

# 香蕉乙二醛酶基因 *MaGLO14* 的克隆 及在非生物胁迫下的功能鉴定\*

刘菊华<sup>1</sup>, 邓成菊<sup>1,3</sup>, 金志强<sup>1,2</sup>, 谢学立<sup>1</sup>, 贾彩红<sup>1</sup>, 张建斌<sup>1</sup>, 徐碧玉<sup>1</sup>  
(1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所//农业部热带生物技术重点开放实验室, 海南海口 571101;  
2. 中国热带农业科学院海口试验站//香蕉研究所, 海南海口 570102;  
3. 云南省红河热带农业科学研究所, 云南红河 661300)

**摘要:** 为研究香蕉乙二醛酶基因的功能, 根据香蕉果实采后早期成熟的抑制缩减杂交文库 (suppression subtractive hybridization library, SSH) 获得的香蕉乙二醛酶基因片段, 首次从香蕉中克隆了乙二醛酶基因的 cDNA 全长, 命名为 *MaGLO14*。该 cDNA 的 ORF 全长 1 074 bp, 编码 358 个氨基酸。BlastX 分析表明, 该基因 cDNA 推导的氨基酸序列与云杉 (ABK22263)、葡萄 (CBI23235)、葡萄柚 (CAB09799)、棉花 (ACJ11750) 和蓖麻 (EEF43857) 有较高的一致性, 分别为 82%、83%、82%、80%、82%。组织特异性表达结果显示, 该基因在香蕉根、茎、叶、花、果实中均有表达。在 NaCl、低温、乙烯利胁迫处理后基因呈现上调表达; 在干旱、涝害胁迫处理后基因呈现下调表达。该基因转化烟草显示能够增强转基因烟草离体叶片耐盐性。

**关键词:** 香蕉; 乙二醛酶; 克隆; 表达分析; 胁迫; 转基因

中图分类号: Q785 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2011) 05-0087-06

## Isolation and Functional Identification of Banana Glyoxalase Gene (*MaGLO14*) Under Various Abiotic Stresses

LIU Juhua<sup>1</sup>, DENG Chengju<sup>1,3</sup>, JIN Zhiqiang<sup>1,2</sup>, XIE Xueli<sup>1</sup>, JIA Caihong<sup>1</sup>, ZHANG Jianbin<sup>1</sup>, XU Biyu<sup>1</sup>

(1. Key laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Ministry of Agriculture//Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China;

2. Haikou Experimental Station//Banana Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 570102, China;

3. Institute of Yunnan Tropical Agricultural Sciences, Honghe 661300, China)

**Abstract:** In order to identify the function of glyoxalase gene in banana, a full length cDNA of glyoxalase gene named *MaGLO14* had been isolated based on the partial sequence cloned by SSH previously from postharvest banana fruit. *MaGLO14* contained a 1 074 bp ORF and encoded 358 amino acids. NCBI Blastx results showed that the deduced amino acid of *MaGLO14* shared identities of 82%, 83%, 82%, 80%, 82% with *Picea sitchensis* (ABK22263), *Vitis vinifera* (CBI23235), *Citrus paradisi* (CAB09799), *Gossypium hirsutum* (ACJ11750), and *Ricinus communis* (EEF43857), respectively. Tissue-specific expression results indicated that *MaGLO14* constitutively expressed in banana root, stem, leaf, flower and fruit. The expression levels were up-regulated under NaCl, chilling and ethephon treatments. The expression levels were down-regulated under drought and waterlogging treatments. And the *MaGLO14* transgenic tobacco leaves showed enhanced salt-tolerance.

\* 收稿日期: 2010-12-06

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目 (CARS-32); 热带生物技术研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (ITBB110202)

作者简介: 刘菊华 (1970年生), 女, 博士, 副研究员; 通讯作者: 徐碧玉; E-mail: biyuxu@126.com

**Key words:** banana; glyoxalase; clone; expression analysis; stress; gene transformation

甲基乙二醛 (Methylglyoxal, MG) 是一种细胞毒素的代谢物, MG 产生于糖酵解、氨基酸分解代谢、丙酮的正常代谢和环境逆境胁迫, 在微生物, 酵母, 动物以及高等植物中都存在<sup>[1]</sup>。甲基乙二醛及其他包括乙二醛等在内的  $\alpha$  羰基醛类可在体内通过糖化作用与蛋白质、核酸形成共价化合物, 生成果糖胺和高度糖化终产物 (advanced glycation end products, AGE), 产生细胞毒性。

