

脱水素研究进展

孙 歆, 雷 韬, 袁 澍, 林宏辉*

(四川大学生命科学学院, 成都 610064)

摘 要: 脱水素(dehydrin)是植物体内的一种 LEA 蛋白,能够在植物胚胎发育后期以及逆境下大量表达,广泛存在于植物界。它是具有高度热稳定性的亲水性蛋白,有三类非常保守的区域,即 K, Y 和 S 片段。依据这三类片段的组成情况,可将脱水素分为 5 个基本类别。脱水素可通过多种转运方式定位于植物细胞的不同部位,以行使其功能。其基因的表达存在依赖 ABA 和不依赖 ABA 两种途径,并且受到多种环境因素的影响,能稳定细胞膜和许多大分子的结构以避免脱水对细胞造成的伤害。近年来,脱水素的结构和组成、在细胞中的定位及转运、基因的表达与调控、功能与作用机理等方面的研究已取得了很大的进展。

关键词: 脱水素; 脱落酸(ABA); 水分胁迫

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2005)03-0299-06

Progress in Research of Dehydrins

SUN Xin, LEI Tao, YUAN Shu, LIN Hong-Hui*

(College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Dehydrins, which is known as a group of plant late embryogenesis abundant (LEA) proteins, usually accumulate in plant during late embryogenesis or under stresses which cause dehydration. They are hydrophilic proteins with high thermostability, characterized by three highly conserved domains, the K, Y, and S segments. According to the composition of the three conserved domains, there are five distinct types of dehydrins. Dehydrins can be translocated and present in different parts of plant cells. Their localization is related to the functions. Regulation of dehydrin gene expression occurs via ABA-dependent and ABA-independent pathways and is influenced by several environmental factors. They participate in the stabilization of cell membranes and many macromolecules against dehydration-induced injury. Researches in the structure, localization, transport, gene expression and regulation, as well as functions and mechanism of dehydrins have been made very great progress.

Key words: Dehydrin; Abscissic acid (ABA); Water stress

脱水素(dehydrin)最早发现于 20 世纪 80 年代^[1],它是植物中的一类胚胎发育后期丰富蛋白(late embryogenesis abundant proteins, LEA 蛋白),属于 LEA D-Ⅱ 家族,分子量从 9 到 200 kD 不等^[2]。研究表明,脱水素富含甘氨酸和赖氨酸,缺乏半胱氨酸和色氨酸,具有高度的亲水性。它是一种热稳定蛋白,在沸水中仍然能保持稳定^[3]。其氨基酸序列与其它已知的各种蛋白质均无明显的同源性^[2]。

它能够在植物胚胎发育后期以及处于干旱、低温、盐碱等逆境的植株中大量表达。脱水素在植物界广泛存在,人们已从豇豆种子、玉米种子及幼苗等材料中提取并纯化了脱水素;拟南芥脱水素中的 RAB18、LTI29、LTI30 和 COR47 以及小麦脱水素中的 WCOR410 等也已经通过重组大肠杆菌的方法得到^[3]。我们已从干旱胁迫的青稞幼苗中成功克隆了 4 个脱水素基因(孙歆等,未发表的结果)。脱水素被

收稿日期: 2004-12-06, 修回日期: 2005-03-04。

基金项目: 四川大学科技创新基金资助项目(2005CF12);成都市科技攻关项目。

作者简介: 孙歆(1980—),男,在读硕士生,从事植物抗逆生理研究。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: honghuilin@vip.sina.com, honghuilin@hotmail.com)。

