

# 野生大豆 $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶(*P5CS*)基因的克隆与序列分析

张春宝<sup>1,2</sup>,赵洪锬<sup>1</sup>,李启云<sup>1</sup>,刘晓冬<sup>1</sup>,沈波<sup>1</sup>,董英山<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>吉林省农业科学院生物技术研究中心,吉林 长春 130033;<sup>2</sup>东北师范大学生命科学学院,吉林 长春 130024)

**摘 要:**根据栽培大豆(*Glycine max*) $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基因的全长序列设计引物,通过 RT-PCR 直接扩增的方法从野生大豆中克隆到了野生大豆(*Glycine soja*)的同源基因,命名为 *GsP5CS*。*GsP5CS* 最大开放阅读框为 2148 bp,编码含有 716 个氨基酸残基、分子量为 77.9 kDa 的蛋白,预测等电点 6.21。亲疏水性分析显示,*GsP5CS* 含有连续的亲水片断。序列分析显示,*GsP5CS* 与栽培大豆(*Glycine max*)、飞蛾豆(*Vigna aconitifolia*)、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)、甘蓝型油菜(*Brassica napus*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、普通小麦(*Triticum aestivum*)等植物的  $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基因高度同源,序列相似性分别为 94%、87%、87%、86%、75%、74%、72%。根据野生大豆与这 8 种植物的 *P5CS* 基因序列相似性所建立的进化树,显示与传统的分类地位基本一致。

**关键词:**野生大豆; $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶;耐盐

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2008)06-0915-06

## Molecular Cloning and Sequence Analysis of $\Delta'$ -pyrroline-5-carboxylate Synthetase(*P5CS*) Gene in Wild Soybean

ZHANG Chun-bao<sup>1,2</sup>, ZHAO Hong-kun<sup>1</sup>, LI Qi-yun<sup>1</sup>, LIU Xiao-dong<sup>1</sup>, SHEN Bo<sup>1</sup>, DONG Ying-shan<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> Biotechnology Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, Jilin; <sup>2</sup> College of Life Science, Northeast Normal University, Changchun 130024, Jilin, China)

**Abstract:** *GsP5CS*, homologous with the *GmP5CS* gene encoding a  $\Delta'$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase was cloned from wild soybean(*Glycine soja*) by RT-PCR, with primers designed according to the sequence of *GmP5CS*. The largest open reading frame of *GsP5CS* gene has 2148bp in length and encoded a protein of 716 amino acid residues. The estimated molecular weight and isoelectric points of the putative protein was 77.9 kDa and 6.21, respectively. Hydropathy plot analysis indicated that the *GsP5CS* was hydrophilic. Blast result analysis showed that *GsP5CS*, *GmP5CS*, *MsP5CS*, *MtP5CS*, *AtP5CS*, *BnP5CS*, *OsP5CS*, *TaP5CS* shared a cluster. The phylogenetic tree shows that the relationship based on the homology is consistent with the morphological and taxonomic results.

**Key words:** Wild soybean;  $\Delta'$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase; Salt resistance

脯氨酸是植物中主要的渗透调节物质之一,研究表明,在胁迫条件下,脯氨酸不仅是生物大分子的保护剂或羟基的清除剂,还是植物从胁迫条件回复正常过程中迅速、有效的氮源、碳源和还原剂,此外,其目的产物还作为一系列酶的信号物质使得植物在受到胁迫时得到更为有效的保护<sup>[1]</sup>。许多物种,包括细菌、真菌和植物等,在渗透胁迫条件下常通过积累脯氨酸来达到渗透调节的作用<sup>[2]</sup>。近年来,关于脯氨酸生物合成代谢的研究受到了广泛的关注。

$\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶(*P5CS*)是植物脯氨酸生物合成中的限速因子,是双功能酶。在脯氨酸生物合成过程中, $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶(*P5CS*)催化谷氨酸磷酸化和谷氨酸- $\gamma$ -半醛还原形成吡咯琳-5-羧酸(*P5C*),*P5C* 再在  $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸还原酶(*P5CR*)催化下还原为脯氨酸。研究发现植物在受到胁迫后 2 h 内,*P5CS* 的 mRNA 含量迅速上升,10 h 后保持在一定的水平,解除胁迫后 5 h 内 *P5CS* 的含量又恢复到胁迫前的水平<sup>[3]</sup>。目前  $\Delta'$ -吡咯琳-5-