乙二醛酶 (glyoxalase, GLO) 途径包括两个酶, 即乙二醛酶 I (GLO I) 和乙二醛酶 II (GLOII), 是一种胞内酶, 普遍存在于各种细胞器中, 尤其是线粒体中, 它的活性贯穿整个生命的始终。生物体内对甲基乙二醛的代谢主要是在 GLO I 的作用下将 MG 和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 缩合生成 S-D-乳酸谷胱甘肽, 降低 MG 的生理活性浓度, 接着在 GLOII 的作用下将 S-D-乳酸谷胱甘肽水解成无毒的 GSH 和 D-乳酸<sup>[2]</sup>。

目前, 在很多植物中分离到乙二醛酶 I, 如大豆<sup>[3]</sup>、苜蓿<sup>[4]</sup>、小麦<sup>[5]</sup>、水稻<sup>[6]</sup>等。乙二醛酶基因的克隆及功能研究也有了相关报道, Bhomkar 等<sup>[7]</sup>用 35 S 启动子启动乙二醛酶 I 基因在烟草中过量表达能增强植株叶片抗衰老的能力, 用夜香树黄叶卷曲病毒 (Cestrum yellow leaf curling virus, CmYLCV) 启动子启动乙二醛酶基因在豇豆中过量表达也能增强转基因植物的抗盐性。Lin 等<sup>[5]</sup>用禾谷镰刀菌侵染麦穗诱导了小麦乙二醛酶 I 基因的表达, 同时也受高浓度的 NaCl 和 ZnCl<sub>2</sub> 的诱导。将小麦乙二醛酶基因转化烟草, 转基因烟草对 100 mmol/L 的 NaCl 和 20 mmol/L 的 ZnCl<sub>2</sub> 具有高度忍耐力。Roy 等<sup>[8]</sup>在拟南芥中用盐诱导启动子 (rd29A) 过量表达芥菜乙二醛酶 I 基因, 转基因拟南芥能在 150 mmol/L 的 NaCl 胁迫下正常存活。Singla-Pareek 等<sup>[6]</sup>研究指出在水稻中过量表达水稻乙二醛酶 II 基因, 转基因水稻乙二醛酶 II 的活性维持在一个很高的水平, 并表现出对盐和 MG 胁迫的忍耐力, 且在盐胁迫下表现出持续生长和维持良好的离子平衡。但总体从植物中克隆的乙二醛酶基因数量较少, 除了耐盐性以外, 其它功能了解甚少。

香蕉是重要的热带水果之一, 是喜高温, 怕低温的作物, 温度和水分是香蕉分布的主要限制因子。温度首先影响香蕉的生长速度, 当气温低于 15 °C 时, 香蕉的生长会受到很大的影响, 当气温低于 10 °C 时, 生长就会受到抑制。香蕉无主根,

而且是肉质根, 叶面积大, 生长期对水的需求量也大, 但是香蕉的根系生长与活动需要充足的氧气, 这决定了香蕉喜湿热气候, 在土层深、土质疏松、肥沃、排水良好的地里生长比较旺盛。然而, 由于全球异常气候的增多, 香蕉处于高温、低温、干旱、盐碱、风害等逆境的时间也增多, 这严重影响了香蕉产量并制约着香蕉产业的发展。

本实验室采用抑制缩减杂交 (suppression subtractive hybridization, SSH) 方法分离了在香蕉采后成熟早期差异表达的低丰度 cDNA 序列, 获得 289 个重组克隆<sup>[9]</sup>。NCBI BlastX 结果显示, 其中有一个 496 bp 的片段与其他物种的 GLO 基因序列相似。本研究通过 RACE 技术, 获得了 *MaGLO14* 全长, 通过对该基因在不同逆境处理下的表达分析及转化烟草研究其与香蕉非生物胁迫的关系及可能的功能。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