认为在植物种子成熟以及抗逆生理过程中具有重要作用,所以近年来关于脱水素的研究发展很快,特别是逆境下脱水素对植物的保护作用引起了人们广泛的关注。

1 脱水素的结构及分类

脱水素的一个重要结构特征是它具有 3 类非常保守的区域:K、S 和 Y 片段^[4],其中 K 片段是所有脱水素都具有的。K 片段富含赖氨酸,通常位于 C 端,可具有 1 到 12 个重复,一般由 15 个氨基酸残基组成(EKKGIMDKIKEKLPG),其中也可能存在某些单核苷酸的置换或结构上的修饰^[4]。K 片段能形成双亲性的 α -螺旋^[5, 6],这是脱水素的重要功能结构。许多脱水素还含有由丝氨酸残基组成的 S 片段。有证据表明 S 片段的磷酸化可以使脱水素在信号肽的引导下进入细胞核^[7]。很多脱水素的 N 端还具有另一类保守区域:Y 片段。它的序列为(V/T)DEYGNP,与植物和细菌分子伴侣的核酸结合位点有同源性。除了以上 3 个保守区域外,脱水素还具有另外一些保守性稍差的区域,这些区域富含甘氨酸和极性氨基酸(特别是苏氨酸),称作 Φ 片段,它们通常分布于 K 片段之间^[4]。

依据 Close^[8]的分类方法,基于 3 种保守区域组成的不同,可将脱水素分为 5 种类型:Y_nSK₂、K_n、SK_n、K_nS 和 Y₂K_n(见表 1)。Y_nSK₂ 型脱水素是最丰富的一类,含有 1 到 3 个 Y 片段、1 个 S 片段和 2 个 K 片段,是一类碱性或中性蛋白质,能被干旱或脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导,但不被低温诱导。K_n型脱水素含有 2 到 9 个 K 片段,而不含有 Y 片段和 S 片段,是一类酸性或中性蛋白质,能被低温、干旱和 ABA 诱导,并且被低温诱导的能力要强于干旱和 ABA。SK_n型脱水素含有 1 个 S 片段和 2 到 3 个 K 片段,是一类酸性蛋白质,它们优先被低温诱导。K_nS 型脱水素的 K 片段与其它类脱水素有所不同,起始序列为(H/Q)KEG(其它类的起始序列为EKKG),它们能被低温和干旱诱导。Y₂K_n型脱水素含有 2 个 Y 片段和 1 到 2 个 K 片段,是一类酸性蛋白质。此外,还有一些脱水素很难被分到确定的类别,如繁缕叶片中的 H26 就具有 SK₃S 的结构,可能是介于 SK_n 和 K_nS 型之间的中间类型^[8]。

通过基于结构组成的分类可以看出,脱水素的结构与其性质之间存在紧密的联系^[3]。总的来说,碱性脱水素能被干旱或 ABA 诱导,不被低温诱导;而酸性脱水素优先被低温诱导(见表 1)。

表 1 5 类脱水素及其性质
Table 1 Five types of dehydrins and their properties

脱水素类型 Types of dehydrins	酸碱性 Acid/alkaline	诱导因素 Inducing factors	举例 Examples
Y _n SK ₂	碱性、中性	干旱、ABA	大麦 DHN1-4, DHN6, DHN9
K _n	酸性、中性	被低温诱导的能力强于干旱和 ABA	大麦 DHN5、小麦 WCS120 蛋白质家族
SK _n	酸性	优先被低温诱导,干旱和 ABA 下有少量表达	大麦 DHN8、小麦 WCOR410
K _n S	酸性	低温、干旱	水稻 WSI724、苜蓿 CAS15
Y ₂ K _n	酸性	低温	豇豆 DHN1

2 脱水素的亚细胞定位及在细胞中的转运

脱水素一般存在于细胞核和细胞质中,它的分布与其自身性质以及细胞的种类有关^[2, 3]。在细胞核内脱水素可存在于常染色质、异染色质、核膜和核仁中;而在细胞核外,它主要存在于细胞质基质中,少量也存在于细胞器中^[9]。用 0.1 mmol/L ABA 处理过的成熟玉米种子中,脱水素主要定位于糊粉层细胞、盾片薄壁细胞、盾片表皮细胞、维管束原细胞和胚芽细胞的细胞质和细胞核中,而在胚芽和胚根的顶端分生组织中脱水素则只存在于细胞质中^[10]。ABA 诱导的水稻叶片脱水素 RAB21^[1]、冷驯化菠菜叶片及下胚轴中的脱水素 CAP85^[11]基本只出现在细胞质中,而玉米胚组织中的脱水素 RAB17 在

