

文章编号: 1004-0374(2010)06-0551-05

第三组胚胎晚期丰富蛋白 *lea3* 基因研究概述

汤晓倩, 于丽霞, 武晓璐, 鄢波*

(西南林学院园林学院, 昆明 650224)

摘要: 晚期胚胎富集蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA蛋白)是在高等植物胚胎发育晚期大量积累的一类蛋白, 根据其结构特点LEA蛋白一般分为6组, 其中第3组LEA蛋白(LEA3)含有11个氨基酸串联重复的基元序列, 可以形成 α -螺旋结构, 能在干旱胁迫的环境中保护生物大分子, 减轻水份胁迫对植物造成的伤害, 与植物抗逆性密切相关。该文就 *lea3* 基因及其蛋白的结构、功能、基因表达和应用等进行简要的综述, 并对 *lea3* 基因及其蛋白今后的研究方向和应用前景进行了展望。

关键词: LEA3 蛋白; 11 个氨基酸基序; 逆境胁迫

中图分类号: Q943.2; Q945.7 **文献标识码:** A

Research advance in the group three of late-embryogenesis-abundant proteins and genes

TANG Xiao-qian, YU Li-xia, WU Xiao-lu, YAN Bo*

(Faculty of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming 650224, China)

Abstract: Later embryogenesis abundant proteins (LEA proteins) accumulate to high concentrations in plant embryo during the later stage of seed development. Based on the common amino acid sequence motifs and the conserved structural features, LEA proteins are basically divided into six groups. LEA 3, group three of LEA proteins, includes tandem repeated motifs composed of 11 amino acids. Under the condition of dehydration, LEA 3 proteins are folded into the conformation of amphipathic α -helices to protect cell membrane from damages caused by extreme stress of dehydration. In this review, the structures, functions and expression regulations of LEA 3 proteins were highlighted, and the perspective of *lea3* genes as well as its proteins was also discussed.

Key words: LEA3 proteins; 11-mer amino acids motif sequence; abiotic stress

晚期胚胎富集蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA蛋白)是指胚胎发育后期种子中大量积累的一系列蛋白质。它广泛存在于高等植物发育后期的种子以及遭受脱水胁迫的植株中^[1], 与植物抵御脱水胁迫密切相关, 并且可以被低温、渗透胁迫, 以及外源脱落酸(ABA)等因素诱导。因此, 对LEA蛋白的研究现已成为逆境生理学研究的一个热点, 在植物抗旱性调节、基因工程抗性育种等方面显示出广泛的应用前景。该蛋白第3组 *lea* 基因的表达与抗旱性呈正相关, 大量转基因实验已经证明 *lea3* 基因可以提高植物的抗旱耐盐性。

1981年, Dure 等首先在胚胎发育后期的棉花

子叶中分离到了一组丰富表达的 mRNA, 命名为 *lea* mRNA, 同时还分离到其表达产物, 即 LEA 蛋白^[2]。1989年, Dure 等^[3]根据 LEA 蛋白一级结构将 LEA 蛋白分成三类: 第一类是 *Em* 基因的产物; 第二类 RAB(responsive to ABA)和脱水素(dehydrin)基因的产物; 第三类是其他 *lea* 基因的产物。随着分离得到越来越多的 LEA 蛋白, 2001年, Dure 等^[4]又根据氨基酸序列的同源性和一些特殊的基元序列, 进一

收稿日期: 2009-12-15; 修回日期: 2010-01-29

基金项目: 云南省应用基础研究面上项目(2009ZC079M)