香蕉根、茎、叶、花、果实均来自中国热带农业科学院热带生物技术研究所香蕉种植园。将采收的根、球茎、叶、花用无菌水清洗并用  $w = 1\%$  的次氯酸钠表面消毒, 立即在液氮中冷冻。将采收的香蕉果实立即切割成单果指, 用无菌水清洗并用  $w = 1\%$  的次氯酸钠表面消毒, 放入 22 °C 恒温箱正常成熟。当天处理的果实即为采后 0 d, 隔 2 d 取材, 将样品切割成块立即用液氮冷冻, 放入 -70 °C 冰箱中保存, 以备 RNA 的提取。

### 1.2 方法

1.2.1 香蕉根、茎、叶、花、果实 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成 按照 Wan 和 Wilkins<sup>[10]</sup>的方法, 从香蕉根、茎、叶、花和采后不同时间的果实中提取总 RNA。每个样品取 4  $\mu$ g RNA, 利用 Invitrogen SuperScript<sup>TM</sup> III Reverse Transcriptase 合成 cDNA 第一链。

1.2.2 *MaGLO14* cDNA 克隆 根据 SSH 文库所获得的该基因的片段设计了 5'-RACE 引物 (5' AA-GAAGCTCCATACCAAATGC 3') 和 3'-RACE 引物 (5' ATAGCGATGATGGGATACGGT 3'), RACE PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 1 min; 94 °C 变性 5 s, 68 °C 退火 10 s, 循环 35 次; 72 °C 延伸 13 min。

参照美国 Clontech 公司的 SMART<sup>TM</sup> RACE cDNA Amplification Kit 试剂盒说明书, 以香蕉采后正常成熟 2 d 的 RNA 反转录的 cDNA 第一链为模板,

利用 RACE 技术克隆 *MaGLO14* cDNA 的 5' 和 3' 端。PCR 产物经  $w = 1\%$  琼脂糖凝胶电泳，切胶回收该片段，连接到 pMD18-T 载体，热激转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ，挑单菌进行 PCR 鉴定。将鉴定的阳性克隆测序，通过序列比对和拼接得到基因全长 cDNA 序列。

再根据拼接序列设计 5' 引物 (5'-TACGCCATGGGACGAGGTCCAAGACAGGA 3') 和 3' 引物 (5'-ATGTACTAGTGATAACAAGGGCGGAATAC 3')，以香蕉果实正常成熟 2 d 的 cDNA 第一链为模板，克隆 *MaGLO14* 的全长 cDNA。

1.2.3 *MaGLO14* 在香蕉不同器官的表达分析 以香蕉根、茎、叶、花和果实采后 2 d 的 cDNA 为模板，采用 RT-PCR 方法对其进行器官特异性表达分析。

*MaGLO14* 的 RT-PCR 引物为 5' 引物 (5'-GGAAAGGTCCATCAAGTT3') 和 3' 引物 (5'-ACAGGGCAATCTCAGGTA3')。内参 *Actin* 选用 NCBI 上已登录的香蕉 *Actin* 基因 (基因登陆号: EF672732)，引物为 P1 (5'-CGAGGCTCAATCAAGA-3') 和 P2 (5'-ACCAGCAAGGTCCAAAC-3')。RT-PCR 的反应程序如下: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 15 s, 56 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 20 s, 循环 30 次; 72 °C 延伸 10 min。

1.2.4 RT-PCR 检测 *MaGLO14* 在香蕉非生物胁迫下的表达 将五叶一心的香蕉幼苗进行干旱<sup>[11]</sup>、盐胁迫<sup>[12]</sup>、低温<sup>[13]</sup>、涝害胁迫 (将香蕉幼苗根部全部浸入水中，淹水处理 6, 12, 24, 36 h, 定期取直径为 1 mm 左右白色新嫩根，迅速吸干根表面水分，立即液氮速冻，置于 -70 °C 冰箱保存备用。以淹水处理 0 h 的样品为对照。) 和乙烯利 (用  $\varphi = 40\%$  的乙烯利稀释 200 倍喷洒香蕉幼苗，直到叶尖滴下液滴为止，按照 6、12 和 24 h 取样，切成小块置于液氮中速冻，保存于 -70 °C。) 等不同的非生物胁迫处理，提取不同处理条件下不同处理阶段的幼苗叶片或根的 RNA，反转录成 cDNA 第一链后作为模板。所用的 *MaGLO14* 引物和内参 *Actin* 1 引物、RT-PCR 反应程序同 1.2.3。