细胞质和细胞核中都存在^[12]。免疫电镜研究表明,番茄的脱水素 TAS14 分布在核内的量是核外的两倍,在核内它主要分布于常染色质及异染色质的外周区域,而在核外它不附着于细胞壁和任何细胞器而只分布于胞浆中^[13]。另外,还有一些脱水素不定位于细胞内,比如冷诱导的小麦脱水素 WCS410,它是一种外周蛋白,定位于细胞膜外表面和细胞外空间^[14]。

脱水素在细胞内的转运也是人们关注的问题。研究表明,脱水素向细胞核内的转运过程与它的 S 片段有关。玉米脱水素 RAB17 中有一个氨基酸片段,包含了 S 片段(临近于蛋白激酶 CK2 识别位点)和类似于 NLS(核酸定位信号)的序列。在这个片段中,NLS 区域中 2 个氨基酸残基的突变就能削弱

RAB17 到细胞核的转移,而蛋白激酶 CK2 结合位点中 3 个氨基酸残基的突变就能完全抑制 RAB17 的磷酸化及向细胞核的转运。这说明脱水素向细胞核的转运需要 S 片段中丝氨酸的磷酸化以及 NLS 序列的参与^[7]。Alsheikh 等^[15]指出 S 片段的磷酸化可能与某些激酶或磷酸酶有关。对于缺乏 S 片段和信号序列的脱水素(如小麦 WCS120 家族)而言,向细胞核的转运可能是通过蛋白质之间的相互作用实现的^[16]。另外,Danyluk 等^[14]发现定位于细胞膜外表面和细胞外空间的小麦脱水素 WCS410 含有大量的酸性和羟基类氨基酸,这可能与它的转运和定位有关。近几年,植物细胞器中也发现了脱水素^[17],但它向细胞器内的转运机制还不清楚,是否像转运到细胞核内相似也与 S 片段有关还有待证明。

3 脱水素基因的表达与调控

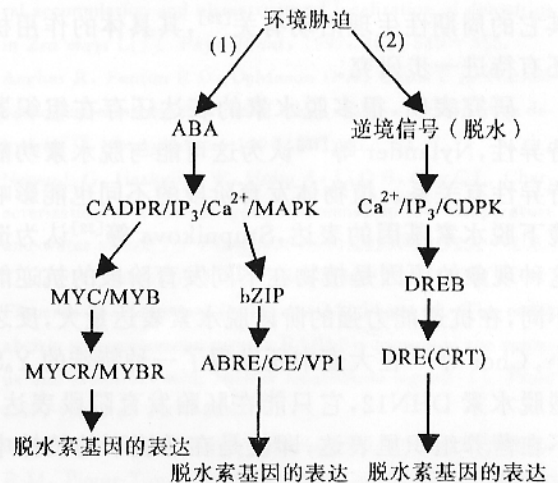
脱水素基因能在植物胚胎发育后期及处于干旱、低温、盐碱等逆境的植株中大量表达,并且其在逆境下表达的强弱与植物抗逆能力的大小有密切联系,通常在抗性植株中的表达量要高于对逆境敏感的植株^[3]。也有报道表明,在未受胁迫的植株中也有脱水素的表达,如拟南芥中的 ERD14^[18]和豌豆中的 B61^[19],这两种脱水素都属于 SK₂ 类型,并且 42% 的氨基酸具有同源性。Nylander 等^[18]认为,脱水素的这种组成性表达可能对正常生长条件下的植株起到了一种基本保护作用,也可能是在胁迫应答之前对植物体提供了一种早期保护。

