

植物多胺代谢途径研究进展

刘颖¹, 王莹², 龙萃¹, 张志毅¹, 庞晓明¹

1 北京林业大学林木育种国家工程实验室 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083

2 暨南大学生物工程学系, 广州 510632

摘 要: 多胺是一类小分子生物活性物质, 广泛存在于生物体内, 与植物的生长发育、衰老及抗逆性都有着密切的联系。目前, 在植物中的多胺合成途径已经基本揭示, 其生理作用在分子水平上逐步得到阐明。对多胺合成突变体和各种转基因植物的研究也使得人们更深入地了解了多胺以及其合成代谢相关酶在植物生长发育等生理过程中的重要作用。以下概述了植物多胺代谢途径, 重点综述了代谢途径中各基因的功能及遗传操作的最新进展, 并对将来的研究方向尤其是相关基因在植物抗逆境 (包括生物和非生物逆境) 基因工程方面的应用作了讨论。

关键词: 多胺, 代谢途径, 生物合成途径, 抗病性, 亚精胺合成酶

Metabolic pathway of polyamines in plants: a review

Ying Liu¹, Ying Wang², Cui Long¹, Zhiyi Zhang¹, and Xiaoming Pang¹

1 National Engineering Laboratory of Tree Breeding, Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 Department of Bioengineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: Polyamine is an important physiological regulation substance functioning in a wide variety of biological processes, such as plant growth, development, senescence and adversity stress tolerance, which widely exist in all living organisms. Their biosynthetic pathways have already been revealed, and their physiological roles are being elucidated gradually. Previous work on polyamines biosynthetic deficiency mutants and various transgenic plants facilitates improved understanding of the important roles of polyamines and biosynthetic enzymes in plant growth and development. This paper summarizes researches in the biosynthetic pathways of polyamines in plants, focusing on research advances on functions of genes involved in polyamine metabolism. In addition, the potential research directions, especially the application of the genes in the genetic engineering of plant stress tolerance were also discussed.

Keywords: polyamines, metabolic pathway, biosynthetic pathways, disease resistance, spermidine synthase

Received: June 2, 2010; **Accepted:** September 21, 2010

Supported by: Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. BLYX200924), National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2009AA10Z107).

Corresponding author: Xiaoming Pang. Tel: +86-10-62336269; E-mail: xmpang@163.com

中央高校基本科研业务费专项资金 (No. BLYX200924), 国家高技术研究发展计划 (863 计划) (No. 2009AA10Z107) 资助。

多胺 (Polyamine, PAs) 是一类存在于原核生物及真核生物中的具有强生物活性的低分子脂肪族含氮碱。在植物中, 它们不仅参与了各种生长发育过程^[1], 还与抗逆性密切相关^[2]。随着生物科学技术的迅速发展, 新的实验手段和仪器相继出现, 多胺的生理作用和功能也被进一步发现。高等植物体内含有的多胺主要有: 腐胺(Put)、亚精胺 (Spd)、精胺 (Spm)、尸胺 (Cad) 及鲛精胺(Agm)等。除常见的多胺外, 生物体内还存在着稀有多胺, 如降精胺 (Nspdm)、降亚精胺 (Nspdp)、高精胺 (Hspm)、高亚精胺 (Hspdp) 和热精胺 (Tspm) 等。以前一直认为稀有多胺只存在于微生物体内^[3], 直到后来人们才陆续地在高等植物体内发现稀有多胺的存在^[4]。此外, 除以上几种稀有多胺, Hamana 等^[5]还在萍蓬草中发现了稀有多胺 N,N'-二(3-氨基丙基)-1,2-乙二胺($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$), 在菱角中首次发现了 N⁴-甲基亚精胺($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$)。

目前, 多胺的主要代谢和调节途径已基本揭示^[6], 与植物多胺生物合成相关的酶的基因相继被克隆, 并且获得了一些转基因植物^[7], 同时也得到了一些多胺合成突变体, 对这些转基因植物和突变体的研究使得人们更深入地了解了多胺及其合成代谢相关酶在植物生长发育等生理过程中的重要作用。

1 多胺在植物体内的代谢

1.1 多胺的生物合成

在大部分的生物体内, 多胺的合成始于腐胺的合成, 精氨酸先脱去一分子脲生成鸟氨酸, 再由鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 催化脱羧, 生成腐胺。在植物和某些微生物体内, 精氨酸被精氨酸脱羧酶 (ADC) 催化脱羧, 生成鲛精胺, 再经两步酶促反应, 脱去一分子氨, 由 N-氨甲酰腐胺而生成腐胺。腐胺在亚精胺合成酶 (SPDS) 的催化下生成亚精胺, 亚精胺一方面经精胺合成酶 (SPMS) 催化生成精胺, 另一方面经热精胺合成酶 (ACL5) 催化生成热精胺。反应过程中的氨丙基由 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶

(SAMDC) 催化 S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 脱羧产生的脱羧 S-腺苷蛋氨酸 (dcSAM) 提供, 整个合成代谢途径如图 1 所示。