1.2.5 *MaGLO14* 转化烟草及鉴定 以 pCAMBIA1304 载体为基础，将不包含终止密码子的 *MaGLO14* 的 cDNA 片段插入到 35 S 启动子的下游，GFP 基因的上游，使 *MaGLO14* 与 GFP 形成融合蛋白，由 35 S 启动子启动表达。命名为 pCAMaGLO14。烟草转化参考 Singla-Pareek 方法。以植物表达载体 pCAMaGLO14 中的 *MaGLO14* 基因序列设

计 5' 端引物，绿色荧光蛋白基因上设计 3' 端引物，进行转化植株的 PCR 检测，引物的扩增片段大小为 1 047 bp。在 PCR 检测阳性植株中随机挑选 6 株，提取其基因组 DNA，用 *EcoRI* 对其进行酶切，标记 *MaGLO14* 接近 3' 端一段 cDNA 序列作为探针，进行 Southern blot 分析。

挑选 Southern blot 信号最强的编号 5 号的转基因烟草，参照 Singla-Pareek (2007) 方法进行体外叶片耐盐实验。

## 2 结果和分析

### 2.1 *MaGLO14* cDNA 克隆与生物信息学分析

根据 RACE 扩增结果拼接获得全长 1 286 bp 的序列，通过 ORF Finder 和 GENSCAN 软件分析表明该 cDNA 序列有一个翻译起始密码子 ATG，相同读码框内有一个终止密码子 TGA，表明此序列具有一个完整的 ORF，编码 358 个氨基酸。随后，设计 2 条引物，从正常成熟 2 d 的 RNA 反转录的 cDNA 第一链模板中克隆到 1 195 bp 的基因全长。

BlastX 分析表明，*MaGLO14* 基因属于乙二醛酶 I 类基因，其推导的氨基酸序列与云杉 (ABK22263)、葡萄 (CB123235)、葡萄柚 (CAB09799)、棉花 (ACJ11750) 和蓖麻 (EEF43857) 有较高的一致性，分别为 82%、83%、82%、80%、82% (图 1)。

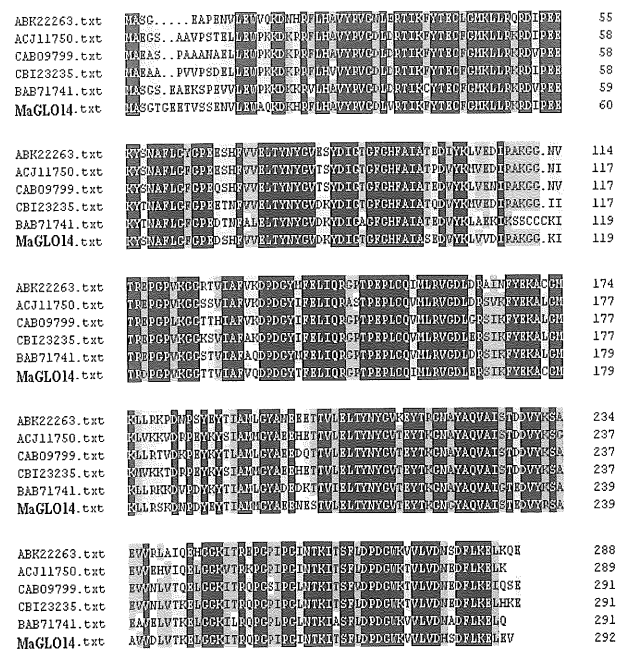


图 1 不同植物的 *MaGLO14* 基因推导的氨基酸序列比较  
Fig. 1 Deduced amino acid sequences alignments of *MaGLO14* in some plants

分子进化树分析表明, *MaGLO14*cDNA 推导的氨基酸序列与云杉的进化关系最近, 与芸苔、葡萄柚、毛果杨、葡萄、棉花的进化关系次之, 与苜蓿、拟南芥、蓖麻的进化关系最远 (图 2)。