在植物体内,逆境往往导致 ABA 的积累,所以 ABA 被认为在诱导脱水素基因表达的过程中有重要作用。并且外源 ABA 处理同样能够诱导多种脱水素基因的表达^[20, 21],所以脱水素被认为是一类 ABA 响应蛋白(RAB)^[4, 8]。然而,也有证据表明脱水素基因的表达可以不被 ABA 诱导。例如,在干旱条件下,ABA 缺陷型的向日葵突变株 *nd-1* (逆境下没有或只有很少 ABA 积累)和 *w-1* (逆境下的 ABA 积累量小于野生型)幼苗中脱水素 *HaDhn1a* 基因转录物的积累和野生型植株没有明显区别^[22]。这说明脱水素基因的表达存在依赖 ABA 和不依赖 ABA 两种途径(见图 1)。

在植物体内,ABA 能触发第二信使传递系统(cADPR/IP₃/Ca²⁺/MAPK 磷酸化及去磷酸化反应),激活 bZIP 转录因子。对于依赖 ABA 的脱水素基因,bZIP 转录因子能够与其启动子中的 ABA 响应元件(ABRE)结合,在另外一些转录因子(如

VP1)的协同作用下,启动脱水素基因的表达^[23]。在这条途径中,需要多拷贝的 ABRE 才能对 ABA 产生应答^[23]。此外,ABRE 偶联元件(CE)在对 ABA 的响应中也是必不可少的,它能与 ABRE 形成 ABA 应答复合体^[24]。另外,ABA 触发的第二信使传递系统还能激活 MYC 和 MYB 转录因子。它们可以结合到脱水素基因启动子中相应的顺式作用元件 MYCR 和 MYBR 上,也能使脱水素基因对 ABA 产生应答^[3](见图 1)。

不依赖 ABA 的脱水素基因启动子中有一类特殊的调控元件,如脱水响应元件(DRE),也被称为 C 重复元件(CRT 元件)^[25]。这类元件在干旱、高盐和低温诱导基因的启动子中已有发现。逆境信号能直接触发第二信使传递系统(Ca²⁺/IP₃/CDPK 磷酸化及去磷酸化反应),激活特定的转录因子(DREB),DREB 再特异结合到脱水响应元件(DRE)上,从而启动脱水素基因的表达^[3](见图 1)。



(1) 依赖 ABA 的途径; (2) 不依赖 ABA 的途径
(1) ABA-dependent pathway; (2) ABA-independent pathway

图 1 脱水素基因表达的信号转导示意图

Fig. 1 Diagram of signaling pathway for the expression of dehydrins

就目前发现的脱水素基因而言,有的在单一环境下表达,有的能在多种环境下表达,这可能与基因上游调控元件的不同有关。Rouse 等^[26]把拟南芥脱水素基因 *Xero21lti30* 的不同启动区段分别与报告基因(GUS)相连接,发现 GUS 基因可分别在干旱、外源 ABA 和低温等条件下表达,说明 *Xero21lti30* 可被多种环境条件所诱导;另外,利用启动子缺失技术发现该基因具有多个顺式调控元件,也说明该基因受到多种环境信号的调控。

Parmentier-Line 等^[27]研究了脱水素基因表达

的转录后调控。他们发现蓝莓中有一种 30 kD 的脱水素,在低温下它的含量会持续增加,但相应的 mRNA 含量的变化与蛋白水平不一致,只有短暂增加,然后就持续下降。桃树的脱水素 PCA60 也存在同样的情况^[28]。我们的研究表明 mRNA 和蛋白质的含量受到其半衰期波动的显著影响^[29]。说明这一类脱水素的 mRNA 半衰期较短,蛋白质半衰期较长。Parmentier-Line 等^[27]认为这种现象可能是翻译效率提高或是蛋白质稳定性增强的结果。

某些脱水素基因的表达存在周期性波动。Cellier 等^[30]的研究表明,向日葵脱水素基因 *HaDhn1* 的表达存在昼夜波动,其转录物含量在每一天中午达到最大值。这种昼夜波动可能与一天中光线的周期性变化有关。Ohno 等^[31]发现小麦脱水素基因 *Wdhn13* 相应的转录物及蛋白质的表达都存在明显的光暗波动,进一步说明光线在某些脱水素的表达中起着一定的调控作用。脱水素基因表达的周期性波动可能与其基因启动子的特殊性质以及植物体内其它的周期性生理活动有关^[29],其具体的作用机理还有待进一步研究。