羧酸合成酶(P5CS)已经在飞蛾豆<sup>[4]</sup>、拟南芥<sup>[5]</sup>、水稻<sup>[6]</sup>、紫花苜蓿<sup>[7]</sup>等植物中陆续被克隆,并通过转基因烟草<sup>[8]</sup>、水稻<sup>[9]</sup>、马铃薯<sup>[10]</sup>等植物研究发现Δ'-吡咯琳-5-羧酸合成酶(P5CS)在促进植物抵御盐胁迫中起重要作用。

野生大豆是栽培大豆的近缘野生种,栽培大豆起源于野生大豆,它是大豆育种极为重要的种质资源。中国野生大豆遗传资源数量多、类型丰富,受到世界大豆主产国高度重视。野生大豆的研究利用,对拓宽栽培大豆的遗传基础,提高大豆育种水平有重要价值。野生大豆的搜集、整理与利用方面,前人已做了大量研究工作,而长期以来,野生大豆耐盐性相关的理论研究至今尚未有突破性进展。因此研究野生大豆的耐盐性及分离其耐盐基因,对研究栽培大豆耐盐机理及分离相关基因有重要意义。

通过同源序列法设计引物,以高耐盐的野生大豆植株为研究材料,分离了野生大豆盐胁迫应答相关基因Δ'-吡咯琳-5-羧酸合成酶(GsP5CS),并通过生物信息学方法,对其进行功能分析及同源性比对。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试野生大豆 JLGs0001 为吉林省农业科学生物技术研究中心鉴定筛选的耐内陆盐(碳酸盐)材料。

Trizol 购自 Invitrogen 公司;EcoR I、Hind III、IPTG、X-Gal 购自 Biolabs 公司;rTaq DNA 聚合酶、dNTPs、克隆载体购自大连宝生物工程公司;Reverse Ace 反转录酶、RNA 酶抑制剂(RNasin)购自 TOYOBO 公司;大肠杆菌 DH5α 为本实验室保存;其余试剂为国产分析纯或化学纯。

### 1.2 引物设计

在 NCBI 核酸数据库中检索已知栽培大豆的 P5CS 的氨基酸或核苷酸序列(Genebank 登录号为 AY492005),经 Primer Premier 5 软件分析设计特异引物,由北京华大基因公司合成:

上游特异引物 P1 (20bp):5'-ATGGAGAACA-CAGATCCTTG-3'

下游特异引物 P2 (22bp):5'-GCTCATAT-AGAAAGGTCTCTGTG-3'

### 1.3 RNA 提取及 RT-PCR

取经 200 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 处理 6 h 的野生大

豆整株材料,参照 Invitrogen 公司的 Trizol 试剂盒提取说明书步骤进行提取,质量和浓度的确定采用 1.0% 甲醛变性凝胶电检测。参照 TOYOBO 公司的 cDNA 合成系统,以 Oligo d(T)<sub>20</sub> 为引物,采用 Reverse Ace 逆转录 RNA 合成 cDNA 第一链;以 2 μl 反转录产物为模板进行 PCR 扩增,反应程序:94℃ 5 min,94℃ 30 s,47℃ 30 s,72℃ 2 min、35 个循环、72℃ 10 min,反应终止于 4℃。扩增反应在 Biometra UNOII PCR 仪上进行。

### 1.4 PCR 产物的克隆与测序

经纯化后的 PCR 产物,利用 pMD 18-T Vector 将其克隆并转化到大肠杆菌 DH5α 感受态细胞中,菌落 PCR 及酶切检测。经鉴定为正确的重组质粒,在北京华大基因研究中心进行序列测定。