*通讯作者: E-mail: yanbodr@yahoo.com.cn

步将LEA蛋白分为6组,只有前3组LEA蛋白具有保守的序列^[5],其中第3组LEA蛋白,以其同源序列区域包括11个氨基酸基元序列(TAQAAKEKAGE)的串联重复排列,并可以形成亲水的 α -螺旋结构而区别于其他LEA蛋白^[6]。Dure的分类方法是一种非常有效的分类方法,因为他不仅将LEA蛋白分成了不同的家族,而且指出每个家族所特有的保守基元序列,这些基元序列可能与其功能有着密切的联系。2008年,Battaglia等^[7]又在Dure的基础上进一步将LEA蛋白分为7组,其中第1、2、3、4、6、7组是以亲水基团占主导的典型的LEA蛋白;第5组为疏水基团占主导的非典型LEA蛋白。然而,Battaglia的分类是基于从棉花中已获得的LEA蛋白序列进行的,因此有一定的局限性。

根据Dure的分类方法,其中LEA3蛋白相对于LEA蛋白家族的其他成员,其分布更广,不仅存在于植物中,还广泛存在于微生物,线虫、跳虫等无脊椎动物中,可能是无脊椎动物LEA蛋白的起源,因此对于LEA3蛋白及其基因的研究具有重要意义。

1 *lea3*基因的克隆及其结构特征

到目前为止,已发现含有*lea*基因的植物已有几十种。其中,已分离的*lea3*基因主要有小麦的*PMA1959*基因、*WRAB19*基因、*TaLEA*基因,大麦*HVA1*基因,水稻的*OsLEA3*基因,玉米的*lea3*基因,高粱的*lea3*基因,大豆的*PM2*蛋白基因,山毛榉的*FsDhn1*和*FsClol1*基因,牧豆*lea3*,葡萄种子的*Plea76*基因,茭草的*lea3*基因及麝香百合*Mp2*基因等。2000年,Sales等^[8]在酵母中发现与LEA蛋白类似的蛋白质。2002年,Browne等^[9]发现一种极端耐旱的线虫(*Aphelenchus avenae*)存在一种*Avelea1*基因,其编码的蛋白质类似植物中的LEA3蛋白,这揭示了LEA蛋白在生物界分布的广泛性。有学者认为无脊椎动物的LEA蛋白均起源于第3组LEA蛋白;第1、2组LEA蛋白主要在植物抵御胁迫时发挥作用^[10]。目前,多数的*lea3*基因是从植物中分离得到的,而对动物、微生物*lea3*基因克隆的研究起步相对较晚,但在近几年也有一些相关的报道。

LEA3蛋白是一组小分子特异多肽,相对分子质量一般在 $10\text{ k} \sim 30\text{ k}$ ^[11],其同源序列区域包括11个氨基酸基元序列(TAQAAKEKAGE的串联重复排列),孙海丹等^[12]分析了8种农作物(大豆、棉花、

玉米、水稻、胡萝卜、油菜、大麦、小麦)的LEA3蛋白质序列,通过比较它们的串联基元序列,得出LEA3蛋白质中11个氨基酸基元长度占蛋白质序列总长的40%~60%,极性氨基酸和疏水氨基酸数目分别占重复序列氨基酸总数的70.89%和29.11%。LEA3蛋白全序列平均亲水指数为 $-0.95 \sim -1.22$,无信号肽序列。这11个氨基酸残基组成的基元序列可形成兼性 α -螺旋结构,在植物脱水时提供保护,其中第1、2、4、5、9位的氨基酸共同构成疏水界面,其余位置的氨基酸形成螺旋分子的亲水界面。螺旋的疏水界面可形成同型二聚体,随着外部离子浓度增加而改变其方向。Singh等^[13]通过将芸薹科的2个*lea3*基因转入大肠杆菌进行原核表达,发现该蛋白在极端干旱的情况下会进行折叠形成超螺旋结构。然而,George等^[14]从牧豆中分离得到了一个非典型的*lea3*基因,与典型的LEA3蛋白相比,其产物pJLEA3蛋白含有大量的丙氨酸和丝氨酸串联序列,与绿豆的吡啶3乙酸诱导蛋白更为相似,该蛋白在植物受到逆境胁迫时会提高表达量。