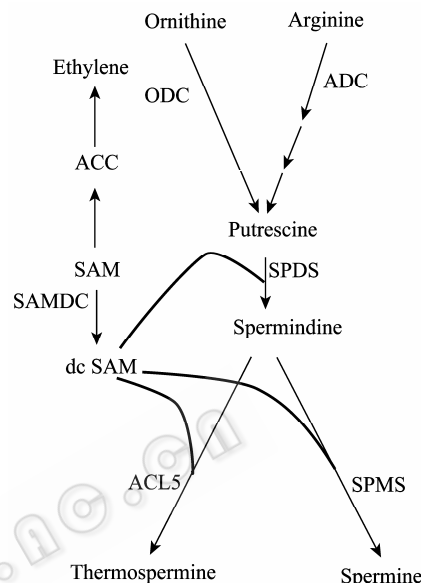


图 1 植物主要多胺生物合成途径及与之相关的合成酶

Fig. 1 Biosynthetic pathways of polyamines in plants. ACC: 1-aminocyclopropane carboxylic acid; SAM: S-adenosylmethionine; dcSAM: decarboxylated S-adenosylmethionine; SAMDC: S-adenosylmethionine decarboxylase; ADC: arginine decarboxylase; ODC: ornithine decarboxylase; SPDS: spermidine synthase; ACL5: thermospermine synthase; SPMS: spermine synthase.

1.2 多胺的分解代谢

多胺的分解代谢是通过二胺氧化酶 (DAO) 和多胺氧化酶 (PAO) 的氧化作用实现的。二胺氧化酶是一类含铜酶, 催化二胺腐胺和尸胺氧化分解, 它催化腐胺生成 4-氨基正丁醛、 H_2O_2 和氨。DAO 在双子叶植物中含量水平较高, 但至今仅在少数几个物种中发现其编码基因^[8]。与 DAO 不同, PAO 以非共价键与 FAD 相连, 在单子叶植物中有较高的水平^[9]。PAO 有多个家族, 它们的作用或是氧化多胺生成代谢终产物, 或是催化多胺合成的逆反应。第 1 类 PAO, 如小麦 PAO, 催化亚精胺和精胺氧化分解分别生成 4-氨基正丁醛或 3-氨基丙基-4-氨基正丁醛, 同时生成 1,3-丙二胺 (Dap) 和 H_2O_2 ^[8]。第 2 类 PAO,

如拟南芥 PAO1 和 PAO4, 类似于哺乳动物精胺氧化酶 (SMO), 催化精胺生成亚精胺, 拟南芥 PAO3 可以催化精胺生成亚精胺, 再生成腐胺^[10]。第 3 类 PAO 也具有相似的多胺氧化酶结构域, 但并不催化多胺的脱氨基作用^[10]。

多胺的代谢与植物体内许多其他代谢途径有着密切的联系, 包括信号分子的生成和植物胁迫下的应激反应等。多胺合成途径中的 S-腺苷蛋氨酸同时也是乙烯合成的前体, 它在 ACC 合成酶 (ACS) 的催化下生成 1-氨基环丙烷羧酸 (ACC), 再经 ACC 氧化酶 (ACO) 作用生成乙烯, 许多研究显示多胺和乙烯的合成存在竞争作用^[11-13]。多胺的代谢也影响着植物体内 NO 的产生^[14], 这使得多胺与其他介导植物应激反应的物质联系起来。此外, 多胺氧化产生的 H₂O₂ 与植物在生物与非生物胁迫中的信号传递^[15]、脱落酸诱导的气孔关闭^[8,16]等都有着密切的联系。因此, 将多胺在植物体内的代谢与植物激素以及信号物质的作用联系起来, 对于研究多胺在植物生长发育、逆境胁迫中的作用是很有意义的。

2 多胺代谢途径中基因的功能

从多胺的生物代谢途径中可以看出, 精氨酸脱羧酶 (ADC)、鸟氨酸脱羧酶 (ODC)、S-腺苷蛋氨酸脱羧酶 (SAMDC)、亚精胺合成酶 (SPDS)、精胺合成酶 (SPMS) 和热精胺合成酶 (ACL5), 以及二胺氧化酶 (DAOs) 和多胺氧化酶 (PAOs) 都是植物体内多胺合成和分解代谢过程中的关键酶, 关于这些关键酶的基因克隆、定位及其表达分析将有助于人们从分子水平上揭示多胺调控高等植物生长发育的本质, 并可能通过转基因手段调控植物的生长发育。

2.1 精氨酸脱羧酶基因

精氨酸脱羧酶 (ADC) 催化底物精氨酸合成亚精胺, 继而转化为腐胺。利用多抗免疫检测烟草中精氨酸脱羧酶的分布, 结果发现其在烟草所有的器官中均存在^[17]。关于 ADC 基因的研究普遍显示它的

