

水稻肌醇加氧酶基因的表达分析及植物表达载体的构建

王海光 张洪亮 段俊枝 李自超

(中国农业大学 农业部作物基因组学与遗传改良重点开放实验室/作物杂种优势研究与
利用教育部重点实验室/北京市作物遗传改良重点实验室,北京 100094)

摘要 为研究水稻肌醇加氧酶基因在植物水分胁迫分子应答中的作用,采用 RT-PCR 技术克隆了水稻肌醇加氧酶基因的 cDNA 编码区,命名为 *OsMIOX*。该基因由 927 个碱基组成,编码 308 个氨基酸,与拟南芥肌醇加氧酶的氨基酸序列相比,同源率为 78%。将克隆的 *OsMIOX* 基因连接 pCAMBIA-1301 载体,成功构建了 35 s 启动子驱动的植物超表达载体。实时定量 PCR 分析结果表明,水分胁迫下 *OsMIOX* 基因在旱稻 IRAT109 中上调表达,在旱稻(IRAT109 和毫格劳)中的表达量显著高于水稻(越富和日本晴)。这说明水稻和旱稻的水分胁迫分子反应机制的存在差异,而这种差异很可能就是水、旱稻抗旱性不同的原因之一。

关键词 基因表达;基因克隆;*OsMIOX* 基因;水稻;水分胁迫;植物表达载体

中图分类号 Q 943; S 511

文章编号 1007-4333(2007)04-0001-06

文献标识码 A

Expression analysis of rice myo-inositol oxygenase like gene and development of its plant expression vector

Wang Haiguang, Zhang Hongliang, Duan Junzhi, Li Zichao

(Key Lab of Crop Genomics and Genetic Improvement of Ministry of Agriculture/ Key Lab of Crop Heterosis and Utilization of Ministry of Education/ Beijing Key Lab of Crop Genetic Improvement, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract To understand the role of myo-inositol oxygenase gene in plant under water stress using RT-PCR, the cDNA of open read fragment of putative myo-inositol oxygenase gene (MIOX) in rice was successfully amplified to 927 bp in length and encoded 308 amino acids, named *OsMIOX*. Sequence analysis indicated that *OsMIOX* shared high homogeneity with the *Arabidopsis thaliana* MIOX gene. The cloned cDNA of *OsMIOX* gene was introduced into pCAMBIA-1301 vector, giving a plant expression vector containing *OsMIOX* gene linked with 35s promoter. Results of real-time PCR analysis showed that the *OsMIOX* gene was upregulated by PEG stress in upland rice cultivar IRAT109, and the expression level was higher in upland rice (IRAT109, Haogelao) than in lowland rice (Yuefu, Nipponbare) under PEG stress. This showed that the molecular mechanism under water stress was different between lowland rice and upland rice, perhaps due to differences in drought stress. The possible role of *OsMIOX* gene under drought stress was discussed.

Key words gene expression; gene cloning; myo-inositol oxygenase gene; rice; water stress; plant expression vector

干旱是一种常见的环境胁迫,其造成的作物严重减产制约着农业的发展。水稻是我国主要粮食作物,通过基因工程的技术手段提高水稻抗旱性,具有重要的理论和现实意义。

本实验室在前期的工作中利用抗旱性较强的旱稻 IRAT109 构建了水分胁迫诱导表达 cDNA 文库,在文库中发现了与预测的水稻肌醇加氧酶(putative myo-inositol oxygenase, MIOX) 基因序列完全相同

收稿日期: 2007-01-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2003CB114301);教育部博士点基金项目(20030019004);国家自然科学基金资助项目(30250009)

作者简介: 王海光,博士研究生, E-mail: whaiguang2002@163.com; 李自超,教授,通讯作者,主要从事水稻种质资源与基因组学研究, lizichao@cau.edu.cn