研究发现,该组LEA蛋白大小差异很大,11个氨基酸基元序列的重复次数也有较大差异,其中高粱LEA3蛋白重复次数较少只有4次;油菜LEA76蛋白则有13个重复的基元序列;大豆pGmPM8含有的串联基元序列则超过30个。钱刚等^[15]从抗旱性不同的西藏青稞中克隆到2个有差异的*lea3*基因,通过对比证实抗旱性不同的青稞品种之间LEA3保守基元拷贝数有差异,因此,推测抗旱蛋白结构的差异以及保守基元序列的数量差异可能对植物的抗旱性有影响。同时,LEA3蛋白的同源性差异也较大,如大麦的*HVA1*与小麦的*PMA2005*在核苷酸水平和氨基酸水平上均有很高的同源性,分别达91%和95%,而它们与禾本科的水稻、玉米、蒙古冰草又有较大的差异,同源性在60%左右;高粱和玉米LEA3蛋白同源性为74%,而与水稻的同源性仅为46%。可见LEA3蛋白在属内相对保守,而在属间变化较大。

2 *lea3*基因的功能与作用机制

在干旱情况下,多数植物的*lea*基因都会表达产生LEA蛋白,虽然LEA蛋白的抗旱机制还不清楚,但大量实验已能够证明第3组LEA蛋白与抗旱能力相关。俞嘉宁等^[16]将干旱处理48 h的小麦,利用同源序列扩增的方法,克隆了3个第3组*lea*基因*TaLEA1*、*TaLEA2*、*TaLEA3*,初步研究表明,该

组基因可能具有耐渗透胁迫的作用。其中, *TaLEA2* 基因编码一个由 212 个氨基酸组成的亲水性蛋白质, 该蛋白具有 5 个基元序列组成串联重复。经转基因实验证明 *TaLEA2* 基因能有效改善转基因酵母在山梨醇胁迫下的生长情况。用 *TaLEA3* 做探针, 对不同耐旱性的一对同核异质小麦幼苗进行 Northern 杂交分析, 表明 PEG6000、ABA、NaCl、冷处理均可诱导该基因表达, *TaLEA3* 基因的表达与所测品种的耐旱性呈正相关。2009 年, Menze 等^[17] 在丰年虾 (*Artemia franciscana*) 中发现存在一种 *Afrlea3m* 基因, 并报道其产物是以线粒体为靶标的 LEA3 蛋白, 它可以提高细胞器对水分胁迫的耐受能力。Bahrndorff 等^[18] 在跳虫 (*Megaphorura arctica*) 基因组中也发现了类似于植物 LEA3 蛋白的一种蛋白质, 该蛋白包含大量的赖氨酸和丙氨酸重复序列, 干旱胁迫可以诱导其表达。Liu 等^[19] 将鹰嘴豆 LEA3 家族的 *PM2* 基因构建原核表达载体, 转入大肠杆菌, 并施以盐胁迫, 结果表明 *PM2* 基因的表达可提高大肠杆菌的耐盐性。李冉辉等^[20] 将大豆 *PM2* 基因转入酵母菌, 并施以盐胁迫, 结果表明大豆的 *PM2* 基因对酵母菌的生长没有影响; 在高盐的培养基中转基因酵母菌的延滞期短于对照菌, 表明转基因酵母菌的耐盐性有所提高。

近几年对 LEA3 蛋白作用机制的研究已经积累了较多的资料, 其中主要的观点认为 LEA3 蛋白的基元序列可以形成亲水的 α -螺旋结构^[6], 该结构能避免干旱胁迫时细胞内高浓度离子的积累所引起的损伤, 同时也可以防止组织内过度失水。另外, 组成该蛋白的大多数氨基酸残基为碱性、亲水性, 这些氨基酸残基可以重新定向细胞内的水分子, 束缚盐离子, 从而避免干旱胁迫时细胞内高浓度离子的积累损伤细胞, 同时也可防止组织过度失水^[21]。通过对拟南芥的研究还发现 LEA3 蛋白在植物受到水分胁迫时, 可以保护酶的活性不受抑制^[22, 23]。Battaglia 等^[7] 研究者认为 LEA3 蛋白的存在为它的靶标酶提供一个水分相对充足的环境, 以保持酶的完整性防止酶钝化失活。Berjak^[24] 则认为 LEA3 蛋白在干旱胁迫时可以形成丝状, 增强了细胞质的延展力, 提高结构的稳定性。