表达与植物在盐胁迫、干旱胁迫下的反应有关, 主要是提高了腐胺的积累量。当野生型拟南芥遭受干旱或盐胁迫时, 受胁迫诱导的精氨酸脱羧酶基因 (*AtADC2*) 可以调节植株体内腐胺的积累量^[18], 而 *AtADC2* 突变体对盐胁迫敏感, 外源施加腐胺可以缓解。LIU 等^[19]研究发现苹果愈伤组织在盐胁迫下虽然腐胺含量增加, 但只有外源施加腐胺才能够缓解胁迫带来的损伤, 作者推测这可能是由于内外源腐胺具有不同的代谢区室所造成的, 但也有人认为是由于内源的腐胺并未达到向亚精胺和精胺转化的临界值, 因而不能起到保护植物的作用^[20]。ADC 基因在多种植物和微生物中都被克隆出来^[21-22], 但从不同植物中克隆的 ADC 基因及其编码的蛋白不完全相同。ADC 基因 mRNA 具有较长的非翻译序列, 如番茄的 ADC 基因 3'端有 530 bp 的非转录区^[21], 而豌豆 ADC 基因的 mRNA 非翻译区前导序列达到了 557 bp^[22]。此外, ADC 基因 mRNA 的含量在环境胁迫下变化不大^[23], 而精氨酸脱羧酶活性升高很多, 这也与 Liu 等^[13]在桃果实成熟过程中观察到的 ADC 的表达与 ADC 活性变化关系结果一致, 因此可以推测 ADC 的前导序列有可能是调控 ADC 反应的识别区, 在翻译水平上调节基因的表达, 这说明 ADC 可能存在翻译后的调节。多项转基因的研究结果显示, 过表达 ADC 基因可以提高植物的抗盐性和抗旱性, 如 Roy 和 Wu^[24]以诱导型启动子构建燕麦 ADC 基因载体, 导入水稻植株, 获得的转基因植株抗盐性明显提高。Capell 等^[20]研究发现过表达曼陀罗 ADC 基因的水稻, 亚精胺和精胺水平提高, 耐旱性增强。但是, 也有研究显示植物体内过高的 ADC 水平对植物生长不利, 转燕麦 ADC 基因的水稻, 在诱导型启动子的控制下表现出抗旱性, 但是组成型的表达严重影响其生长发育^[25], 这可能是由于产生了过多的腐胺, 对植物体造成了毒害。拟南芥中过表达 *AtADC2*, 出现了矮化、赤霉素 (GA) 缺乏和开花迟等现象, 表明腐胺的增加抑制了赤霉素的合成^[26]。在柑橘中过表达来源于枳的 *PtADC* 基因导致矮化、叶片

气孔密度变低,并极显著地提高了对溃疡病的抗性^[27]。

2.2 鸟氨酸脱羧酶基因

鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 广泛存在于动物组织细胞,是一种磷酸吡哆醛依赖性酶,催化鸟氨酸直接生成腐胺。ODC 基因在某些植物中表达并不明显, Hanfrey 等^[28]在烟草的悬浮培养细胞中就没有检测到 ODC 的活性,在拟南芥中甚至并未发现 ODC 基因。现已发现的不同植物中的 ODC 基因有着较高的同源性,乔梦吉^[29]从桤柳中分离了 ODC 片段,片段序列与辣椒等植物 ODC 基因的序列一致性在 87% 以上。现有的研究表明,ODC 基因主要在旺盛分裂的分生组织及繁殖器官中大量表达, Tiburcio 等^[30]发现 ODC 是在番茄果实成熟前期多胺合成的关键酶,最近的研究又在根冠、皮层薄壁细胞、中柱的膨大细胞中发现 ODC 的转录物,表明 ODC 与细胞的膨胀有关。ODC 的表达在桃果实成熟过程中与 ADC 有相似的趋势^[13],而在非生物胁迫下,其变化趋势与 ADC 不尽相同^[22,26]。出乎意料的是,ODC 基因在苹果各组织包括果实中的表达量非常低,用地高辛标记进行 Northern 杂交检测不到 ODC 的表达^[31]。RT-PCR 也未检测到其表达,尝试多种方法未能获得其全长基因 (庞晓明,未发表资料)。研究显示,ODC 基因在受到生物胁迫^[32]或损伤^[33]时,其转录水平会有所上升。Yoo 等^[33]根据辣椒 *CaODCI* 基因的研究提出 ODC 基因可能参与不依赖于水杨酸,而依赖于茉莉酸或乙烯的抗病毒和细菌的途径。关于 ODC 基因的转化实验也有报道,在烟草中组成型表达小鼠的 ODC 基因,提高了腐胺的含量,转基因植物抗盐性提高^[34],但是过高的 ODC 活性使得植物体内腐胺过度积累,从而影响了植物的正常生长^[35]。也有实验显示高表达的 ODC 基因 mRNA 和酶水平并不能引起体内多胺含量成比例的增高^[36],这也进一步说明了基因表达量的高低和酶活性的强弱同时受到其他许多因素的共同调节。