研究表明,很多脱水素的表达还存在组织器官特异性,Nylander 等^[18]认为这可能与脱水素功能的特异性有关系。植物体发育阶段的不同也能影响逆境下脱水素基因的表达,Stupnikova 等^[32]认为造成这种现象的原因是植物在不同发育阶段的抗逆能力不同,在抗逆能力强的阶段脱水素表达量大,反之则小。Choi 等^[33]在大麦中还发现了一种特殊的 Y₂SK₂ 型脱水素 DHN12,它只能在胚胎发育阶段表达,而不在营养组织里表达,即使是在逆境下的植株中也不表达。

由此可以看出,脱水素基因的表达受到诸多因素的影响,与植物所处的环境以及其自身的生理状况有密切的关系。在不同的条件下表达的脱水素行使各自特定的功能,减小逆境和脱水过程对植物组织的伤害。

4 脱水素的功能与作用机理

逆境往往造成植物细胞脱水,破坏膜脂双分子层表面的水合保护体系,造成膜脂双分子层间距的减小,引起膜融合以及膜结构的严重破坏。许多脱水素都能与细胞的膜结构相互作用,包括细胞质膜和细胞内膜,表明脱水素应该具有稳定膜结构的作用^[4,8],这种保护机制与脱水素的 K 片段有关。研究发现,K 片段形成的双亲性 α -螺旋使脱水素能参

与亲水和疏水的相互作用。由于脱水素具有高度的水合能力,它与膜脂结合能够阻止细胞内水分的过多流失,维持膜结构的水合保护体系,防止膜脂双分子层间距的减小,进而阻止膜融合以及生物膜结构的破坏^[3,14]。Koag 等^[34]发现玉米脱水素 DHN1 能与含有酸性磷脂的囊泡膜结合,DHN1 结合到囊泡膜上后其螺旋性将明显加强,表明 DHN1 在膜界面上发生了与功能相关的构象变化。这种变化可能与逆境下脱水素维持囊泡膜以及其它内膜结构的稳定性有关。脱水素还能对蛋白质起到保护。K 片段形成的双亲性 α -螺旋能使脱水素与部分变性蛋白质的疏水位点相结合,起到了类似于分子伴侣的作用,阻止蛋白质的进一步变性^[8]。实验证明白桦的脱水素能够在低温下维持 α 淀粉酶的催化活性^[35],柑橘的脱水素 CuCOR19 能在低温下维持过氧化氢酶和乳酸脱氢酶的活性^[36]。另外,脱水素的 Φ 片段含有大量的极性氨基酸残基,能够与极性小分子物质以及核基质和细胞质基质中的低分子量物质(糖类、氨基酸、水分子等)产生协同增效作用,增强脱水素对蛋白质的保护作用^[8]。

低温^[37]、干旱^[38]等逆境会破坏植物细胞自由基代谢的平衡,增加活性氧自由基的产生,进而引发或加剧膜脂的过氧化,造成细胞膜系统的损伤。有证据表明,脱水素能够清除植物细胞中的活性氧自由基。Hara 等^[39]发现柑橘脱水素 CuCOR19 具有清除羟基自由基和过氧自由基的功能。在低温下,含有 CuCOR19 的转基因烟草的电渗率和丙二醛含量比野生型烟草低^[40]。这说明 CuCOR19 是一种自由基清除蛋白,能减小活性氧自由基对细胞膜结构造成的伤害。

许多脱水素能够与金属离子结合,很可能具有解除过量盐离子毒性的作用^[3]。拟南芥脱水素 RAB18、LTI29、LTI30 和 COR47 能够与 Cu^{2+} 和 Ni^{2+} 相互作用,LTI30 还能与 Co^{2+} 和 Zn^{2+} 作用。但这些脱水素都不具有特殊的金属结合位点,它们与金属离子的结合可能与它们高含量的组氨酸有关^[3]。小麦脱水素 WCOR410 的氨基酸残基中至少有 43% 带有电荷,这使它能够与金属结合,从而减小了蛋白质沉降和盐分结晶的可能性^[14]。

