物界普遍存在,能在细胞中积累。在正常生理生化代谢中,它们由光合作用或呼吸作用的中间产物转化而成。许多植物在渗透胁迫下,会合成并积累糖醇 (Dure 等, 1981)。研究发现,将来源于大肠杆菌的 1-磷酸甘露醇脱氢酶基因 (*MtlD*) 转入烟草,转基因植物通过合成和积累甘露醇,而表达出对 250 mmol/L (约 1.45%) NaCl 的抗性 (Tarzynski 等, 1992)。山梨醇、甘露醇等已糖分子结构、理化性质和生理功能相近,不同糖醇在转基因植物中积累,可能具有协同或累加效应。将双基因 *MtlD* 和 *GutD* (6-磷酸山梨醇脱氢酶基因) 转入烟草,可以使转基因植物在 2% NaCl 下正常生长 (Dure 等, 1981)。目前,利用基因工程手段使烟草等双子叶植物积累糖醇已获成功,但使单子叶植物积累糖醇尚未见报道。

(2) 甜菜碱 (Glycine-betanine) 多种高等植物在盐碱和缺水的环境下,在细胞中积累甘氨酸甜菜碱类物质,以维持细胞的正常膨压。甜菜碱起着无毒渗透保护剂的作用,它的积累使得许多代谢中的重要酶类在渗透胁迫下保持活性 (Hansom et al., 1994; Sentenac, 1992)。在植物中,甜菜碱由胆碱经两步氧化得到。两步反应发生在叶绿体基质中,催化第一步反应的酶是一类单氧化物酶,定名为胆碱单氧化物酶,催化第二步反应的是甜菜醛脱氢酶 (BADH)。如果能使那些在干旱、盐渍时不积累甜菜碱的植物发生甜菜碱累积,植物将可能获得较强的抗渗透胁迫的能力 (Saneoka 等, 1995; Ishitani 等, 1995)。

Saneoka 等在近等基因背景下,比较了甜菜碱合成型和缺陷型玉米的耐盐性。与缺陷型相比,甜菜碱合成型玉米在盐分 (125mM) 胁迫下,可以保持叶片水分,提高碳同化速率,维持生长。这表明,甜菜碱的产生和积累在渗透保护中起重要作用 (Saneoka H. et al., 1995)。Ishitani 等将来源于大麦的 BADH 基因转入烟草,在渗透胁迫下, BADH 量增加,酶活性也成倍增加。Northern 分析表明, BADH 的转录水平在叶和根中分别增加 8 倍和 2 倍 (Ishitani M et al., 1995)。

(3) 脯氨酸 (Proline) 脯氨酸是渗透胁迫下易积累的一种氨基酸,在有些盐生植物中其积累量可达植物干重的 10% ~ 20%。因此,增加非盐生植物细胞中脯氨酸的含量可能会提高其抗渗透胁迫的能力。将来自酵母的 *ProB* 基因转入烟草,转基因烟草的抗盐性鉴定初步表明,在含 NaCl 的培养基中,转基因植株的生长好于对照植株。但发现转基因烟草植株游离脯氨酸量并不总大于对照植株,特别是生长得越快的植株,其积累量越少。转基因植株的游离脯氨酸比对照低的原因可能是外源 *ProB* 整合到烟草自身脯氨酸合成有关的基因或附近,干扰了烟草自身脯氨酸合成基因的表达 (Yuan CX et al., 1993)。脯氨酸合成酶基因的表达及其抗盐机理有待今后进一步研究。

(4) 果聚糖 (Fructan) 果聚糖是一种聚果糖分子,广泛存在于植物和微生物中,大约有 4 万余种植物用它作为主要储藏碳源。在植物中,由蔗糖形成果聚糖至少包括两种酶,第一个酶催化 Glu-Fru-Fru 三糖分子的合成,三糖分子在另外一个酶的催化下以不同的方式不断延伸。不同结构的果聚糖的功能目前还不十分清楚。果聚糖的长度易受环境影响。许多植物在环境条件改变时,果聚糖的长度改变。由于果聚糖是可溶的,它可能帮助植物耐受由于干旱和低温引起的渗透胁迫。将来源于 *Bacillus Subtilis* 中的 *SacB* 基因 (编码果聚糖-蔗糖酶) 转入烟草,转基因植物积累果聚糖。在 PEG 介导的干旱胁迫下,合成果聚糖的烟草比