### 1.5 序列分析

测序结果采用 Vector NTI 8.0、GENEDOC 软件进行比对,利用 MEGA 3.1 软件计算遗传距离及其构建分子系统树。

## 2 结果和分析

### 2.1 野生大豆 GsP5CS 基因的 PCR 扩增及菌落 PCR、酶切鉴定

通过 PCR 扩增,在野生大豆 cDNA 中扩增出 1 条约为 2 148 bp 的条带(图 1),与预期扩增的片段长度相符。

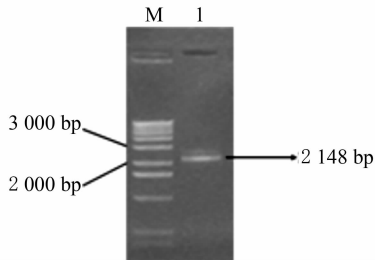


图 1 特异产物的 PCR 电泳图

Fig.1 PCR analysis of clone of GsP5CS cDNA segment

从琼脂糖平板上的菌落中选取单克隆菌落 1,用特异引物进行菌落 PCR。结果表明菌落 1 中有目的片段插入(图 2)。

提取重组质粒经 BamH I 酶切结果见(图 3),在 BamH I 切出一条 4.8 kb 左右的条带,与目标片段条带大小相符,说明扩增出的 2 148 bp 条带已克隆到入 pMD18-T vector 载体中。

### 2.2 测序与序列分析

#### 2.2.1 野生大豆 P5CS 基因的序列分析 序列分

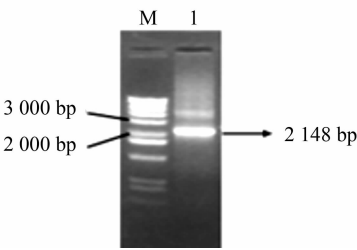


图2 阳性克隆的特异引物 PCR 鉴定

Fig.2 Identification of the positive clone py PCR

析表明,所克隆的片段为野生大豆 *P5CS* 基因的完整编码区,长为 2 148 bp。推断其编码区编码 716 个氨基酸的多肽,分子重量为 77.9 kDa, 等电点 PI

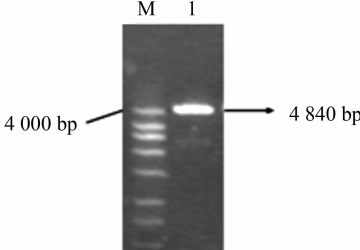


图3 限制性内切酶切鉴定

Fig.3 Restriction analyse of clone of *GsP5CS*cDNA segment 为 6. 21。因其源于野生大豆 JLGs0001 的克隆,将其命名为 *GsP5CS*。*GsP5CS* 具体的氨基酸序列及推导的氨基酸序列见图 4。