的克隆。前人研究表明,与该克隆对应的 EST 在病原菌侵染、干旱、低温等多种胁迫处理的组织中都有表达,暗示该克隆与植物的胁迫应答有关^[1]。

MIOX 参与植物细胞壁的构建,是 UDP-葡萄糖醛酸生物合成的关键酶,它通过氧化反应将肌醇转化为葡萄糖醛酸^[2]。UDP-葡萄糖醛酸是葡萄糖醛酸、木糖、芹菜糖和阿拉伯糖的主要前体分子,而这些物质是植物细胞壁的主要成分。因此,肌醇加氧酶与植物细胞壁的合成密切相关。

MIOX 是植物抗坏血酸生物合成反应的关键酶之一^[3]。一般认为植物抗坏血酸的生物合成只存在 2 条途径,甘露糖/L-半乳糖途径和 L-GalUA 途径^[4-5],但在拟南芥中发现^[3],植物抗坏血酸的合成还存在另外 1 条途径,即以肌醇为起始底物,肌醇加氧酶是此合成途径的关键酶。通过转基因手段使肌醇加氧酶基因在拟南芥中超表达,发现转基因植株抗坏血酸的浓度与野生型相比提高了 2~3 倍。抗坏血酸在植物体内不仅参与调节生长发育,还作为一种抗氧化剂能够清除超氧自由基、单线态氧和过氧化氢等活性氧类物质,减轻活性氧对细胞造成的伤害^[6]。在低温、干旱和高盐胁迫条件下,抗坏血酸保护植物的功能均有报道^[7-9]。因此推测该克隆所代表的基因可能在植物对水分胁迫的耐受反应中起作用。

目前,还没有水稻肌醇加氧酶基因的研究报道。本研究旨在研究水稻肌醇加氧酶基因在植物水分胁迫分子应答中的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 旱稻 (IRAT109 和毫格劳) 和水稻 (越富和日本晴) 的种子在水中浸泡 24 h 后,置于湿纱布上,32 ℃ 催芽 2 d,播于底部粘有塑料纱窗的泡沫孔板上,并漂浮于装有水的塑料盒中生长。培养室温度 28 ℃,相对湿度 80%,光照 14 h/d。水培养 1 周,营养液培养 3 周,对培养 4 周的幼苗进行水分胁迫处理,在 15% (质量分数) PEG 6000 (聚乙二醇,相对分子质量 6 000) 溶液中处理 9 h,分别取根和叶片,液氮速冻, -80 ℃ 保存,同时取未处理材料为对照。营养液成分为: 1.43 mmol/L NH₄NO₃, 0.27 mmol/L NaH₂PO₄ · 2H₂O, 0.51 mmol/L K₂SO₄, 1.0 mmol/L CaCl₂, 1.46 mmol/L MnSO₄ · 7H₂O, 0.19 mmol/L Na₂SiO₃, 9.5 μmol/L MnCl₂ ·

4H₂O, 7.5 × 10⁻² μmol/L (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 18.8 μmol/L H₃BO₃, 0.15 μmol/L ZnSO₄ · 7H₂O, 0.16 μmol/L CuSO₄ · 5H₂O, 35.6 μmol/L FeCl₃ · 6H₂O, pH 5.5~6.0。

1.1.2 载体和菌株 pCAMBIA-1301 载体和大肠杆菌 DH5 均由本实验室保存。克隆载体 pGEM⁺ T-easy vector 购于 Promega 公司。

1.1.3 试剂 限制性内切酶购自 Promega 公司; Taq DNA Polymerase 购自 Takara 公司; IPTG、X-gal、氨苄青霉素 (Amp)、卡那霉素 (Kan) 等抗生素购自 Sigma 公司; 牛肉浸膏、酵母提取物、胰蛋白胨等培养基成分购自上海生工生物技术有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 的提取 总 RNA 的提取用 TRIZOL 试剂 (北京鼎国生物试剂公司生产), 提取的 RNA 溶于 DEPC 处理过的去离子水中, 用 1% (质量分数, 下同) 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性, 并用紫外分光光度计定量。