2.3 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶基因

S-腺苷蛋氨酸脱羧酶 (SAMDC) 催化 S-腺苷蛋

氨酸生成脱羧 S-腺苷蛋氨酸,为多胺的生成提供氨基。动物 SAMDC 很早就被纯化且基因得到鉴定,但由于植物与动物的同源性较低,直到 1994 年 Arif 等^[37]才在马铃薯上克隆出 SAMDC 基因。随后又在火炬松^[38]、桃^[13]等许多木本植物中得到克隆,林佳^[39]从柑橘愈伤组织中分离获得 SAMDC 基因片段。植物的 SAMDC 基因有很长的 5'非翻译区 (5'-UTR),其中有 2 个重叠的开放阅读框 (uORFs) 即微小 uORF 和小 uORF,小 uORF 在植物中是保守的,研究表明小 uORF 编码的多肽在多胺过多的情况下会抑制主 uORF 的翻译,而在多胺水平过低的情况下,微小 uORF 可以抑制小 uORF 的表达,从而使得主 uORF 的得到翻译,调节植物体内多胺含量^[40],从 SAMDC 基因的翻译调控模式可以看出它的翻译调节对植物体内多胺的稳态有着重要的作用。研究发现,在低温胁迫中、胁迫后的愈伤组织中 SAMDC 的表达量均有上升,并且与膜受伤害程度的表现一致,这说明在胁迫中愈伤组织通过提高 SAMDC 的表达来提高体内多胺的含量以适应逆境环境,胁迫后 SAMDC 表达量的提高可能是由于植物体为消除体内过多的腐胺,减少腐胺对植物的毒害而作出的反应。Waie 和 Rajam^[41]将人类的 SAMDC 基因转入烟草,发现转基因植株的亚精胺和腐胺含量得到提高,不仅抗盐、抗旱能力增强,而且抗真菌引起的萎蔫能力也得到增强。赵玲玲^[42]将苹果 *MdSAMDC2* 基因导入烟草体内,提高了烟草的抗盐性、抗寒性、抗旱性等非生物逆境的抗逆性。

2.4 亚精胺合成酶基因

亚精胺合成酶 (SPDS) 催化腐胺生成亚精胺,拟南芥中有 2 个亚精胺合成酶基因, *SPDS1* 和 *SPDS2*, Imai 等^[43]通过 T-DNA 插入突变得到了这两个基因的突变体,并发现当其中任何一个基因单独发生突变时,植物仍能够正常生长,而当 2 个基因同时突变时,对于胚胎是致死的,这说明了 SPDS 在植物胚胎发育中起着重要作用。SPDS 基因的表达似乎受到脱落酸的调节,一方面 SPDS 基因的表

达与脱落酸的含量相一致^[46], 另一方面有实验表明在脱落酸缺乏的植物中, 即使在胁迫下 *SPDS* 基因的表达水平也不会提高^[45]。*SPDS* 基因与植物响应逆境胁迫也有着密切的联系, 许多实验表明植物在受到干旱胁迫、盐胁迫、低温胁迫和重金属胁迫时 *SPDS* 的表达量会增加^[44-47]。近年来, *SPDS* 的转基因研究不仅在农作物抗旱、抗寒、抗盐、抗除草剂等多种抗逆性方面^[48], 而且在林木抗逆性的研究上也取得了不少的成果。Wen 等^[49]将苹果 *SPDS* 基因转入西洋梨中, 提高了内源亚精胺的含量, 在多种胁迫下表现出较强的抗逆性。刘佳^[50]将 *MdSPDS1* 基因转入柑橘, 转基因植株在逆境下的生理指标检测表明, *MdSPDS1* 基因转入柑橘后游离亚精胺含量和游离精胺含量占游离多胺总含量较对照提高, 并能有效地提高转基因植株对低温逆境和高温逆境的抗性。作者研究组成功地将 *MdSPDS1* 基因转入优良毛白杨株系^[51], 并证实转基因毛白杨在浓度为 200 mmol/L NaCl 的培养基中能正常生长 (龙萃等, 未发表资料), 还发现其具有更高的重金属抗性 (庞晓明, 未发表资料)。此外, 刘婷婷^[52]将苹果 *MdSPDS1* 基因转入烟草, 转基因植物体内亚精胺含量增加, 并且耐盐性和抗烟草花叶病毒的能力均得到了提高。

2.5 精胺合成酶基因

精胺合成酶 (SPMS) 催化亚精胺与氨丙基结合生成精胺。SPMS 与 *SPDS* 有着较高的同源性, 系统进化分析的结果显示 SPMS 可能起源于 *SPDS*^[53]。SPMS 被认为能在高盐和干旱胁迫下对生物体起保护作用^[20,54], 植物受到干旱和高盐等胁迫时, 精胺高水平积累是一个普遍现象^[55-57]。Yamaguchi 等^[58]在与野生型拟南芥比较干旱敏感性时发现, 这种精胺缺失突变体同样对于干旱超敏感, 干旱超敏感性仅可为外源精胺恢复, 其他多胺如腐胺和亚精胺则不能, 从而表现出精胺所特有的专一性。盐胁迫导致精胺积累可归因于 *SPMS* 基因受盐胁迫的诱导^[18], 精胺可能是通过调节细胞内 Ca^{2+} 的水平, 排出细胞质中过多的 Na^{+} 使植物适应盐胁迫环境^[59], Imai 等^[60]通