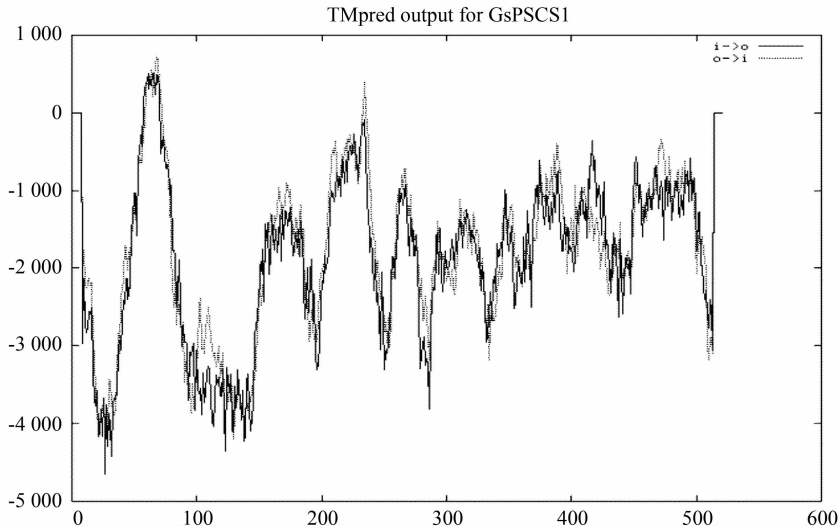
    M E N T D P C R H F L K D V K R I I I K V G T A V V T R Q D  
1  ATGGAGAACACAGATCCTTGTAGACATTTTCTCAAGGATGTTAAGCGCATCATAATCAAGTTGGGACTGCTGTGGTCACTCGCCAAGAT  
   G R L A V G K L G A L C E Q I K E L N S L G Y E I I L V S S  
91 GGAAGGTAGCTGTTGGAAATTAGGGGCACTCTGTGAGCAGATTAAGGAGCTGAATCTCTTGTATGAGATTATTTTGGTGATCATCA  
   G A V G L G R Q R L R Y R K L I N S S F A D L Q K P Q V E L  
181 GGTGCTGTGGCTTGGTCGCCAAGGCTTAGATACAGAAAATTAATTACAGCAGCTTGTGCTGACCTCAGAAAGCCGCAAGTTGAAGCTT  
   D G K A C A A V G Q N S L M A L Y D V L F S Q L D V T S A Q  
271 GATGGCAAGGCTTGTGCTGCTGTGGACAAAACAGCCTTATGGCTCTTTATGATGTTTGTAGTCAGCTGGATGTGACATCTGCTCAG  
   L L V T D N D F R D K D F R M Q L S E T M K S L L A L K V I  
361 CTTCTGTGACGGACAATGATTTTAGAGACAAAGATTCAGAATGCAGCTCAGCGAAATGAAATCATTGTTAGCATTAAGTATT  
   P I F N E N D A V S T R K A P Y E D S S G I F W D N D S L S  
451 CCCATATTCAACGAGAAGCTGACGTTAGTACTAGGAAAGCTCCATATGAGGATCTCTGGCATATTTGGGATAATGACAGTTTATCA  
   A L L A L E L K A D L L I L L S D V E G L Y S G P P S D P H  
541 GCTTTATGGCATGGAATTAAGCTGATCTTCTATTTTGTGAGTGATGTAGAGGCTTTATAGTGGCCCTCAAGTGACCCACAT  
   S K L I H T Y I K E K H Q N E I T F G D K S R V G R G G M T  
631 TCAAAGCTTATCATACATATATTAGGAGAAGCATCAGAATGAAATTACTTTTGGTGACAAGTGTAGAGTGGGAAGAGGTGGAATGACT  
   A K V K A A V H A A D A G I P V V I T S G F A A E N I I N V  
721 GCCAAGTTAAAGCTGCTGTTTCATGCACTGATGCCGGCTTCTGTTGTTATTACGAGCGGTTTTCGAGCTGAGAATATTATTAATGTT  
   L Q G Q R I G T L F H K D A H E W V Q V K E V D A R E M A V  
811 CTCCAGGACAACGTATAGGAAGCTCTTCCATAAAGATGCATGAGTGGTCCAAAGTAAAGAGGTGATGCTGCTGAGATGGCAGTT  
   A A R E C S R R L Q A I S S E E R K Q I L L K I A D D L E A  
901 GCAGCCAGGGAATGTTCCAGAGGCTCCAGGCCATATCTCAGAAAGAAAGAAATTTTACTTAAATAGCTGATGATCTGGAAGCT  
   N E K I I R T E N E A D V A V A Q Q A G Y E N S L V A R L A  
991 AATGAAAAAATATCAGGACTGAAATGAAGCTGATGTTGCTGTGGCACAACAAGCAGGATAGAAATTCCTTGGTGGCTAGGCTAGCT  