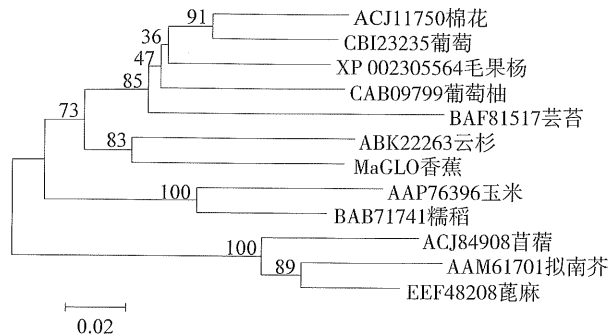


图 2 *MaGLO14* 的分子进化树分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of some plant *MaGLO14* proteins

## 2.2 *MaGLO14* 器官特异性表达分析

从图 3 可知, *MaGLO14* 基因在香蕉根、茎、叶、花、果实中均有表达。是一个组成型表达的基因, 推测该基因可能在香蕉的不同器官中发挥作用。

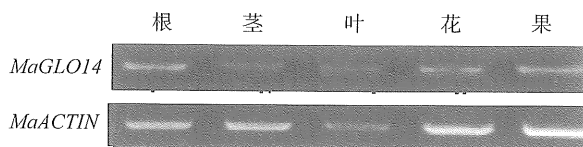


图 3 *MaGLO14* 的器官特异性表达分析

Fig. 3 Expression of *MaGLO14* in different organs

## 2.3 RT-PCR 检测 *MaGLO14* 在不同非生物胁迫处理下的表达

图 4 表明, *MaGLO14* 在干旱胁迫诱导条件下呈现下调表达, 表达水平与干旱处理的时间没有明显的相关性; 300 mmol/L 的 NaCl 胁迫下, 处理 2 h, *MaGLO14* 表达略有降低, 处理 4 h 时该基因表达达到一个峰值, 随后又下降; 温度从常温降低到 10 °C, *MaGLO14* 的表达没有明显的差异, 但随着温度的进一步降低到 7 °C、5 °C, 基因的表达水平明显上升达到较高水平; 在涝害 (即缺氧) 胁迫下, 基因呈现下调表达; 乙烯利处理香蕉幼苗, 处理后 6 h, 基因表达增强, 处理 12 h 后表达达到峰值, 处理 24 h 后基因表达略有下降, 但还保持在较高水平。

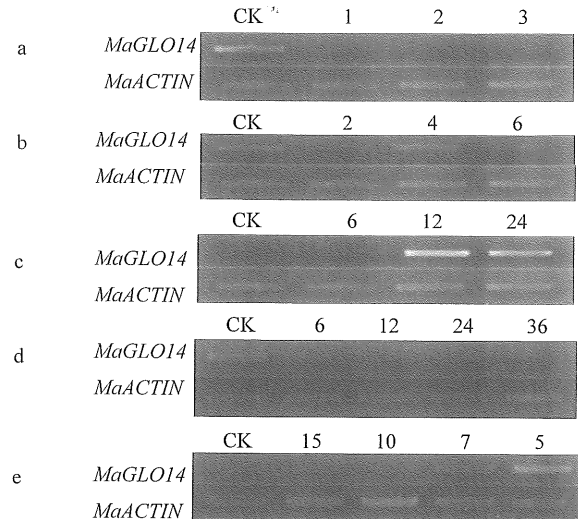


图 4 *MaGLO14* 在不同非生物胁迫下的表达分析

Fig. 4 Expression of *MaGLO14* in different abiotic stresses  
a: 干旱, CK: 80 % (正常水分处理); 1:60 % (轻度干旱处理); 2: 45 % (中度干旱处理); 3: 35 % (严重干旱处理); b: 盐, CK、2、4、6 分别为处理 0、2、4、6 h 的样品; c: 乙烯利, CK、6、12、24 分别为处理 0、6、12、24 h 的样品; d: 涝害, CK、6、12、24、36 分别为处理 0、6、12、24、36 h 的样品; e: 冷害, CK、15、10、7、5 分别为处理 25、15、10、7、5 °C 的样品。