3 *lea3* 基因的表达特点

lea3 基因的表达与植物抗旱密切相关, 同时还受胚胎发育阶段、ABA、渗透胁迫、温度、氧气含量、光照等的调控^[25-28]。LEA3 蛋白有发育阶段

特异性, 可以被干旱胁迫以及外源 ABA 诱导, 并且在组织器官水平上不存在特异性, 在脱水信号或 ABA 的诱导下, 根茎叶等组织器官都可检测到它的存在。

种子脱水是伴随着种子成熟而发生的, 这种适应性策略有利于种子在贮藏或者环境胁迫中存活, 保证物种繁衍。*lea3* 基因一般伴随着种子成熟而表达, 在种子萌发时很快消失, 这是 LEA3 蛋白在种子发育过程中呈现的特定表达模式^[29]。*lea3* 基因除了在种子、胚胎成熟与干燥过程中表达以外^[30], 许多 *lea3* 基因的表达受 ABA 诱导, LEA3 蛋白表达量和表达时间也常与 ABA 变化一致, 如大麦的 *HVA1* 基因就是一个 ABA 响应基因, 该基因的启动子具有 4 个 ABA 应答元件, 干旱信号通过 ABA 作用于应答元件, 从而调节 *lea3* 基因的表达。同时, *lea3* 基因在植物的营养组织器官受到脱水胁迫时也会被诱导表达^[31-33], 脱水信号诱导的 *lea3* 基因表达至少存在四条途径^[34], 但在许多情况下也都是通过 ABA 起作用的, 有时脱水信号和 ABA 调节可相互替代。植物遭受水分胁迫或生理干旱时, 内源 ABA 含量会升高, 因此推测渗透胁迫对 *lea3* 基因的表达调控可能是通过 ABA 来实现的。另外, *lea3* 基因的表达还可通过低温、盐胁迫诱导^[35, 36]。

4 *lea3* 基因的植物转基因应用研究

由于 LEA3 蛋白与植物抗逆性有密切关系, 尤其是在植物抵抗脱水胁迫方面表现出优势, 因此, 对 LEA3 蛋白的深入研究不仅有助于了解植物抗旱的分子机制, 而且可以为研究植物抗旱育种提供新的思路和方法, 尤其是分离、克隆与植物抗旱性有关的 *lea3* 基因, 可以用于植物的抗旱育种工作, 将抗旱基因转入水稻^[37]、紫花苜蓿^[38]、小麦^[39]、番茄^[40]中, 均已获得表现出具有一定抗旱、耐盐性的植株。

赵咏梅等^[41] 将小麦 *TaLEA2* 基因转入拟南芥中, 并施以 0.8% 的 NaCl 胁迫和 10%、15% 的 PEG4000 胁迫, 转基因拟南芥的生长状况明显优于对照种, 说明在一定范围内, 转基因拟南芥的耐旱性及耐盐性均有所提高。Hong 等^[42] 发现大麦在冷驯化过程中能诱导 *HVA1* 基因的表达, 产生一种 LEA3 家族的蛋白质, Xu 等^[37] 将这种 *HVA1* 蛋白基因转入水稻中, 结果表明转基因水稻了对水分胁迫和盐胁迫的耐受性都有所提高。王瑛等^[38] 将来源于大麦的 *lea3* 基因转入紫花苜蓿中, 获得 21 株转基因植株,