   L K P G K I A S L A N N V R I I A N M E D P I G Q V L K R T  
1081 TTAAACCTGGGAAGATTGCAAGCCTTGCAACACGTCGCAATATTCCGCAACATGGAAGATCCAATTTGGTCAAGTATTAACGAACT  
   E L S D G L T L E K T S S P L G V L L I V F E S R P D A L V  
1171 GAGCTTTCAGATGGGCTAAGCTTTAGAGAAGACATCATCTCCTTTGGGAGTGCCTTATTGTTTCGAGTCAAGCTGAGCTGCTCTGTA  
   Q I A S L A I R S G N G L L L K G G K E A K R S N A I L H K  
1261 CAGATAGCTTCGCTGGCAATCCGAAGTGGGAATGGGCTTCTCTGAAAGGTGGCAAGAAGCTAAGCGGTCAAATGCAATTTGACACAAA  
   V I T E A I P D T V G G K L I G L V T S R E E I G P E L L K A A  
1351 GTAATTACTGAGGCCATACAGATACTGTTGGTGGAAAACCTATAGGACTTGTGACCTCAAGGGAAGAAATCCCTGAGCTACTTAAGCTG  
   D D V I D L V I P R G S N K L V S Q I K S S T K I P V L G H  
1441 GATGACGTAATTGATCTGGTGATTCCAAGAGGCAGCAACAACTGTTTCTCAGATCAAGAGTTCACATAAAATTCCTGTTTATAGTGAC  
   A D G V C H V Y V D K S A N V E M A R R I V L D A K I D Y P  
1531 GCTGATGGAGTTTGCCATGTCTATGTTGATAAGTCTGCTAATGTGGAGATGGCAAGCGGATGTACTAGATGCAAAAATAGACTATCCA  
   A G C N A E V D L L V H K D L V E K G W L N S I I D L R T  
1621 GCAGGCTGCAATGCCATGAAACTCTTGTGTTACAGGACTTGGTAGAGAAAGTTGGCTCAATAGTATTATTATGACATACGGACA  
   E G V T L Y G G P K A S P L L N I P M A R M L H H E Y N S L  
1711 GAAGGTGTTACATGTATGGAGGACCAAGGCAAGTCTTGTGTTAAATATCCAATGGCTCGTATGTTACATCATGAGTACAATTCGTTG  
   A I D V E I V D D V Y A A I D H I N L Y G S A V H T D S V A  
1801 GCATGCACAGTTGAAATGTGGATGATGTTTATGCAGCTATTGATCATATAAATCTTTATGGAAGTGCACATAGTATGCTCGGTGTTGCA  
   E D H E V A N V F L R Q V D S A A V F H N A S T R F S D G A  
1891 GAAGATCATGAAGTACCAATGTGTTTACGCCAAGTAGACAGTGTGCTGTTTCCACAATGCTAGTACAAGATTCAAGTATGAGTGGGCA  
   R F G L G A E V G I S T S R I H A R G P V G V H T D S V R  
1981 CGATTGGAAGTGGTGCAGAGGTGGAATAAGTACAAGCAGGATTTCATGCTCGGGGTCCAGTAGGAGTGTGATGGATTGTTAACACCCAGA  
   W I L K G S G Q I V D G D K A V N Y S H R D L S I \*  
2071 TGGATTCTCAAGGAAGTGGACAAATAGTGGATGGTGACAAAGCAGTTAACTACTCTCAGAGACCTTTCTATATGA