过 T-DNA 插入方法获得并研究拟南芥 *SPMS* 基因缺失突变体 (*spm-l*) 和精胺合成酶基因双突变体 (*acl5/spm-l*) 时发现, *spms-l* 突变体中 *SPMS* 的表达量并不改变, 即使经过精胺处理 *SPMS* 的转录水平也并未明显降低, 这说明 *SPMS* 的表达并不受精胺的反馈调节。*SPMS* 的转录缺乏负反馈调控的原因可能是 *SPMS* 对于正常生长并不是必需的, 也有可能是 *SPMS* 的表达在转录后水平受精胺调控。在正常的营养条件下 *spm-l* 表现正常, *acl5/spm-l* 除 *ACL5* 突变引起矮化表型外, 也能像野生型一样完成整个生活周期, 因而研究者认为精胺不是拟南芥生存所必需的, 至少在正常的生长条件下不是必需的。

2.6 热精胺合成酶基因

1997 年, Hanzawa 等^[61]识别和鉴定了拟南芥 *ACAULIS5* 隐性突变体, 此基因的突变是拟南芥 *acaulis5* 矮小的原因, 之后有报道认为 *ACL5* 基因是精胺合成酶基因^[62]。最近研究发现, *ACL5* 并不是精胺合成酶, 而是热精胺合成酶, 它催化亚精胺生成热精胺^[63]。拟南芥 *ACL5* 功能缺失突变体茎的伸长具有严重的缺陷^[62]。遗传学和分子生物学的研究均显示, 热精胺可防止木质部导管分子的过早成熟和死亡^[66], 这也很可能是 *acl5* 突变体由于缺乏营养物质运输和木质纤维支撑而表现矮小的原因。Hanzawa 等^[64]利用 RNA 印迹研究发现, *ACL5* 基因的表达受生长素的正调控, 并且鉴定了一个位于 *ACL5* 上游调控序列中的生长素应答顺式作用元件, *acl5* 突变体顶端分生组织的增殖和节间细胞伸长受到抑制很有可能是由于 *ACL5* 介导的应答生长素的途径出现了问题。Imai 等^[65]鉴定了显性突变体 *sac51-d* 的相关基因, 这个突变体几乎可以完全恢复 *acl5* 的矮化性状, 原因可能是 *ACL5* 在激活 *SAC51* 翻译中起作用, 而 *SAC51* 的表达可能激活其他与茎伸长有关的基因的表达。为了阐明 *ACL5* 在维管发育过程中的作用, Muñiz 等^[66]研究了拟南芥持续生长阶段有着明显次生生长的子叶下胚轴的维管组织, 证明了 *ACL5* 不仅在下胚轴和花序茎中表达,

而且在某个特定的发育阶段在木质部导管分子中特异表达,这暗示了 *ACL5* 在木质部分化中起作用。Clay 等^[67]对 *ACL5* 基因突变体 *tkv* 的研究发现,其叶片维管束增大,叶脉加厚,生长素的极性运输受到影响。从 *ACL5* 基因的功能来看,它对众多的陆生植物的正常发育起着非常重要的作用。*ACL5* 基因受热精胺负反馈调控的机制至今尚不清楚,对于一系列 *sac* 突变体以及相关基因的研究也许能够帮助我们揭示 *ACL5* 基因的功能模式。本实验室已经成功分离出毛白杨 *ACL5* 基因 cDNA,并得到了 12 株表达量不同的 *ACL5* 过表达烟草植株,现有的实验结果显示 *ACL5* 基因还与烟草不定根的形成有着一定的联系(刘颖和庞晓明,未发表资料)。

2.7 多胺氧化酶基因

多胺的氧化可以产生 H_2O_2 , H_2O_2 在植物应对生物胁迫中起到信号分子的作用,接种烟草花叶病毒的烟草细胞凋亡正是由多胺氧化产生的 H_2O_2 介导的^[68]。另外,多胺氧化产生的 H_2O_2 与植物发育过程中细胞壁成熟、木质化以及病原体入侵时伤口修复和细胞壁加固有密切联系^[8],但是植物体内过高的多胺氧化酶 (PAO) 活性产生的高水平的 H_2O_2 不能实现对胁迫应答基因的诱导^[69]。植物 PAO cDNA 首先在单子叶植物玉米中分离出来^[70],2006 年,Kitashiba 等^[71]在苹果中分离出 2 个 PAO cDNA,分别为 *MdPAO1* 和 *MdPAO2a*,并且分析了它们的表达模式。在苹果悬浮细胞中,*MdPAO* 的表达在细胞成熟衰老时期最高,显示这些基因的表达可能与细胞的成熟和衰老有关。Yoda 等^[32]分离了烟草的 *PAO* 基因,建立了 RNAi 细胞系,发现在此细胞系中多胺不降解,而是分泌到培养基中, H_2O_2 的产生也极少,细胞凋亡受到抑制。

3 展望

多胺广泛存在于生物体内,它们在植物中的合成途径已经基本揭示,多胺的生理作用在分子水平上逐步得到阐明。在此基础上,对多胺代谢途径中

关键酶基因的遗传操作研究为阐明它们的功能提供了非常有价值的信息,对了解植物体内不同种类多胺含量的平衡具有重要的意义,关于多胺分解代谢的研究将有助于我们对植物细胞内多胺稳态的了解^[72-73]。近些年来发展的转录组学和蛋白组学的研究方法将有助于人们揭示多胺在信号传递网络中的重要作用。多胺代谢途径中关键酶基因在植物体内的过量表达能大幅提高植物的抗逆性,在植物抗逆境基因工程中具有重要的应用前景。目前的转基因实验研究多数集中在植物对非生物胁迫的抗性上,对生物胁迫的研究较少,但是现有的工作还是取得了一些成果,这些研究表明在生物胁迫下多胺含量的变化可提高植物抗性,因此这方面的工作今后也许应该受到更多的重视。另外,将对模式植物的研究结果推广到其他植物中,取得田间实验的证据,是当前通过调节多胺含量提高植物抗逆性育种的一项重要挑战。