获得的转基因植株耐盐能力显著增强。刘祥久等^[43]用开苞导入法将抗旱耐盐基因 *HVA1* 导入到稳定的玉米自交系中, 通过对其后代进行抗旱鉴定, 发现抗旱性都有所提高。Maqbool 等^[44]将 *HVA1* 基因的 cDNA 导入燕麦中, 从而获得耐旱、耐盐的转基因燕麦。陈火英等^[40]将 *HVA1* 基因转入番茄, 获得 24 株转化植株, 转化植株均表现出一定的耐盐性。Wang 等^[45]将小麦的 *TaLEA3* 基因通过农杆菌介导转入羊草, 在干旱胁迫下转基因植株相对含水量和生长势均优于对照, 而丙二醛含量低于对照。Zhang 等^[46]和 Yu 等^[47]利用酵母表达体系, 证明了大麦 *HVA1* 基因、小麦 *TaLEA2* 和 *TaLEA3* 基因的表达可以提高重组酵母的耐盐能力。Fu 等^[48]将大麦 *HVA1* 基因及其启动子转入匍匐翦股颖, 进行超表达, 结果表明 3 种启动子均可以在水分亏缺时启动该基因的表达, 保护植株免受伤害。Lai 等^[49]将 *HVA1* 基因通过农杆菌介导转入桑树, 获得对非生物胁迫具有广谱抗性的转基因植株。这些基因的克隆和功能研究为植物抗性育种提供了良好的基础。

5 展望

lea3 基因是植物抵抗渗透胁迫的一个重要基因, 随着对 LEA3 蛋白及 *lea3* 基因的研究不断深入, 人们对其功能与表达机理有了初步的认识, 从研究结果看, *lea3* 基因的表达与种子脱水、干旱胁迫、ABA 诱导、盐胁迫以及温度胁迫有密切的关系, 是一类与植物抗逆性相关的蛋白。然而, 现在我们对 LEA3 蛋白在细胞内的作用机理、*lea3* 基因的表达调控信号的传导途径、串联基元序列的重复次数与抗旱性的关系仍不清楚。随着研究的深入, 人们将不仅可以从分子水平上揭示植物的抗逆机制, 还可以利用基因工程的方法将 *lea3* 基因转入抗性差的植物中, 从而培育出抗逆性强, 耐旱节水的新品种, 为农业和园艺生产服务。另外, LEA3 蛋白与种子的生活力有密切的关系, 因此, 对 *lea3* 基因的研究对提高种子贮藏性, 延长种子寿命具有重要意义。

ÖÄÐ»£ÐÐ»ÔÆÄÏÊ¿¼¼ÏÖQµãÑŞ¿ÆjçÊjßÐ£ÖÖµãÊµÑé
 ÈÖ¼°Ð£ÊµÑéÈÖ¼°Æ½¼¼ÏÖ¼°ÄµÄÖŞÖÏ£

[参 考 文 献]

[1] Oliveira E, Amara I, Bellido D, et al. LC-MSMS identification of *Arabidopsis thaliana* heat stable seed proteins: enriching for LEA-type proteins by acid treatment. *J Mass Spectrom*,

2007, 42: 1485-95

[2] Espelund M, Sæbøe-Larssen S, Hughes DW, et al. Late embryogenesis-abundant genes encoding protein with different numbers of hydrophilic repeats are regulated differentially by abscisic acid and osmotic stress. *Plant J*, 1992, 2(2): 241-52

[3] Dure L, Crouch M, Harada J, et al. Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plant. *Plant Mol Biol*, 1989, 12: 475-86

[4] Dure L. Occurrence of a repeating 11-mer amino acid sequence motif in diverse organisms. *Protein Pept Lett*, 2001, 8: 115-22

[5] Wise MJ. LEAping to conclusions: A computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 1-19

[6] Tolleter D, Jaquinod M, Mangavel C, et al. Structure and function of a mitochondrial late embryogenesis abundant protein are revealed by desiccation. *Plant Cell*, 2007, 19: 1580-9

[7] Battaglia M, Olvera-Carrillo Y, Garcarrubio A, et al. The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiol*, 2008, 148: 6-24