图4 野生大豆 *P5CS* 的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列

Fig.4 Nucleotide sequence and the deduced amino acids sequence of *GsP5CS*

进一步对所编码的蛋白进行跨膜区的预测(<http://www.ch.embnet.org/>)显示,野生大豆 *P5CS* 含有连续的亲水片断,只有 2 个跨膜片段,与以往描述

的拟南芥<sup>[11]</sup>、水稻<sup>[6]</sup>等其它植物来源的跨膜区的特征十分相似。



横向为氨基酸顺序,由左到右;疏水和亲水位点分别在零水平线的上方和下方  
Amino-acid residues are numbered from left to right on the horizontal axes. The hydrophobic and hydrophilic positions are plotted above and below the ordinate, respectively

图5 TMpred 软件野生大豆 *P5CS* 跨膜结构分析

Fig. 5 Hydropathy plot analysis of the predicted polypeptide of *P5CS* by TMpred program

表1 野生大豆与其他 8 种植物 *P5CS* 序列及推测的氨基酸序列同源性比较

Table 1 Comparision of homology( % )among *P5CS* from other plants

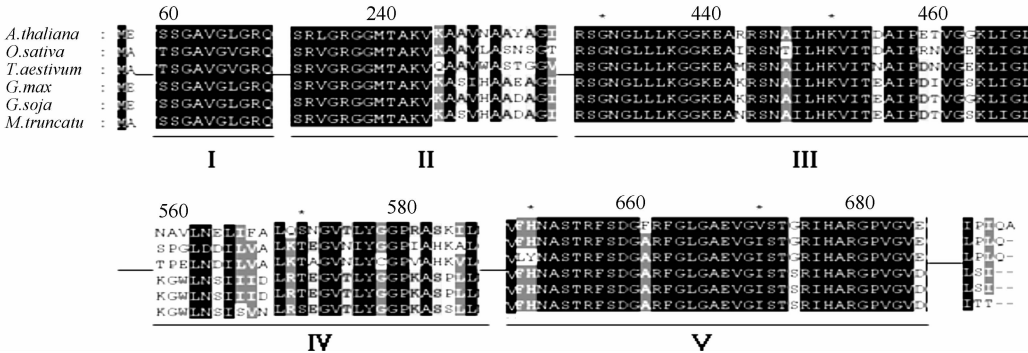
登陆号 No.	种类 Type	学名 Name	A + T 含量 Content A + T/%	核苷酸序列同源性 Nucleotide sequence homologous/%	氨基酸序列同源性 Amino acids sequence homologous/%
AY492005	栽培大豆	<i>Glycine max</i>	58.5	94	97
M92276	飞蛾豆	<i>Vigna aconitifolia</i>	56.3	87	93
AJ278818	蒺藜苜蓿	<i>Medicago truncatula</i>	59.1	87	94
X98421	紫花苜蓿	<i>Medicago sativa</i>	58.0	86	89
AF314812	甘蓝型油菜	<i>Brassica napus</i>	54.7	75	89
AY150430	拟南芥	<i>Arabidopsis thaliana</i>	53.4	74	89
AY574031	水稻	<i>Oryza sativa</i>	54.4	72	88
AY888045	普通小麦	<i>Triticum aestivum</i>	54.6	70	88

2.2.2 野生大豆 *P5CS* 基因与其它植物的核苷酸序列和氨基酸序列比较 野生大豆 *P5CS* 基因的序列及其推导的氨基酸序列与 GenBank 数据库已发表的 2 个纲 3 个目 3 个科的 8 种植物的 *P5CS* 核苷酸和氨基酸序列比较 (表 1), 与同纲同目同科栽培大豆、飞蛾豆、蒺藜苜蓿、紫花苜蓿的核苷酸序列相似性为 94%、87%、87%、86%; 与同纲不同目不同科的甘蓝型油菜、拟南芥的核苷酸序列相似性分别为 75%、74%, 与不同纲不同目不同科的水稻、普通小麦的序列相似性分别为 72% 和 70%。由此可以看出,

*P5CS* 基因在物种间是相当保守的。氨基酸序列的同源性比较也显示出相似的结果: 与栽培大豆的同源性最高为 97%; 与飞蛾豆、蒺藜苜蓿的同源性为 93%、94%; 与紫花苜蓿、甘蓝型油菜、拟南芥的同源性同为 89%, 与水稻、普通小麦的同源性同为 88%。

进一步将 *GsP5CS* 基因的氨基酸序列与拟南芥、水稻、小麦、栽培大豆、蒺藜苜蓿的氨基酸比较还发现,野生大豆  $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基因高度保守区域同拟南芥、水稻、小麦、栽培大豆、蒺藜苜蓿等是一致的,同样包含着谷氨酸激酶保守域、谷氨

酸- $\gamma$ -半醛脱氢酶保守域、一个假想的亮氨酸保守域 及 ATP 和 NADPH 结合位点。



I 为 ATP 结合位点、II 为谷氨酸激酶保守域、III 为 NADPH 结合保守域、IV 为假想的亮氨酸保守域、V 为谷氨酸-半醛脱氢酶保守域,其余氨基酸序列省略