REFERENCES

- [1] Zhao FG, Wang XY, Wang HZ, et al. The changes of polyamine metabolism in the process of growth and development of peanut leaves. *Acta Agron Sin*, 1999, 25(2): 249-253.
- [2] Hu BY, Niu MG, Wang QM, et al. Relationship between osmotic stress and polyamine levels in leaves of soybean seedlings. *Plant Nutr Fer Sci*, 2006, 12(6): 881-886.
胡炳义, 牛明功, 王启明, 等. 渗透胁迫与大豆幼苗叶片多胺含量的关系. *植物营养与肥料学报*, 2006, 12(6): 881-886.
- [3] Hamana K, Matsuzaki S. Distinct differences in the polyamine compositions of bryophyta and pteridophyta. *J Biochem*, 1985, 97(6): 1595-1601.
- [4] Rodriguez-Garay B, Phillips GC, Kuehn GD. Detection of norspermidine and norspermine in *Medicago sativa* L. (alfalfa). *Plant Physiol*, 1989, 89(2): 525-529.
- [5] Hamana K, Niitsu M, Samejima K. Unusual polyamines in aquatic plants: the occurrence of homospermidine, norspermidine, thermospermine, norspermine, aminopropylhomospermidine, bis (aminopropyl)

- ethanediamine, and methylspermidine. *Botany*, 1998, 76(1): 130–133.
- [6] Pang XM, Zhang ZY, Wen XP, et al. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants//Teixeira da Silva JA, ed. *Plant Stress*. Global Science Books, UK, 2007: 173–188.
- [7] Walden R, Cordeiro A, Tiburcio AF. Polyamines: small molecules triggering pathways in plant growth and development. *Plant Physiol*, 1997, 113(4): 1009–1013.
- [8] Cona A, Rea G, Angelini R, et al. Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends Plant Sci*, 2006, 11(2): 80–88.
- [9] Šebela M, Radová A, Angelini R, et al. FAD-containing polyamine oxidases: a timely challenge for researchers in biochemistry and physiology of plants. *Plant Sci*, 2001, 160(2): 197–207.
- [10] Moschou PN, Paschalidis KA, Roubelakis-Angelakis KA. Plant polyamine catabolism: the state of the art. *Plant Signal Behav*, 2008, 3(12): 1061–1066.
- [11] Biondi S, Diaz T, Iglesias I, et al. Polyamines and ethylene in relation to adventitious root formation in *Prunus avium* shoot cultures. *Physiol Plant*, 1990, 78(3): 474–483.
- [12] Li RW, Li HS. The effect on polyamines synthesis in panicle caused by treating nongken 58s longday plants with AVG. *J Huazhong Agri Univ*, 1997, 16(2): 131–135.
李荣伟, 李合生. AVG 处理对长日条件下农垦 58s 幼穗中多胺合成的影响. *华中农业大学学报*, 1997, 16(2): 131–135.
- [13] Liu JH, Nada K, Pang XM, et al. Role of polyamines in peach fruit development and storage. *Tree Physiol*, 2006, 26(6): 791–798.
- [14] Yamasaki H, Cohen MF. NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants? *Trends Plant Sci*, 2006, 11(11): 522–524.
- [15] Tun NN, Santa-Catarina C, Begum T, et al. Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(3): 346–354.
- [16] An ZF, Jing W, Liu YL, et al. Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *J Exp Bot*, 2008, 59(4): 815–825.
- [17] Bortolotti C, Cordeiro A, Alcázar R, et al. Localization of arginine decarboxylase in tobacco plants. *Physiol Plant*, 2004, 120(1): 84–92.
- [18] Urano K, Yoshida Y, Nanjo T, et al. Characterization of *Arabidopsis* genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages. *Plant Cell Environ*, 2003, 26(11): 1917–1926.
- [19] Liu JH, Nada K, Honda C, et al. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response. *J Exp Bot*, 2006, 57(11): 2589–2599.
- [20] Capell T, Bassie L, Christou P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(26): 9909–9914.
- [21] Rastogi R, Dulson J, Rothstein SJ. Cloning of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mil.) arginine decarboxylase gene and its expression during fruit ripening. *Plant Physiol*, 1993, 103(3): 829–834.
- [22] Mo H, Pua EC. Up-regulation of arginine decarboxylase gene expression and accumulation of polyamines in mustard (*Brassica juncea*) in response to stress. *Physiol Plant*, 2002, 114(3): 439–449.
- [23] Borrell A, Culianez-Macia FA, Altabella T, et al. Arginine decarboxylase is localized in chloroplasts. *Plant Physiol*, 1995, 109(3): 771–776.
- [24] Roy M, Wu R. Arginine decarboxylase transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice. *Plant Sci*, 2001, 160(5): 869–875.
- [25] Capell T, Escobar C, Liu H, et al. Over-expression of the oat arginine decarboxylase cDNA in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) affects normal development patterns in vitro and results in putrescine accumulation in transgenic plants. *Theor Appl Genet*, 1998, 97(1/2): 246–254.
- [26] Rodríguez-Kessler M, Alpuche-Solís, AG, Ruiz OA, et al. Effect of salt stress on the regulation of maize (*Zea mays* L.) genes involved in polyamine biosynthesis. *Plant Growth Regul*, 2006, 48(2): 175–185.
- [27] Wang J. The changes of polyamines in citrus under abiotic stresses and cloning and identification of two polyamine synthase genes[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
王静. 柑橘类植物非生物逆境胁迫下多胺变化及两个多胺合成基因的克隆和鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [28] Hanfrey C, Sommer S, Mayer MJ, et al. *Arabidopsis* polyamine biosynthesis: absence of ornithine decarboxylase and the mechanism of arginine decarboxylase activity.