## 2.4 转 *MaGLO14* 烟草分子检测及耐盐鉴定

PCR 检测共获得 36 株阳性烟草植株。随机挑选 6 株进行 southern blot 鉴定, 结果显示 2、4、5、6 株系检测到了杂交信号, 表明 *MaGLO14* 已整合到这 4 个植株的基因组中 (图 5)。用去离子水作为对照与 400 mmol/L 和 800 mmol/L 的 NaCl 溶液分别处理野生型烟草和编号为 5 的转基因烟草离体叶片, 结果显示用 400 mmol/L 和 800 mmol/L 的 NaCl 的溶液处理烟草叶片, 处理 2 d 转基因植株的叶片受伤害的程度明显比野生型轻, 800 mmol/L 的 NaCl 的溶液处理的野生型烟草叶片有轻微失绿和明显褐化斑点, 受伤害程度最重。处理 3 d, 野生型烟草叶片呈现失绿和严重褐化, 而转基因的烟草叶片只是因为渗透失水而表现为叶盘上卷, 并没有表现明显的组织坏死 (图 6 a)。RT-PCR 检测 400 mmol/L 和 800 mmol/L 的 NaCl 溶液处理烟草叶片 *MaGLO14* 表达, 转基因烟草基因表达量明显增强 (图 6 b)。

同时测定其叶绿素的含量, 转基因烟草和野生型烟草用不同浓度的 NaCl 溶液处理离体叶片 2 或 3 d, 转基因烟草叶绿素含量明显比野生型烟草叶绿素含量高 (图 7)。

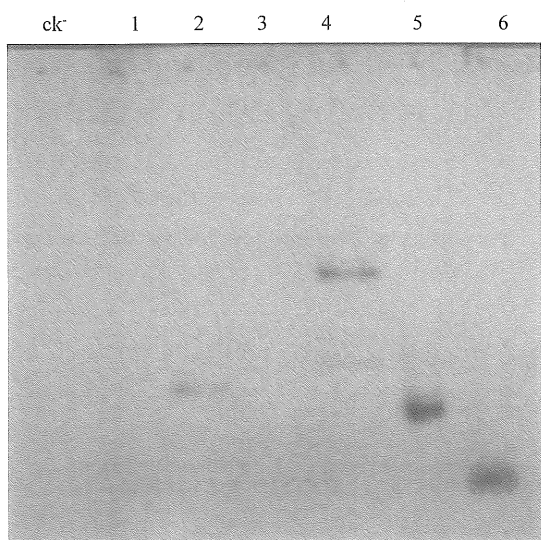


图 5 转 *MaGLO14* 的烟草植株的 Southern blot 分析  
Fig. 5 Southern blot analysis of *MaGLO14* transformed tobacco plants  
ck<sup>-</sup>: 阴性对照; 1-6: 6 个转基因株系

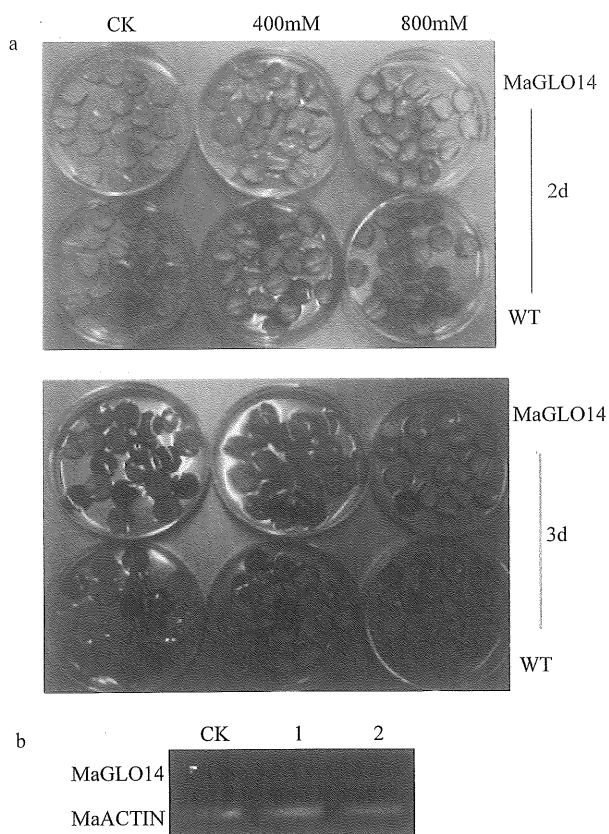


图 6 转 *MaGLO14* 的烟草植株叶片的耐盐性分析  
Fig. 6 Analysis of NaCl-tolerance for transgenic tobacco leaves  
a: NaCl 溶液处理野生型和转基因烟草离体叶片后的表型; b: 不同 NaCl 溶液处理的转基因烟草离体叶片中 *MaGLO14* 的表达分析. 1: 400 mmol/L NaCl 处理; 2: 800 mmol/L NaCl 处理; CK: 未经处理的阴性对照