野生型烟草表现得好, 生长速率、鲜重和干重均比对照高。在没有干旱胁迫时, 果聚糖的合成对生长速率和产量无影响。因此, 认为使不能合成果聚糖的植物合成果聚糖将会提高其抵抗干旱的能力 (Pioln - Smits EAH et al., 1995)。

(5) 海藻糖 (Trehalose) 海藻糖是由两个葡萄糖分子通过半缩醛羟基缩合而成, 由于不存在游离的醛基, 故为一种非还原性双糖。海藻糖是广泛存在于生物界包括植物、动物和微生物中的双糖。海藻糖具有保护生物活力的特殊功能, 使动物、植物和微生物等在许多异常情况下, 如高温、脱水和冷冻时仍保持细胞内湿润, 避免细胞内水分的损失。海藻糖不仅具有在脱水干燥条件下保护生命物质的功能, 而且在冷冻条件下亦有类似的功能。海藻糖在大肠杆菌中合成需要两个酶, 6-磷酸海藻糖合成酶和 6-磷酸海藻糖磷酸化酶。将合成海藻糖的酶的基因转入植物, 期望通过使植物积累海藻糖来提高转基因植物的耐旱、耐盐能力 (Fillati J et al., 1994)。

(6) 胚胎发生晚期丰富蛋白 (Late embryosis abundant protein, LEA) 植物受到渗透胁迫时, 其体内会发生一系列生理性变化, 诱导有关基因的表达, 导致在植物组织中积累新的蛋白质。

LEA 基因是第一个鉴定的在种子成熟阶段表达的基因, 这些基因也在因受到干旱、低温和盐渍等环境胁迫而脱水的营养组织中表达 (Dure et al., 1981)。大多数 LEA 蛋白主要由碱性的亲水氨基酸组成, 没有半胱氨酸和色氨酸, 且定位于细胞质中。不同来源、不同大小的 LEA 蛋白都存在保守的结构域, 起干燥保护功能。其中 11 个氨基酸的重复顺序可形成亲水的 α -螺旋, 其疏水面有利于形成同二聚体, 而外表面的带电基团可中和因脱水而增加的离子。由 LEA 蛋白的结构, 人们推测 LEA 蛋白的功能是在种子成熟干燥过程或渗透胁迫条件下保护细胞免受低水势的伤害 (Baker et al., 1988; Dure et al., 1989, 1993)。

将来源于大麦的 LEA 基因 *HVA1*, 利用基因枪法转入水稻悬浮细胞, 获得了大量转基因植株。*HVA1* 基因在水稻 *Actin1* 启动子的驱动下在水稻根和叶片细胞中大量表达。第二代转基因植株明显表现出抵抗干旱和盐渍的能力。在胁迫下, 转基因植株仍能保持很高的生长速率, 推迟表现受胁迫的症状。并且, 在去掉胁迫后, 能迅速恢复生长。转基因植株抵抗胁迫能力与 LEA 的积累量呈正相关 (Xu D et al., 1996) 这项研究直接证明了 LEA 在渗透胁迫下具有保护功能的假设。因此, 可以通过使转基因植物积累 LEA 来提高非盐生植物的抗盐性。

2.2 调节离子的吸收和区隔化 (Regulated iron uptake and compartmentation)

植物体内盐分过多直接影响细胞的质膜。质膜在受到盐胁迫的影响后发生一系列的变化, 如它的组分、透性、运输、离子流率都会受到影响而发生变化, 使膜的正常功能受到损害, 会进一步影响细胞的代谢作用, 生理功能受到不同程度的破坏 (Bohnert HJ, 1995)。许多耐盐植物是通过调节离子的吸收和区隔化来抵抗或减轻盐胁迫的。

植物在受到盐胁迫时, 往往把盐从细胞质和细胞器中清除出去, 使其集中于液泡中, 这种现象称为盐的区隔化 (Compartmentation)。在高浓度氯化钠条件下, 生长多代而适应了烟草悬浮细胞液泡中, 积累的氯化钠浓度却仍保持在 100mM。区隔化作用, 一方面使渗透压保持一定梯度, 让水分进入细胞; 另一方面维持细胞质中正常的盐浓度, 避免高浓度盐对质膜的伤害, 保持生物酶的活性, 维持细胞内的离子平衡。区隔化作用在耐盐植物和非耐盐植物中都存在, 看起来是植物普遍具有的一种能力 (Bohnert HJ, 1995)。