- Plant J, 2001, 27(6): 551–560.
- [29] Qiao MJ. Establishment of tissue culture system and research on salt tolerance mechanism of *Tamarix chinensis* Lour[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2007.
乔梦吉. 柽柳离体培养体系的建立及耐盐性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [30] Tiburcio AF, Kaur-Sawhney R, Galston AW. Polyamine metabolism The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise. New York: Academic Press, 1990: 283–325.
- [31] Hao YJ, Kitashiba H, Honda C, et al. Expression of arginine decarboxylase and ornithine decarboxylase genes in apple cells and stressed shoots. J Exp Bot, 2005, 56(414): 1105–1115.
- [32] Yoda H, Hiroi Y, Sano H. Polyamine oxidase is one of the key elements for oxidative burst to induce programmed cell death in tobacco cultured cells. Plant Physiol, 2006, 142(1): 193–206.
- [33] Yoo TH, Park CJ, Ham BK, et al. Ornithine decarboxylase gene (CaODC1) is specifically induced during TMV-mediated but salicylate-independent resistant response in hot pepper. Plant Cell Physiol, 2004, 45(10): 1537–1542.
- [34] Kumria R, Rajam MV. Ornithine decarboxylase transgene in tobacco affects polyamines, *in vitro*-morphogenesis and response to salt stress. J Plant Physiol, 2002, 159(9): 983–990.
- [35] Adiga PR, Prasad GL. Biosynthesis and regulation of polyamines in higher plants. Plant Growth Regul, 1985, 3(3/4): 205–226.
- [36] Leproi O, Bassie L, Safwat G, et al. Over-expression of a cDNA for human ornithine decarboxylase in transgenic rice plant alters the polyamine pool in a tissue-specific manner. Mol Genet Genomics, 2001, 266(2): 303–312.
- [37] Mad Arif SA, Taylor MA, George LA, et al. Characterisation of the S-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC) gene of potato. Plant Mol Biol, 1994, 26(1): 327–338.
- [38] Zhang Y, Sederoff RR, Allona I. Differential expression of genes encoding cell wall proteins in vascular tissues from vertical and bent loblolly pine trees. Tree Physiol, 2000, 20(7): 457–466.
- [39] Lin J. The effect of exogenous spermdine and SAMDC expression analysis in citrus under stress[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006.
林佳. 柑橘逆境中外源亚精胺的作用及多胺类基因 SAMDC 的表达分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [40] Hanfrey C, Elliott KA, Franceschetti M, et al. A dual upstream open reading frame-based autoregulatory circuit controlling polyamine-responsive translation. J Biol Chem, 2005, 280(47): 39229–39237.
- [41] Waie B, Rajam MV. Effect of increased polyamine biosynthesis on stress responses in transgenic tobacco by introduction of human S-adenosylmethionine gene. Plant Sci, 2003, 164(5): 727–734.
- [42] Zhao LL. Characterization of *MdSAMDC2* and *MdICE1* from apple and their involvement in stress tolerance[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2007.
赵玲玲. 苹果 *MdSAMDC2* 和 *MdICE1* 基因的功能鉴定以及抗逆性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2007.
- [43] Imai A, Matsuyama T, Hanzawa Y, et al. Spermidine synthase genes are essential for survival of Arabidopsis. Plant Physiol, 2004, 135(3): 1565–1573.
- [44] Yang JC, Zhang JH, Liu K, et al. Involvement of polyamines in the drought resistance of rice. J Exp Bot, 2007, 58(6): 1545–1555.
- [45] Alcázar R, Cuevas JC, Patron M, et al. Abscissic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*. Physiol Plant, 2006, 128(3): 448–455.
- [46] Imai R, Ali A, Pramanik HR, et al. A distinctive class of spermidine synthase is involved in chilling response in rice. J Plant Physiol, 2004, 161(7): 883–886.
- [47] Wen XP, Pang XM, Matsuda N, et al. Over-expression of the apple *spermidine synthase* gene in pear confers multiple abiotic stress tolerance by altering polyamine titers. Transgenic Res, 2008, 17(2): 251–263.
- [48] Kasukabe Y, He LX, Nada K, et al. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol, 2004, 45(6): 712–722.
- [49] Wen XP, Ban Y, Inoue H, et al. Aluminum tolerance in a *spermidine synthase*-overexpressing transgenic European pear is correlated with the enhanced level of spermidine via alleviating oxidative status. Environ Exp Bot, 2009, 66(3): 471–478.
- [50] Liu J. Evaluation of transgenic citrus with *MdSPDS* gene on the resistance to temperature stress[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007.
刘佳. 转 *MdSPDS1* 基因柑橘在低、高温下抗性表现[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.