脱水素还可能对细胞周期产生影响。Bracale 等^[41]发现在干旱条件下,豌豆幼苗根尖分生组织细胞大多数都停留在 G₂ 期。Asghar 等^[10]认为,脱水素能够稳定核膜的结构,这就阻止了核膜在细胞分裂时必须的降解过程,从而打断了细胞周期的正常

进行。

综上所述,脱水素在植物体内具有多种保护作用,主要表现为对生物膜和蛋白质结构的稳定作用,从而减小逆境和脱水过程对植物细胞的伤害。此外,脱水素还具有其它功能。例如,Wisniewski 等^[42]证实桃树的脱水素 PCA60 具有抗冻的作用。这种脱水素的双亲性 α -螺旋能与低温下细胞内形成的冰晶表面紧密结合,阻止冰晶的进一步扩大,防止由于水分凝固而对细胞造成的伤害。

5 展望

脱水素在植物中的作用已引起人们广泛的关注,对脱水素的研究也已经取得了很大进展。但有关它的作用机理、表达调控以及相关的信号转导过程仍然不是很清楚,进一步深入的研究非常必要。

关于脱水素的作用机理、基因表达的调控等方面的研究将为其在实际生产中的应用奠定坚实的理论基础。结合转基因技术,将脱水素应用于提高作物的抗逆能力,减小灾害对农业的影响等方面具有广阔的前景。已有报道证明,含有柑橘脱水素基因的转基因烟草植株抵抗低温的能力明显高于一般植株^[40]。

脱水素与各类活性物质特别是植物激素的相互作用也是值得研究的方面。脱落酸(ABA)能够诱导脱水素的表达,外源 ABA 能够有效地提高植物中脱水素的含量,但其它植物激素对脱水素表达影响的研究还很少。我们已经展开这方面的研究,以期能深入了解植物激素对脱水素表达的影响机制。有报道表明,除植物激素外,其它一些物质也能促进脱水素的表达^[43, 44],但是诱导机理不太清楚。深入研究各种物质诱导脱水素表达的机理以及相关的信号转导过程,对于在实际生产中使用高效的诱导剂促进脱水素的表达来提高作物抗逆性具有非常重要的意义。

目前,关于脱水素合成诱导的研究已经取得了很大进展,但是对于脱水素在植物体内降解过程的研究还很少。有研究表明,植物在逆境结束后的恢复期中,脱水素会逐渐减少甚至消失^[32]。深入研究脱水素的降解机制将有助于全面了解它在植物抗逆过程中的作用,具有十分重要的理论和应用价值。

参考文献:

[1] Mundy J, Chua N H. Absciscic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene[J]. *EMBO J*, 1988, 7: 2 279 - 2 286.