盐的区隔化作用是由位于膜上的 Na^+/H^+ antiporter 来完成的 (Jia I, 1992; Barkla BJ et al., 1995)。这种运输系统需要 ATP 酶, ATP 水解产生能量将 H^+ 泵到液泡膜外, 造成质子电化学梯度, 驱动钠离子的跨膜运输, 从而实现盐的区隔化 (Niu X et al., 1993)。在盐胁迫下, 冰叶午时花 (Ice plant) 中 $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 酶活性增加一倍, Na^+/H^+ antiportor 的量增加, 过

多的盐分被区隔到液泡中 (Bohnert HJ, 1995; Barkla BJ et al., 1995)。目前, 从冰叶午时花 cDNA 文库中分离 Na^+/H^+ antiporter 的基因转入非盐生植物中, 并使其在根部特异表达, 对于提高植物的抗盐能力和研究渗透胁迫下 pH 调控将具有十分重大的意义。

2.3 调控水通道 (Regulated water channel)

渗透胁迫下的水分供应, 对于细胞保持膨胀, 进行正常代谢活动是非常重要的 (Whelen R et al., 1995)。在水分胁迫下, 冰叶午时花细胞内主要内在蛋白 (MIP) 量增加 (Yamada S et al., 1995), 这种蛋白与已知的动物或植物中的水通道蛋白具有很高的同源性。水通道蛋白可以形成选择性的水运输通道, 允许水自由出入, 而将离子或其他有机物拒之门外。目前, 已从冰叶午时花中分离到编码水通道蛋白基因 MIP。在盐胁迫下, MIP 基因的转录水平大大提高 (Yamada S et al., 1995)。

在盐胁迫下, 提高水通道基因的表达量, 提高细胞膜的透水性, 便于水分摄入, 在没有蒸腾作用下, 将水分迅速吸收到根中, 并长距离运输到地上组织和器官, 将是抗渗透胁迫基因工程的一条新路。

3 展望

目前, 植物抗渗透胁迫基因工程已取得可喜进展, 但仍存在一些难题和缺陷有待解决。

3.1 植物抗渗透胁迫分子机理

研究植物抗渗透胁迫的分子机理, 是利用基因工程创造高度耐盐植物的基础。对于植物如何感受、传递胁迫信息, 如何诱导、调控基因表达, 如何将体内过多的盐分排出体外, 如何保持离子平衡和调控 pH 值等问题要深入研究。另外, 虽然已获得一些抗渗透胁迫的转基因植物, 但是对于这些基因的产物如何参与渗透调节, 如何与植物本身的抗渗透胁迫机制相互作用等问题还不十分清楚。利用分子生物学手段, 可进一步研究植物对渗透反应的分子机理, 并利用已获得的与抗性有关的基因, 通过不同的植物来观察对胁迫反应的影响, 从而为提高作物抗逆性的生物工程提供可靠的理论依据和实验基础。

3.2 从植物中分离抗性基因

植物的基因组非常大, 估计基因总数高达 5×10^8 以上, 在遗传背景不很清楚的情况下, 要从这样种类繁多的基因群体中分离出有益的基因不是一件容易的事。微生物的基因组很小, 基因数目也不多, 分离基因相对简单, 某些代谢途径与植物具有相似性。因此, 最初用于植物抗渗透胁迫基因工程的基因如 *MilD* 和 *ProB* 均来自微生物。至今通过转移单一基因以提高作物抗性的例子非常有限, 因为植物对环境胁迫的反应涉及到一系列代谢过程的变化。RFLP 技术无疑为定位与植物抗逆性相关的基因提供了一个十分有用的工具。另外, 许多抗性基因均受胁迫诱导, 因此, 急需建立植物胁迫下的 cDNA 文库, 以利用差示扩增法 (Differential display) 找到胁迫诱导的 cDNA 片段, 并利用它作为探针, 从植物基因组文库中分离出目的基因 (Liang P et al., 1993)。

3.3 渗透胁迫诱导的组织特异性启动子

植物在渗透胁迫下, 光合作用速率下降, 呼吸作用增强, 表明植物对逆境的反应是一个耗能过程。目前, 利用基因工程手段诱导转基因植物合成的相容性溶质如糖醇和果聚糖等, 均由光合作用或呼吸作用的中间产物转化而成, 并且在植物全身和整个生命过程中均大量表达, 这必将消耗大量能量, 降低植物的产量。因此, 如何培养出抗逆性强的作物, 却又能维持相对高的产量, 是植物育种和生物工程学家面临的一个难题。植物主要通过根从土壤中吸