- [51] Liu TT, Pang XM, Long C, et al. Successful *Agrobacterium*-mediated transformation of *Populus tomentosa* with apple *SPDS* gene. *For Stud China*, 2008, 10(3): 153–157.
- [52] Liu TT. Functional analysis of *MdSPDS1* and primary study on transgenic *Populus tomentosa* Carr. [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2008.
刘婷婷. *MdSPDS1* 基因的功能分析及转化毛白杨的初步研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2008.
- [53] Minguet EG, Vera-Sirera F, Marina A, et al. Evolutionary diversification in polyamine biosynthesis. *Mol Biol Evol*, 2008, 25(10): 2119–2128.
- [54] Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, et al. The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 2006, 580(30): 6783–6788.
- [55] Duan GH, Yuan S, Liu WJ, et al. Relationship between polyamines and stresses in plants. *Plants Physiol Commun*, 2005, 4(41): 531–536.
段辉国, 袁澍, 刘文娟, 等. 多胺与植物逆境胁迫的关系. *植物生理学通讯*, 2005, 4(41): 531–536.
- [56] Maiale S, Sánchez DH, Guirado A, et al. Spermine accumulation under salt stress. *J Plant Physiol*, 2004, 161(1): 35–42.
- [57] Su GX, Jun YB, Hau ZW, et al. Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45(8): 560–566.
- [58] Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, et al. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(2): 486–490.
- [59] Kusano T, Yamaguchi K, Berberich T, et al. The polyamine spermine rescues *Arabidopsis* from salinity and drought stresses. *Plant Signal Behav*, 2007, 2(4): 251–252.
- [60] Imai A, Akiyama T, Kato T, et al. Spermine is not essential for survival of *Arabidopsis*. *FEBS Lett*, 2004, 556(1/3): 148–152.
- [61] Hanzawa Y, Takahashi T, Komeda Y. *ACL5*: an *Arabidopsis* gene required for intermodal elongation after flowering. *Plant J*, 1997, 12(4): 863–874.
- [62] Hanzawa Y, Takahashi T, Michael AJ, et al. *ACAULIS5*, an *Arabidopsis* gene required for stem elongation, encodes a spermine synthase. *EMBO J*, 2000, 19(16): 4248–4256.
- [63] Kakehi J, Kuwashiro Y, Niitsu M, et al. Thermospermine is required for stem elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(9): 1342–1349.
- [64] Hanzawa Y, Imai A, Michael AJ, et al. Characterization of the spermidine synthase-related gene family in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 2002, 527(1/3): 176–180.
- [65] Imai A, Hanzawa Y, Komura M, et al. The dwarf phenotype of the *Arabidopsis acl5* mutant is suppressed by a mutation in an upstream ORF of a bHLH gene. *Development*, 2006, 133(18): 3575–3585.
- [66] Muñoz L, Minguet EG, Singh SK, et al. *ACAULIS5* controls *Arabidopsis* xylem specification through the prevention of premature cell death. *Development*, 2008, 135(15): 2573–2582.
- [67] Clay NK, Nelson T. *Arabidopsis thickvein* mutation affects vein thickness and organ vascularization, and resides in a provascular cell-specific spermine synthase involved in vein definition and in polar auxin transport. *Plant Physiol*, 2005, 138(2): 767–777.
- [68] Yoda H, Yamaguchi Y, Sano H. Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant Physiol*, 2003, 132(4): 1973–1981.
- [69] Moschou PN, Paschalidis KA, Delis ID, et al. Spermidine exodus and oxidation in the apoplast induced by abiotic stress is responsible for H_2O_2 signatures that direct tolerance responses in tobacco. *Plant Cell*, 2008, 20(6): 1708–1724.
- [70] Tavladoraki P, Schininà ME, Cecconi F, et al. Maize polyamine oxidase: primary structure from protein and cDNA sequencing. *FEBS Lett*, 1998, 426(1): 62–66.
- [71] Kitashiba H, Honda C, Moriguchi T. Identification of polyamine oxidase genes from apple and expression analysis during fruit development and cell growth. *Plant Biotech*, 2006, 23(4): 425–429.
- [72] Pang XM, Nada K, Liu JH, et al. Interrelationship between polyamine and ethylene in 1-methylcyclopropene treated apple fruits after harvest. *Physiol Plant*, 2006, 128(2): 351–359.
- [73] Kusano T, Yamaguchi K, Berberich T, et al. Advances in polyamine research in 2007. *J Plant Res*, 2007, 120(3): 345–350.