1.2.2 cDNA 编码区的扩增 利用 TaKaRa 公司的 M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit 合成 cDNA。利用 primer 5.0 软件, 依据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 公布的含有 *OsMIOX* 开发阅读框的 cDNA 序列设计上游引物 (5'-GCA GATCT-TACCA TCGA TCTGTCTAA-3') 和下游引物 (5'-GGGGTAACCA TGTCTCTCCCTCTTCT-3'), 上、下游引物分别设有 *Bgl* 和 *BstE* 酶切位点, 由上海生工生物技术有限公司合成。以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增基因编码区。PCR 体系为 25 μL: 模板 1.0 μL, 10 × Taq Recreation Buffer 2.5 μL, Taq DNA Polymerase (5 U/μL) 0.2 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.5 μL, Primer1 (10 μmol/L) 0.75 μL, Primer2 (10 μmol/L) 0.75 μL, ddH₂O 19.3 μL。PCR 扩增条件: 94 ℃, 5 min; 35 个循环 (95 ℃, 30 s; 55 ℃, 30 s; 72 ℃, 1 min); 72 ℃, 5 min; 4.0 ℃ 保温。

1.2.3 目标基因的克隆、测序及序列分析 将目标基因的 PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳, 切下目的条带, 用 DNA 回收试剂盒纯化 (天根生化公司产品)。将纯化的 PCR 的产物与 pGEM T-easy Vector (Promega) 载体相连, 连接产物转化到大肠杆菌 DH5a 细胞中, 在 X-gal/IPTG/Amp 琼脂平板 (LB) 上挑选白色克隆, 在 LB/Amp 液体培养基中 37 ℃ 摇菌过夜。采用天根生化公司生产的质粒小提试剂盒提取质粒。以质粒 DNA 为模板扩增目标基因

选阳性克隆。将阳性克隆的菌液送到北京奥科生物技术有限公司进行测序。利用 PLACE 程序 (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/signalscan.html>) 对基因的 5' 非编码区进行启动子顺式作用元件分析。

1.2.4 植物表达载体的构建 对 pCambia-1301

载体和连有目标基因的 pGEM-Teasy 载体进行双酶切 (*Bgl* II、*Bst* E II), 分别回收 pCambia-1301 载体的大片段酶切产物和 pGEM-Teasy 载体的目标基因片段, 用 T4 连接酶将它们连接 (图 1)。将连接产物转入大肠杆菌, 在 LB/Kan 培养基上扩增繁殖, 挑取筛选后的菌斑提取质粒进行 PCR 鉴定, PCR 体系

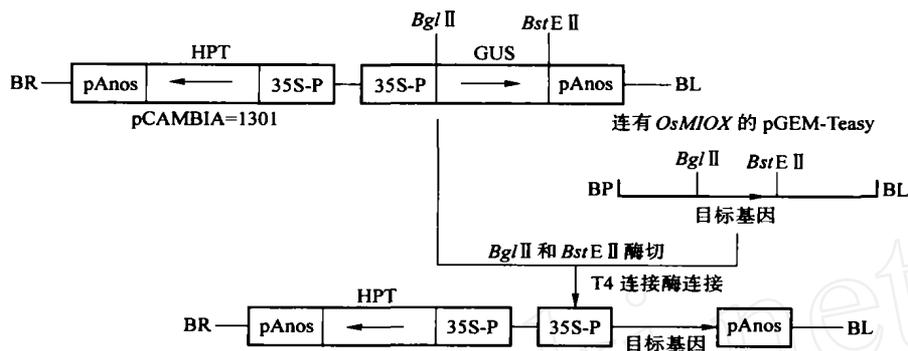


图 1 植物超表达载体构建流程图

Fig. 1 Construction of plant expression vector

和扩增条件同 1.2.2, 并进行阳性克隆测序。

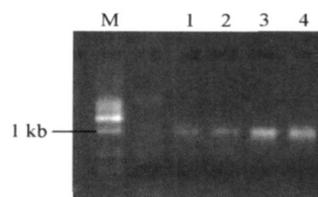
1.2.5 实时定量 PCR 对 4 个水、旱稻品种的 PEG 处理材料和旱稻 IRAT109 的未处理材料进行定量 PCR 分析。RNA 提取和 cDNA 合成方法同 1.2.1 和 1.2.2, 定量 PCR 反应仪为 DNA Engine Opticon™ (Bio-Rad, USA)。利用 primer 5.0 设计基因特异引物, 上游引物 5'-AGGTGCTGCTGCATCCG-3', 下游引物 5'-AGGCCCAAACCTTG-GTG-3'。选用管家基因 *tubulin* 为内标基因, 上游引物 5'-TCA GATGCCCA GTGACA GGA-3', 下游引物 5'-TTGGTGA TCTCGCAACA GA-3', 由上海生工生物技术有限公司合成。标记物为 SYBR Green I, 通过 $2^{-C(t)}$ 法进行相对定量。