I :ATP-binding site II :Glu- 5- kinase domain; III :NADPH- binding domain; IV :putative leu domain; V :conserved GSA-DH domain

图 6 *GsP5CS* 氨基酸序列与其它植物 *P5CS* 氨基酸序列的比较分析

Fig.6 Comparison of the deduced amino acid sequences of *GsP5CS* with other plants

2.2.2.3 以 *GsP5CS* 基因为基础的分子系统进化树的构建 从 9 种植物(野生大豆、栽培大豆、飞蛾豆、蒺藜苜蓿、紫花苜蓿、拟南芥、甘蓝型油菜、水稻、普通小麦)构建的分子系统进化树可以看出:以 0.12 为结点,可分为 3 个类群,第 I 类包含野生大豆、栽培大豆、飞蛾豆、蒺藜苜蓿、紫花苜蓿;第 II 类为拟南芥与甘蓝型油菜;水稻与普通小麦为第 III 类。野生大豆 *GsP5CS* 基因与栽培大豆的亲缘关系最近,并与飞蛾豆、蒺藜苜蓿、紫花苜蓿关系比较密切同属豆科,还与拟南芥与甘蓝型油菜同属双子叶植物纲聚为一大类。水稻与普通小麦同属单子叶植物纲聚为一大类,这与形态学所进行的分类完全一致。因而可用该基因进行物种亲缘关系或进化关系研究(图 7)。

3 讨论

以野生大豆为材料,通过提取总 RNA 克隆了野生大豆 *GsP5CS* 基因。该基因推导的氨基酸序列与已知的其它植物该基因的氨基酸序列比较发现同源性都在 88% 以上,说明该基因在物种进化上具有高度的保守性。与不同物种  $\Delta'$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶基因高度保守区域(谷氨酸激酶保守域、谷氨酸-半醛脱氢酶保守域、有共同的 ATP 和 NADPH 结合位点)的一致性也进一步说明该基因在物种进化过程的保守性很高。同时还发现这些 *P5CS* 基因之间可能存在亮氨酸保守域,这些植物第 562、569、576、585、586 位都编码亮氨酸,但此区域氨基酸序列一致性很差,可能表明亮氨酸在进化上是比较保守的。

依据 *P5CS* 基因构建的分子系统树分析的结果,基于 *P5CS* 基因氨基酸序列同源性的 9 种植物的分子系统树,野生大豆与栽培大豆的亲缘关系最近,4 种豆科植物基本聚为一小类,6 种双子叶植物聚为一大类这与传统的形态分类结果基本吻合。所以从分析结果来看,根据 *P5CS* 基因的数据结果构建的分子系统树基本上可反映这一组物种的亲缘关系规律。

目前,对于已克隆的植物 *P5CS* 基因的研究,基本证实其是植物相应盐胁迫过程中重要的渗透调节物质,转 *P5CS* 基因的植物能增强其在盐胁迫条件下的耐受能力,试验获得的基因与上述已证明功能的基因同源性非常高,故可初步推断若其能转入野

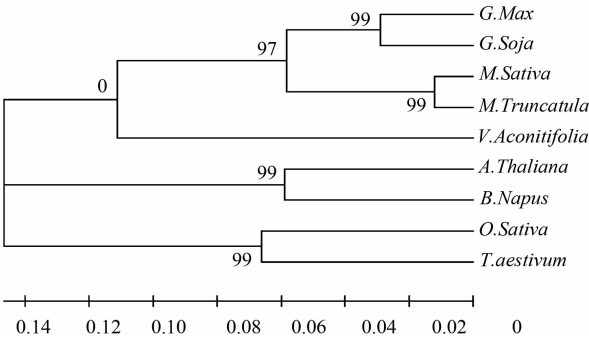


图 7 基于 *P5CS* 基因氨基酸序列的 9 种植物的系统进化树

Fig.7 Phylogenetic trees based on the *P5CS* amino acids sequences of 9 kinds of plant

生大豆或栽培大豆能提高其耐盐能力,但具体工作还在进行中,能否真正提高野生大豆或栽培大豆耐盐能力尚待进一步验证。

参考文献

[1] Shen B, Jense R G, Bohnner H J. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts[J]. Plant Physiology, 1997, 113:1177-1183.