[8] Sales K, Brandt W, Rumbak E, et al. The LEA-like protein HSP12 in *Saccharomyces cerevisiae* has a plasma membrane location and protects membranes against desiccation and ethanol-induced stress. *Biochem Biophys Acta*, 2000, 1463 (2): 267-8

[9] Browne J, Tunnacliffe A, Burnell A. A hydrobiosis plant desiccation gene found in a nematode. *Nature*, 2002, 418: 38

[10] Chakrabortee S, Boschetti C, Walton LJ, et al. Hydrophilic protein associated with desiccation tolerance exhibits broad protein stabilization function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(46): 18073-8

[11] 孙立平, 李德全. LEA 蛋白的分子生物学研究进展. *生物技术通报*, 2003, 6: 5-13

[12] 孙海丹, 兰英, 刘响, 等. LEA 蛋白质 11-氨基酸基序与植物抗旱性. *东北师范大学学报: 自然科学版*, 2004, 36(3): 85-90

[13] Singh J, Whitwill S, Lacroix G, et al. The use of group 3 LEA proteins as fusion partners in facilitating recombinant expression of recalcitrant proteins in *E. coli*. *Protein Expr Purif.*, 2009, 67: 15-22

[14] George S, Usha B, Parida A. Isolation and characterization of an atypical LEA protein coding cDNA and its promoter from drought-tolerant plant *Prosopis juliflora*. *Appl Biochem Biotechnol*, 2009, 157: 244-53

[15] 钱刚, 翟旭光, 韩兆雪, 等. 西藏青稞 LEA3 蛋白新抗旱基因的克隆与序列分析. *作物学报*, 2007, 33(2): 292-6

[16] 俞嘉宁, 张林生, 张劲松. 小麦耐逆基因 *TaLEA3* 的克隆及在酵母中的功能分析. *生物工程学报*, 2004, 26(6): 832-8

[17] Menze MA, Boswell L, Toner M, et al. Occurrence of mitochondria-targeted late embryogenesis abundant (LEA) gene in animals increases organelle resistance to water stress. *JBiol Chem*, 2009, 284(16): 10714-9

[18] Bährndorff S, Tunnacliffe A, Wise MJ, et al. Bioinformatics and protein expression analyses implicate LEA proteins in