2 结果与分析

2.1 *OsMIOX* 的 cDNA 克隆和序列分析

水稻基因组已测序并得到基因注释, 在 6 号染色体的 AP003762 克隆中有一推测的 *MIOX* 基因, 编码区由 927 个碱基组成, 该基因的部分核苷酸序列正好与本实验室前期构建的旱稻 IRAT109 水分胁迫诱导表达 cDNA 文库中一个克隆的序列完全一致, 因此, 该克隆所代表的基因为预测的水稻 *MIOX* 基因。根据基因注释中推测的基因编码区设计引物, 以 2 个水稻品种 (越富和日本晴) 和 2 个旱稻品种 (IRAT109 和毫格劳) 的叶片总 RNA 反转

录得到的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 扩增产物长度约 1 kb (图 2), 命名为 *OsMIOX* 基因。将 4 个水、旱稻品种的扩增产物进行克隆并测序, 结果表明扩增产物长度为 980 bp (图 3), 4 个水、旱稻品种的扩增产物的核苷酸序列没有差别, 都与预测的 *OsMIOX* 完全一致。该基因的编码产物由 308 个氨基酸组成, 在 NCBI 中 BLASTP 结果显示, 与拟南芥的肌醇加氧酶同源率为 78% (图 4)。



旱稻: 1. IRAT109, 2. 毫格劳; 水稻: 3. 越富, 4. 日本晴;
M. marker (300, 500, 1 000, 1 500, 2 000, 2 500 bp)

图 2 PCR 扩增 *OsMIOX* 的全长 cDNA

Fig. 2 PCR amplification of *OsMIOX*'s full length cDNA

2.2 *OsMIOX* 的启动子顺式作用元件分析

利用 PLACE 程序对 *OsMIOX* 基因的 5' 非编码区进行启动子顺式作用元件分析 (图 5)。结果表明 *OsMIOX* 启动子区含有 MYCRS (MYC recognition sequence) 元件, MYCRS 元件是 MYC 转录因子的识别序列, 表明 *OsMIOX* 的表达很可能是 MYC 转录因子激活的。

起始密码

taccatcgatctgtctaagagtgattagatcgagatgaccatcaccattgagcagcctcaccttgatgctatcgc
 cgaccggaaggtcgccgcgccgcccggcgcaaacgcccggagctcgtgctcgacggcgccctcgtcgtgccg
 gactccaacgccttcggcaacgccttcaggaattatgaggccgagctctgagaggaaggagacgggtggaggagtct
 accgggtcaaccacatcaaccagacatatgatttcgtgaggcggatgcgggaggagtacggtaggggtggacaagac
 ggagatggggatctgggagtgcatcgagctgctcaacgagttcatcgacgacagcagcccgacctcgacatgccg
 cagatcgagcaccctctccagaccgcccaggccatccgcaaggattccccgacgaggactggctccacctcactg
 gcctcatccacgatctgggcaagggtgctgctgcatcccagcttggggagctcccacagtggtcagctcgtcgggtg
 cacctccccgctcggctcgcgcatcgacgaatgcaacgtccacttcaagtaacttcaaggagaacctgactacctg
 aaccctaaagctcaaccacaagtttggggcctactccgagggtgtggccttgacaatgttctcatgtcctggggcc
 atgacgactacatgtacctggttgcgaaggagaacaagaccactctcctctcgaggctgttcatcatcagata
 tcatcattctacccccctgcacaagcatggagcctacatgcatctgatgaacgatgaggacaaggagaacctcaaa
 tggctcgtgtgttcaacaaatacgacctgtacagcaagagcaatgagaggatagacgttgagaaggtgaagccct
 actacatgtcactcatcgaaaagtattccccgccaagttagatggtgaagaagagggagagaacat