- [2] 翟大勇, 沈黎明. 脱水蛋白研究进展[J]. 生物化学与生物物理学进展, 1998, 25(2): 119 - 122.
- [3] Allagulova C R, Gimalov F R, Shakirova F M, Vakhitov V A. The plant dehydrins: structure and putative functions [J]. *Biochemistry*, 2003, 68: 945 - 951.
- [4] Close T J. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature[J]. *Physl Plant*, 1997, 100: 291 - 296.
- [5] Baker J, Steele C, Dure L III. Sequence and characterization of 6 LEA proteins and their genes from cotton[J]. *Plant Mol Biol*, 1988, 11: 277 - 291.
- [6] Ismail A, Hall A E, Close T J. Purification and partial characterization of a dehydrin involved in chilling tolerance during seedling emergence of cowpea[J]. *Plant Physl*, 1999, 120: 237 - 244.
- [7] Jensen A B, Goday A, Figueras M, Jessop A C, Pages M. Phosphorylation mediates the nuclear targeting of the maize RAB17 protein[J]. *Plant J*, 1998, 13: 691 - 697.
- [8] Close T J. Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins[J]. *Physl Plant*, 1996, 97: 795 - 803.
- [9] Egerton-Warburton L M, Balsamo R A, Close T J. Temporal accumulation and ultrastructural localization of dehydrins in *Zea mays* L[J]. *Physl Plant*, 1997, 101: 545 - 555.
- [10] Asghar R, Fenton R D, DeMason D A, Close T J. Nuclear and cytoplasmic localization of maize embryo and aleurone dehydrin[J]. *Protoplasma*, 1994, 177: 87 - 94.
- [11] Neven L G, Haskell D W, Hofig A, Li Q B, Guy C L. Characterization of a spinach gene responsive to low temperature and water stress[J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 21: 291 - 305.
- [12] Goday A, Jensen A B, Culianez-Macia F A, Alba M M, Figueras M, Serratos J, Torrent M, Pages M. The maize abscisic acid-responsive protein RAB17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 351 - 360.
- [13] Godoy J, Lunar R, Torres-Schumann S, Moreno J, Rodrigo R M, Pintor-Toro J A. Expression, tissue distribution and subcellular localization of dehydrin TAS14 in salt-stressed tomato plants[J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26: 1 921 - 1 934.
- [14] Danyluk J, Perron A, Houde M, Limin A, Fowler B, Benhamou N, Sarhan F. Accumulation of an acidic dehydrin in the vicinity of the plasma membrane during cold acclimation of wheat[J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 623 - 638.
- [15] Alsheikh M K, Heyen B J, Randall S K. Ion binding properties of the dehydrin ERD14 are dependent upon phosphorylation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 40 882 - 40 889.
- [16] Sarhan F, Ouellet F, Vazquez-Tello A. The wheat wcs120 gene family: a useful model to understand the molecular genetics of freezing tolerance in cereals[J]. *Physl Plant*, 1997, 101: 439 - 445.
- [17] Borovskii G B, Stupnikova I V, Antipina A I, Vladimirova S V, Voinikov V K. Accumulation of dehydrin-like protein in the mitochondria of cereals in response to cold, freezing, drought and ABA treatment[J]. *BMC Plant Biology*, 2002, 2: 5 - 11.