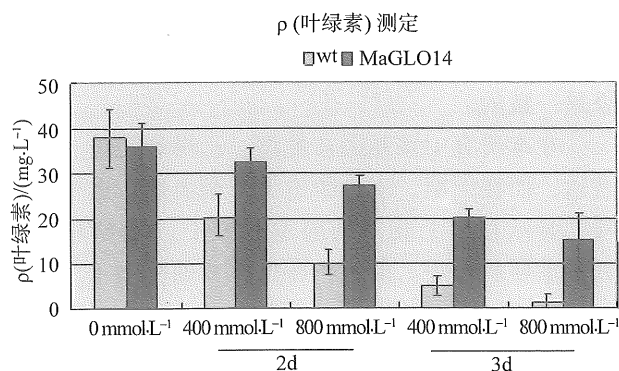


图 7 转 *MaGLO14* 的烟草和野生型植株叶片的叶绿素质量浓度分析  
Fig. 7 chlorophyll analysis of transgenic tobacco plants leaves

### 3 讨论

根据生物信息学分析结果, 本研究所分离得到的 *MaGLO14* 基因在分子进化上与云杉具有较亲的关系, 其推导的氨基酸序列与芸杉、芸苔、葡萄、葡萄柚、棉花等都具有较高的相似性。采用 PredictProtein 软件分析发现该基因存在 *Glyoxalase I* 的极为保守结构域, 此外还具有 3 个酪氨酸激酶磷酸化位点、4 个酪氨酸激酶 II 磷酸化位点、1 个糖基化位点、2 个蛋白激酶 C 的磷酸化位点和 4 个豆蔻酰化位点<sup>[14]</sup>。这些功能性位点的存在是 *MaGLO14* 基因行使其正常的生理功能所必需的。

植物乙二醛酶基因的功能研究主要集中在耐盐方面。Espartero 等研究了编码番茄的一个乙二醛酶 I 基因 *GLX1*, 用 NaCl 胁迫处理番茄植株, 根、茎、叶中该基因在 mRNA 和氨基酸水平上提高了两到三倍<sup>[15]</sup>。Lin 等用 100 mmol/L 的 NaCl 处理小麦幼苗, 乙二醛酶基因表达比用水处理表达量约高两倍。在转基因方面也证实该基因具有增强植物耐盐性<sup>[5]</sup>。植物在胁迫条件下保持叶绿素含量的能力可以作为植物受到伤害的一个指标。Singla-Pareek 等在烟草中过量表达芥菜乙二醛酶 II 基因, 转基因烟草比野生型烟草具有更强的耐盐能力, 用 400 mmol/L 和 800 mmol/L 的 NaCl 处理离体叶片, 野生型烟草比转基因烟草叶绿素降解更快<sup>[6]</sup>。Bhomkar 等在豇豆中过量表达芥菜乙二醛酶 I 基因, 用 NaCl (400 与 600 mmol/L) 处理离体豇豆叶片转基因豇豆叶片衰老比野生型豇豆衰老慢, 叶绿素降解也比野生型慢<sup>[7]</sup>。我们转 *MaGLO14* 烟草在氯化钠处理下基因上调表达, 转基因烟草离体叶片氯化钠处理结果也显示比野生型烟草具有更高的忍耐力, 转基因烟草盐胁迫下比野生型烟草叶片含有