- the drought response of Collembola. *J Insect Physiol*, 2009, 55: 210-7
- [19] Liu Y, Zheng YZ. PM2, a group 3 LEA protein from soybean, and its 22-mer repeating region confer salt tolerance in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331: 325-32
- [20] 李冉辉, 刘响, 郑易之. 大豆PM2蛋白(LEA3)表达可提高酵母重组子的耐盐性. *大豆科学*, 2007, 26(4): 467-72
- [21] Ginger AS, William R, Marcotte J. The wheat LEA protein Em function as an osmoprotective molecule *Saccharomyces cerevisiae*. *Plant Mol Biol*, 1999, 39(1), 117-28
- [22] Reyes JL, Rodrigo MJ, Colmenero-Flores JM, et al. Hydrophilins from distant organisms can protect enzymatic activities from water limitation effects *in vitro*. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 709-18
- [23] Nakayama K, Okawa K, Kakizaki T, et al. *Arabidopsis* Cor15am is a chloroplast stromal protein that has cryoprotective activity and forms oligomers. *Plant Physiol*, 2007, 144: 513-23
- [24] Berjak P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. *Seed Sci Res*, 2006, 16: 1-15
- [25] 宋松泉, 段咏新, 傅家瑞. ABA对种子发育的调节. *种子*, 1997, 43(5): 36-41
- [26] Hundertmark M, Hinch DK. LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 2008, 9: 118-39
- [27] 俞嘉宁, 山仑. LEA蛋白与植物的抗旱性. *生物工程进展*. 2002, 22(2): 10-4
- [28] Gal TZ, Glazer I, Koltaï H. An LEA group 3 family member is involved in survival of *C. elegans* during exposure to stress. *FEBS Lett*, 2004, 577: 21-6
- [29] Tunnacliffe A, Wise MJ. The continuing conundrum of the LEA proteins. *Naturwissenschaften*, 2007, 94: 791-812
- [30] 崔凯荣, 邢更生, 周克功. 体细胞胚胎发生的生化基础. *生命科学*, 2001, 13(1): 28-33
- [31] Ried JL, Walker-Smmons MK. Group 3 late embryogenesis abundant proteins in desiccation tolerant seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol*, 1993, 102(1): 125-31
- [32] Oliver AE, Leprince O, Wolkers WF, et al. Non-disaccharide-based mechanisms of protein during drying. *Cryobiology*, 2001, 43(2): 151-67
- [33] Colmenero-Flores JM, Moreno LP, Smith CE, et al. Pvlea-18, an ember of a new late embryogenesis abundant protein family that accumulates during water stress and in the growing regions of well-irrigated bean seedlings. *Plant Physiol*, 1999, 120(1): 93-104
- [34] Yamaguchi-Shinozaki K, Kasuga M, Lin Q. Biological mechanisms of drought stress response. *JIRCAS Working Report* [R], 2002, 1-8
- [35] Yamaguchi-Shinozaki K. *Arabidopsis* DNA encoding two desiccation-responsive genes. *Plant Physiol*, 1993, 101(3): 1119-20
- [36] Gosti F, Bertauche N, Vartanian N, et al. Abscisic acid-dependent and independent regulation of gene expression by progressive drought in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 1995, 246(1): 10-8
- [37] Xu D, Duan X, Wang B, et al. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol*, 1996, 110: 249-57
- [38] 王瑛, 朱宝成, 孙毅, 等. 外源 *Lea3* 基因转化紫花苜蓿的研究. *核农学报*, 2007, 21(3): 249-52
- [39] Sivamani E. Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley *HVA1* gene. *Plant Sci*, 2000, 155: 1-9
- [40] 陈火英, 庄天明, 张晓宁, 等. *HVA1* 基因转化番茄及转基因番茄耐盐性的初步鉴定. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2006, 24(1): 1-5
- [41] 赵咏梅, 杨建雄, 俞嘉宁, 等. 小麦耐逆基因 *TaLEA2* 转化拟南芥的研究. *西北植物学报*, 2006, 26(1): 1-6
- [42] Hong Z. Removal of feedback inhibition of Δ I-pyrroline-5-carboxylate synthase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol*, 2000, 122: 1129-36
- [43] 刘祥久, 姜敏, 张喜华, 等. 用开苞导入法将抗旱耐盐基因导入玉米自交系的初步研究. *杂粮作物*, 2005, 25(3): 134-5
- [44] Maqbool B, Zhong H, El-Maghraby Y. Chapter 16 functional genomics for tolerance to abiotic stress in *Avena sativa* Linn. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 201-8
- [45] Wang L, Li X, Chen S, et al. Enhanced drought tolerance in transgenic *Leymus chinensis* plants with constitutively expressed wheat *TaLEA3*. *Biotechnol Lett*, 2009, 31: 313-9
- [46] Zhang L, Ohta A, Takagi M, et al. Expression of plant group 2 and group 3 lea genes in *Saccharomyces cerevisiae* revealed functional divergence among LEA proteins. *J Biol Chem*, 2000, 275: 611-6
- [47] Yu JN, Zhang JS, Shan L, et al. Two new group *LEA3* genes of wheat and their functional analysis in yeast. *J Integr Plant Biol*, 2005, 47(11): 1372-81
- [48] Fu D, Huang B, Xiao Y, et al. Overexpression of barley *HVA1* gene in creeping bentgrass for improving drought tolerance. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 467-77
- [49] Lal S, Gulyani V, Khurana P. Overexpression of *HVA1* gene from barley generates tolerance to salinity and water stress in transgenic mulberry (*Morus indica*). *Transgenic Res*, 2008, 17: 651-63