终止密码

图3 水稻 *OsMIOX* 基因的核酸序列Fig. 3 Sequence of rice *OsMIOX* gene

<i>OsMIOX</i>	MTITIEQPHLDAIADRKVAGGGGDNAELVLDGGFVVPDSNAFGNAFRNYEAESERKETVEEFYRVNHI.
	GG + ELVLD GF P +N+FG FR+Y+AESER+ VEEFYRVNHI
<i>AtMIOX1</i>	MTILIDRHSQNDAGDEIVEKNGNGKEEETELVLDAGFEAPHNTSFGRTFRDYDAESERRRGVEEFYRVNHI
<i>OsMIOX</i>	NQTYDFVRRMREEYGRVDKTEMGIWEC IELLNEF IDSDPDLMPQIEHLLQTAEAIRKDFPDEDWLHLTG
	QT DFYR+MREEY ++++TEM IWEC ELLNEF ID+SDPDL PQIEHLLQTAEAIRKD+PDEDWLHLTG
<i>AtMIOX1</i>	GQTYDFVRRMREEYEKLNRTMSIWECCELLNEF IDESDPDLDEPQIEHLLQTAEAIRKDYPPDEDWLHLTG
<i>OsMIOX</i>	LIHDLGKVL LHPSFGELPQWVVGDTFVPVGCADFECNVHFKYFKENPDYLNPKLNTKFGAYSEGGLDNVL
	LIHDLGKVL LH PSFGELPQW+VVGDTFVPVGCADF E VH KYFKENPDY NP N+K+G Y+EGCGLDNVL
<i>AtMIOX1</i>	LIHDLGKVL LHSSFGELPQWAVVGDTFVPVGCADFESIVHKKYFKENPDYDNPNSYNSKYGIYTEGGLDNVL
<i>OsMIOX</i>	MSWGHDDYMYLVAKENK TTLPSAGLFIIRYHSFYPLHKHGYMHLMNDEKDKLWLVFNKYDLYSKNE
	MSWGHDDYMYLVAKEN+TTLPSAGLFIIRYHSFY LHK AY HLMN+ED+EN+KWL +VFNKYDLYSKS
<i>AtMIOX1</i>	MSWGHDDYMYLVAKENQ TTLPSAGLFIIRYHSFYALHKSEAYKHLMNEDRENKWLKVFNKYDLYSKSV
<i>OsMIOX</i>	RIDVEKVKPYMSLIEKYFPAKLRW
	R++VE+VKPYY+SL KYFP+KL+W
<i>AtMIOX1</i>	RVNVEEVKPYLSLTKNYFPSKLRW

图4 水稻 *OsMIOX* 的氨基酸序列与拟南芥 *MIOX1* 的氨基酸序列比Fig. 4 Alignment of rice *OsMIOX* and arabidopsis myo-inositol oxygenase

MYCRS

aagagtaggagcaagatgacgggacaccactgctcggggcgtgaggtgctcgtgcatccacagccgtagctcca
 cgccatggtgagtcactcgtcgtcgcctaggataaacccgttcatagtctctctcgtgacgcccggccc
 cacctccagcttccccgggtataaaatccacctcgccttctctcctcctcctcagctcaggcagcagcaaaa
 gcaacgcaataacgcaattgcccgtgctcctcgacctgcatgcaacctctgttcttggcgttgagatacatagaggt
 tgggtgggtgtttaaagaactaagaccggagtaattagcaccctcgtggctaccatcgatctgctctaaagagtga
 ttagatcgagatgaccatcaccat.....