- [18] Nylander M, Svensson J, Palva E T, Welin B V. Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2001, **45**: 263–279.
- [19] Robertson M, Chandler P M. A dehydrin cognate protein from pea (*Pisum sativum* L.) with an atypical pattern of expression [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, **26**: 805–816.
- [20] Choi D-W, Zhu B, Close T J. Barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: sequences, allele types, chromosome assignments, and expression characteristics of 11 *Dhn* genes of cv. *Dicktoo* [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, **98**: 1 234–1 247.
- [21] Wang X-J, Loh C-S, Yeoh H-H, Sun W Q. Drying rate and dehydrin synthesis associated with abscisic acid-induced dehydration tolerance in *Spathoglottis plicata* orchidaceae protocorms [J]. *J Exp Bot*, 2002, **53**: 551–558.
- [22] Giordani T, Natali L, D'Ercole A, Pugliesi C, Fambrini M, Vernieri P, Vitagliano C, Cavallini A. Expression of dehydrin gene during embryo development and drought stress in ABA-deficient mutants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Plant Mol Biol*, 1999, **39**: 739–748.
- [23] 刘慧丽, 李玲. 脱落酸(ABA)诱导基因表达的调控元件[J]. 植物学通报, 2001, **18**(3): 276–282.
- [24] Busk P K, Pages M. Regulation of abscisic acid-induced transcription [J]. *Plant Mol Biol*, 1998, **37**: 425–435.
- [25] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F. *Arabidopsis thaliana* CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 1 035–1 040.
- [26] Rouse D T, Marotta R, Parish R W. Promoter and expression studies on an *Arabidopsis thaliana* dehydrin gene [J]. *FEBS Lett*, 1996, **381**: 252–256.
- [27] Parmentier-Line C M, Panta G R, Rowland L J. Changes in dehydrin expression associated with cold, ABA and PEG treatment in blueberry cell cultures [J]. *Plant Sci*, 2002, **162**: 273–282.
- [28] Artlip T, Wisniewski, M. Tissue-specific expression of a dehydrin gene in one-year old 'Rio Oso Gem' peach trees [J]. *J Am Soc Hort Sci*, 1997, **122**: 784–787.
- [29] Yuan S, Lin H-H. Transcription, translation, degradation, and circadian clock [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **321**: 1–6.
- [30] Cellier F, Conejero G, Casse F. Dehydrin transcript fluctuations during a day/night cycle in drought-stressed sunflower [J]. *J Exp Bot*, 2000, **51**: 299–304.
- [31] Ohno R, Takumi S, Nakamura C. Kinetics of transcript and protein accumulation of a low-molecular-weight LEA D-I dehydrin in response to low temperature [J]. *J Plant Physiol*, 2003, **160**: 193–200.
- [32] Stupnikova I V, Borovskii G B, Dorofeev N V, Peshkova A A, Voinikov V K. Accumulation and disappearance of dehydrins and sugars depending on freezing tolerance of winter wheat plants at different developmental phase [J]. *J Ther Biol*, 2002, **27**: 55–60.
- [33] Choi D-W, Close T J. A newly identified barley gene, *Dhn12*, encodes a YSK₂ DHN, is located on chromosome 6H and has embryo-specific expression [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, **100**: 1 274–1 278.
- [34] Koag M-C, Fenton R D, Wilkens S, Close T J. The binding of maize DHN1 to lipid vesicle. Gain of structure and lipid specificity [J]. *Plant Physiol*, 2003, **131**: 309–316.
- [35] Rinne P L, Kaikuranta P L M, van der Plas L H W, van der Schoot C. Dehydrins in cold-acclimated apices of birch (*Betula pubescens* Ehrh.): production, localization and potential role in rescuing enzyme function during dehydration [J]. *Planta*, 1999, **209**: 377–388.
- [36] Hara M, Terashima S, Kuboi T. Characterization and cryoprotective activity of cold-responsive dehydrin from *Citrus unshiu* [J]. *J Plant Physiol*, 2001, **158**: 1 333–1 339.
- [37] 李晶, 阎秀峰, 祖元刚. 低温胁迫下红松幼苗活性氧的产生及保护酶的变化 [J]. 植物学报, 2000, **42**(2): 148–152.
- [38] 黄清泉, 孙歆, 张年辉, 冯鸿, 袁澍, 代其林, 梁厚果, 杜林方, 林宏辉. 水杨酸对水分胁迫黄瓜幼苗叶片生理过程的影响 [J]. 西北植物学报, 2004, **24**(12): 2 202–2 207.
- [39] Hara M, Fujinaga M, Kuboi T. Radical scavenging activity and oxidative modification of citrus Dehydrin [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2004, **42**: 657–662.
- [40] Hara M, Terashima S, Fukaya T, Kuboi T. Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by citrus dehydrin in transgenic tobacco [J]. *Planta*, 2003, **217**: 290–298.
- [41] Bracale M, Levi M, Savini C, Dicorato W, Galli M G. Water deficit in pea root tips, effects on the cell cycle and on the production of dehydrin-like proteins [J]. *Ann Bot*, 1997, **79**: 593–600.
- [42] Wisniewski M, Webb R, Balsamo R, Close T J, Yu X-M, Griffith M. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: A dehydrin from peach (*Prunus persica* L.) [J]. *Physiol Plant*, 1999, **105**: 600–608.
- [43] Korol L, Klein J D. Profiles of trinexapac-ethyl- and ABA-induced heat-stable proteins in embryonic axes of wheat seeds [J]. *Euphytica*, 2002, **126**: 77–81.
- [44] Khedr A H A, Abbas M A, Abdel Wahid A A, Quick W P, Abogadallah G M. Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress [J]. *J Exp Bot*, 2003, **54**: 2 553–2 562.