更高的叶绿素。说明香蕉的 *MaGLO14* 过量表达以后确实可以提高植物的耐盐性, 这与前人的研究结果是一致的。

在本研究中该基因在低温、乙烯胁迫下上调表达, 而在干旱、水分胁迫下下调表达。这些表达特性显示在以上相关的胁迫过程中, *MaGLO14* 都具有重要的作用。而这些特性在其他植物乙二醛酶 I 的研究中尚未见报道, 我们推测这可能和乙二醛酶 I 作用底物的非专一性有关, 如甲基乙二醛、羧基丙酮醛、磷酸化羧基丙酮醛、乙二醛、苯甲酰乙二醛和许多其他的带有烷基和芳香基团的醛类都是它的底物<sup>[2]</sup>, 具体机理还有待进一步研究。

为了进一步验证香蕉 *MaGLO14* 在非生物胁迫下的功能, 我们通过将其转化到酵母中进行了验证, 在盐胁迫、水分胁迫、干旱胁迫、低温胁迫和紫外胁迫下都增强了酵母的存活率<sup>[16]</sup>。这些研究将对进一步利用该基因进行抗性育种具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] SINGLA-PAREEK S L, REDDY M K, SOPORY S K. Genetic engineering of the glyoxalase pathway in tobacco leads to enhanced salinity tolerance [J]. PNAS, 2003, 100(25):14672-14677.
- [2] THORNALLEY P J. The glyoxalase system: New developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life [J]. Biochem J, 1990, 269:1-11.
- [3] PAULUS C, KOLLNER B, JACOBSEN H. Physiological and biochemical characterization of glyoxalase I, a general marker for cell proliferation, from a soybean cell suspension [J]. Planta, 1993, 189:561-566.
- [4] CHAKRAVARTY T N, SOPORY S K. Blue light stimulation of cell proliferation and glyoxalase I activity in callus cultures of *Amaranthus paniculatus* [J]. Plant Sci, 1998, 132:63-69.
- [5] LIN F, XU J, SHI J, et al. Molecular cloning and characterization of a novel glyoxalase I gene TaGly I in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(2):729-35.
- [6] SINGLA-PAREEK S L, YADAV S K, PAREEK A, et al. Enhancing salt tolerance in a crop plant by overexpression of glyoxalase II [J]. Transgenic Research, 2007, 17(2):171-180.
- [7] BHOMKAR P, UPADHYAY C P, SAXENA M, et al. Salt stress alleviation in transgenic *Vigna mungo* L. Hepper (blackgram) by overexpression of the glyoxalase I gene using a novel *Cestrum* yellow leaf curling virus (CmYLCV) promoter [J]. Mol Breeding, 2008, 22(2):183-184.
- [8] ROY S D, SAXENA M, BHOMKAR P S, et al. Generation of marker free salt tolerant transgenic plants of *Arabidopsis thaliana* using the gly I gene and cre gene under inducible promoters [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2008, 95(1):1-11.
- [9] XU B Y, SU W, LIU J H, et al. Differentially expressed cDNAs at the early stage of banana ripening identified by suppression subtractive hybridization and cDNA microarray [J]. Planta, 2007, 226:529-539.
- [10] WAN C Y, WILKINS T A. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high quality RNA from cotton [J]. Analytic Biochemistry, 1994, 223(3):7-12.
- [11] 单长卷. 土壤干旱对燕麦 21 根、冠生长的影响 [J]. 河南农业科学, 2009, 2:31-33.
- [12] RODRIGUES S M, ANDRADE M O, GOMES A P, et al. *Arabidopsis* and tobacco plants ectopically expressing the soybean antiquitin-like ALDH7 gene display enhanced tolerance to drought, salinity, and oxidative stress [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(9), 1909-1918.
- [13] 赵冬芹, 李晓娜, 周绮婷. 植物生理实验教学中“高温和低温对植物伤害”实验的三种最佳条件初探 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(4):762.
- [14] 谢学立. 香蕉果实成熟相关基因的克隆与表达分析 [D]. 海南: 华南热带农业大学, 2007: 79.
- [15] ESPARTERO J, SANCHEZ-AGUAYO I, PARDO J M. Molecular characterization of glyoxalase-I from a higher plant; upregulation by stress [J]. Plant Mol Biol, 1995, 29(6):1223-1233.
- [16] 邓成菊, 张建斌, 贾彩红, 等. 香蕉乙二醛酶基因增强酿酒酵母对非生物胁迫抵抗能力的研究 [J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(8):22-26.