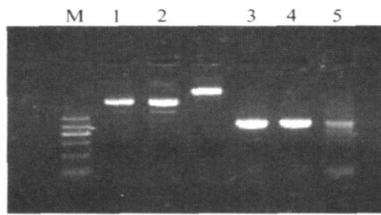
起始密码

图5 水稻 *OsMIOX* 基因的启动子顺式作用元件分析Fig. 5 Cis-acting elements analysis of *OsMIOX*'s

2.3 植物表达载体的构建

为探索 *OsMIOX* 基因的功能,利用 pCAMBIA-1301 构建了 35 s 启动子驱动的植物超表达载体,以期通过转化拟南芥或水稻获得更多有关基因功能的

信息。图6为含有 *OsMIOX* 的重组质粒的 PCR 鉴定结果,重组质粒的 PCR 产物大小与原片段完全一致。将阳性克隆测序,结果表明序列和连接方向是正确的。



M 为 marker(100、300、500、700、900、1 200 bp); 1、2 为大肠杆菌阳性质粒; 3、4 为以大肠杆菌阳性质粒为模板 PCR; 5 为 *OsMIOX* 扩增原始片段

图 6 *OsMIOX* 基因的大肠杆菌阳性质粒 PCR 鉴定

Fig. 6 PCR amplification of recombinant plasmid

2.4 *OsMIOX* 基因的表达分析

OsMIOX 基因是在本实验室前期构建的早稻水分胁迫诱导表达 cDNA 文库中发现的, 因此理论

表 1 定量 PCR 分析 PEG 胁迫处理条件下 *OsMIOX* 基因在早稻 IRAT109 中的表达

Table 1 Comparison of *OsMIOX* gene expression in PEG-treated and non-treated seedlings of IRAT109 by real-time PCR analysis

取样部位	基因名称	PEG 处理			PEG 未处理		
		$C(t)^*$	$C(t)$	$2^{-C(t)}$	$C(t)$	$C(t)$	$2^{-C(t)}$
叶片	<i>OsMIOX</i>	22.172	0.847	0.556	23.740	2.204	0.217
	<i>Tubulin</i>	21.325			21.536		
根	<i>OsMIOX</i>	24.728	0.751	0.594	25.254	2.098	0.234
	<i>Tubulin</i>	23.977			23.156		

注: * $C(t)$ 值是 2 个重复的平均值, 下同。

表 2 定量 PCR 分析 PEG 胁迫处理条件下 *OsMIOX* 基因在水稻和早稻中的表达

Table 2 Comparison of *OsMIOX* gene expression in upland rice and lowland rice seedlings under PEG stress by real-time PCR analysis

水稻品种	基因	PEG 处理叶片			PEG 处理根		
		$C(t)^*$	$C(t)$	$2^{-C(t)}$	$C(t)$	$C(t)$	$2^{-C(t)}$
IRAT109	<i>OsMIOX</i>	22.172	0.847	0.556	24.728	0.751	0.594
	<i>Tubulin</i>	21.325			23.977		
毫格劳	<i>OsMIOX</i>	22.203	1.304	0.405	24.232	0.796	0.576
	<i>Tubulin</i>	20.899			23.436		
越富	<i>OsMIOX</i>	23.709	1.927	0.263	25.118	2.133	0.228
	<i>Tubulin</i>	21.782			22.985		
日本晴	<i>OsMIOX</i>	22.650	1.608	0.328	25.409	2.272	0.207
	<i>Tubulin</i>	21.042			23.137		

3 讨论

1) 肌醇加氧酶参与植物细胞壁的构建, 是 UDP-葡萄糖醛酸生物合成的关键酶, UDP-葡萄糖醛酸是多种植物细胞壁组成物质的前体^[2]。还有

上是受水分胁迫所诱导表达的, 为验证该基因在水分胁迫下的表达模式, 并分析水分胁迫下该基因在水稻和早稻中的表达差异, 采用实时定量 PCR 的方法进行了相关研究。结果表明, PEG 水分胁迫下该基因在早稻 IRAT109 中被上调表达, 与对照相比, 无论在根还是在叶片中表达倍数都在 2.5 以上 (0.556/0.217; 0.594/0.234。见表 1)。PEG 水分胁迫下 *OsMIOX* 基因在水稻和早稻中的表达也有不同, 由表 2 可以看出, 无论在根还是在叶片中, 早稻品种 (IRAT109 和毫格劳) 的 $2^{-C(t)}$ 值都大于水稻品种 (越富和日本晴), 表明 PEG 胁迫条件下该基因在早稻中的表达量要高于水稻。