[2] Mansour M. Physiological attributes associated with early-season a- gainst NaCl stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 1998, 39 (10):1039-1044

[3] Yoshiba Y, Kiyoshue T, Katagiri T, et al. Corcelation between the induction of a gene for p5cs and the accumulation of proline in *Ar- abidopsis thaliana* L. under osmitic stress[J]. The Plant Journal, 1995, 7:751-760.

[4] Hu C A, Delauney A J. A bifunctional enzyme pyrroline-5- carbox- ylate steps in proline biosynthesis in plants[J]. Proceedings of the National Academy of Science(PNAS), 1992, 89:9354-9358.

[5] Verbruggen N, Villarroel R, Montage M V. Osmoregulation of a $\Delta'$ - pyrroline-5-carboxylate reductase gene in arabidopsis thaliana[J]. Plant Physiology, 1993, 103:771-781.

[6] Igwrashi. Charaterization of the gene for pyrroline carboxlate syn-

thetase and correction between the expression of the gene and salt tolerance in *Oryza sativa* L[J]. Plant Molecular Biology, 1997, 33 (5):857-865.

[7] Ginzberg I, Stein H, Kapulnik Y, et al. Isolation and characteriza- tion of two different cDNAs of  $\Delta'$ -pyrcoline-5- carboxylate synthase in alfalfa transcriptionally induced upon salt stress[J]. Plant Mo- lecular Biology, 1998, 38:755-764.

[8] Kavi Kishor P B, Hong Z, Miao G H, et al. Overexpression of  $\Delta'$ - pyrroline-5- carboxylate synthetase increase proline production and confers osmotolerance in tansgenic plants [J]. Plant Physiology, 1995, 108:1387-1394.

[9] Zhu B. Overexpression of a  $\Delta'$ 1- pyrrolin-5- carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in t ransgenic rice [J]. Plant Science, 1998, 139:4-48.

[10] Aida Hmida Sayari, Radhia Gargouri Bouzid, Amira Bidani, Over- expression of  $\Delta'$ - pyrroline-5- carboxylate synthetase increases pro- line production and confers salt tolerance in transgenic potato plants [J]. Plant Science, 2005, 169(4):746-752.

[11] Strizhov N, Abraham E, Okresz L, et al. Differential expression of two *P5CS* genes during salt stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1, controlling proline accumulation and AXR2 in Arabi- dopsis[J]. The Plant Juornal, 1997, 12:557-569.

# TFC 系列土壤化肥速测仪

## QSY 凯氏定氮仪

北京强盛分析仪器制造中心是国家投资、团中央创办的高新科技企业(0120663F),中心技术力量雄厚,产品自 1993 年至今一直被列入农业部推广项目。

仪器每次可同时测试多个样品,几滴药水十几分钟即可快速测定土壤、肥料、植株中氮、磷、钾、有机质、酸碱度、可溶性盐、腐质酸含量,识字即可操作,成本不到一元钱,田间地头随处可用。2004 年最新开发的 203 系列产品,大屏幕液晶中文菜单显示操作流程、测试状态、测试结果,可直接打印测试数据;仪器留有“升级”串行接口,“升级”后可以与计算机连接,并安装《土壤测试及配方施肥系统》软件,在计算机上对几十种农作物进行配方施肥计算,将结果存档、打印、发送电子邮件,实现信息化管理。另有 TFC-ZNS 型,1B 系列土肥测试仪。

凯氏定氮仪采用国际通用凯氏法主要测定土壤植株中氮含量。

该中心设有技术培训部,专家咨询热线,常年免费讲授测土配肥技术,随到随学,有专人负责售后服务。产品终身维修,自售出之日起一年内有质量问题以旧换新。

通讯地址:北京市前门东大街前门外国语学校内  
(团中央大楼西侧)

办公地址:北京市前门东大街甲 12 号  
邮编:100051 网址:www.qstry.com  
电话:(010)67033803 67025912  
传真:(010)65114456