研究表明, 肌醇加氧酶是植物抗坏血酸生物合成的关键酶^[3]。抗坏血酸在植物体内不仅参与生长发育过程的调节, 还作为抗氧化剂清除活性氧类有害物质^[6], 在低温、干旱和高盐胁迫条件下, 抗坏血酸保护植物的功能均有报道^[7-9]。

目前,还没有水稻 *MIOX* 基因的研究报道,本实验室在前期的研究中发现,在旱稻 IRA T109 中,一个与拟南芥 *MIOX* 基因同源性高达 78% 的表达序列在水分胁迫发生时上调表达。考虑到 *MIOX* 基因的功能,笔者认为这也许是旱稻在水分胁迫发生时加固细胞壁、清除活性氧的一种反应。为了进一步证实该基因在植物抗旱分子机制中的作用,笔者克隆了 *OsMIOX* 的 cDNA 编码区,并构建了植物超表达载体,在拟南芥和水稻中的转化工作正在进行。此外,本研究发现 *OsMIOX* 的启动子含有 MYC 转录因子的识别位点 (MYCRS 元件),而 MYC 转录因子是植物水分胁迫分子反应中依赖 ABA 途径的重要成员。因此,推测 ABA 会诱导 *OsMIOX* 的表达。

2) 在构建表达载体的过程中,采用了一种简便易行的方法:用目标基因直接置换 pCambia-1301 载体的 *GUS* 基因,这样只需通过简单的一次酶切反应和一次连接反应即可完成载体构建过程,这种方法的优点是简便易行,缺点是表达载体中没有 *GUS* 基因,不能通过组织切片显微观察来定位目标基因的表达产物,但仍可满足其他研究的需要,不失为一种快速、高效的载体构建方法。

水稻和旱稻是稻类作物在人工选择和自然选择过程中分化成的 2 大类型,二者主要差别在于抗旱性的不同,水稻是天然“敏旱类型”,需要在完全淹水条件下生长,旱稻则是天然“抗旱类型”,全生育期可不灌水或在干旱严重时辅以适量灌溉,其单位面积灌水量不足水稻的 20%^[10]。*OsMIOX* 是一个水分胁迫应答基因,本次试验对该基因在水稻和旱稻中的核酸序列以及表达模式进行了比较,发现对于所选择的试验材料,虽然该基因的核酸序列在水、旱稻中没有差别,但在水分胁迫条件下的表达模式存在明显差异,即旱稻表达量明显大于水稻,表明水稻和旱稻的水分胁迫分子反应机制的确存在差异,而这种差异很可能就是水、旱稻抗旱性不同的原因之一。

参 考 文 献

- [1] Jantasuriyarat C, Gowda M, Haller K, et al. Large-scale identification of expressed sequence tags involved in rice and rice blast fungus interaction [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138: 105-115
- [2] Kanter U, Usadel B, Guerineau F, et al. The inositol oxygenase gene family of Arabidopsis is involved in the biosynthesis of nucleotide sugar precursors for cell-wall matrix polysaccharides[J]. *Planta*, 2005, 221: 243-254
- [3] Lorence A, Chevone B I, Mendes P, et al. Myo-inositol oxygenase offers a possible entry point into plant ascorbate biosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 2004, 134: 1200-1205
- [4] Wheeler G L, Jones M A, Smirnoff N. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants [J]. *Nature*, 1998, 393: 365-369
- [5] Smirnoff N, Wheeler G L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2000, 35: 291-314
- [6] Sharma P, Dubey R S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. *Plant Growth Regul*, 2005, 46, 209-221
- [7] Mizuno M, Kamei M, Tsuchida H. Ascorbate peroxidase and catalase cooperate for protection against hydrogen peroxide generated in potato tubers during low-temperature storage[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1998, 44: 717-726
- [8] Jiang M, Zhang J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53: 2041-2050
- [9] Huang C, He W, Guo J, et al. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant [J]. *J Exp Bot*, 2005, 56: 3041-3049
- [10] 胡颂平, 周清明. 陆稻抗旱性研究进展[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2001(3): 240-244