

ASR 蛋白与植物的抗逆性研究进展

程维舜^{1,*}, 孙玉宏¹, 曾红霞¹, 杜念华¹, 施先锋¹, 蔡新忠^{2,*}

(¹武汉市农业科学研究所, 武汉 430345; ²浙江大学生物技术研究所, 农业部作物病虫害分子生物学重点开放实验室, 杭州 310058)

摘要: ASR 蛋白 (the abscisic acid, stress, ripening protein) 是生物体中广泛存在的一类与渗透调节有关的家族蛋白, 植物受到逆境胁迫 (如干旱、低温、盐胁迫、ABA 等) 后, ASR 蛋白大量表达, 可以减轻逆境引起的伤害。ASR 蛋白在细胞中可以稳定细胞膜结构, 作为分子伴侣, 具有结合离子和防止氧化等作用, 被认为是在胁迫过程中对植物起保护作用的物质之一。针对这些重要特性, 综述了 ASR 蛋白分类、结构和编码基因及其表达调控方式及 ASR 基因表达、ASR 蛋白积累与植物抗逆性的关系等方面的研究进展。

关键词: ASR 蛋白; 基因表达和调节; 逆境胁迫; 抗逆性

中图分类号: Q 789; Q 945

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 10-2049-09

ASR Protein and Plant Stress Tolerance

CHENG Wei-shun^{1,*}, SUN Yu-hong¹, ZENG Hong-xia¹, DU Nian-hua¹, SHI Xian-feng¹, and CAI Xin-zhong^{2,*}

(¹Wuhan Agricultural Institute, Wuhan 430345, China; ²Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Key Laboratory of Molecular Biology of Crop Pathogens and Insects, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310058, China)

Abstract: ASR (the abscisic acid, stress, ripening protein) proteins are a suite of important family proteins found in organisms, which are generally involved in osmoregulation. They will be induced in plants under stress conditions, such as drought, low temperature, salt stress and ABA. The overexpression of ASR proteins can reduce plant injury by stress. ASR proteins can stabilize the cell membrane structure, and as molecular chaperones, can combine ions and prevent oxidation. In current paper, the classification and structure of ASR proteins, encoding genes, the expression and regulation of ASR proteins, and the relationship among ASR gene expression, ASR protein accumulation and plant stress tolerance has been summarized.

Key words: ASR proteins; gene expression and regulation; stress conditions; stress tolerance

干旱、高盐和冻害是影响植物生长发育和产量的重要渗透胁迫因子, 渗透胁迫在植物的生理和细胞水平上的影响是非常复杂的 (Ingram & Bartels, 1996)。在长期的进化过程中, 植物已形成了特定的抵御渗透胁迫的复杂调控体系 (Bohnert et al., 1995)。植物体内有很多基因参与到胁迫过程

收稿日期: 2013-04-24; **修回日期:** 2013-08-09

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项重点课题 (2014ZX0800905B); 武汉市农业科学院科技项目 (Y1201215); 武汉市农业科学院科技创新项目 (CX201306)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: heart113@sina.com; xzhcai@zju.edu.cn)

中 (Xiong & Zhu, 2002), 其中一些基因通过脱落酸信号响应渗透胁迫, 进而合成一系列的功能蛋白, 以保护植物体细胞在胁迫条件下免受伤害 (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki, 2007; 王静英 等, 2008)。在这些植物细胞保护蛋白中, ASR 蛋白 (the abscisic acid, stress, ripening protein) 作为植物应对各种压力, 包括作为渗透胁迫过程中的一个潜在的关键调节因子已引起人们广泛关注 (Cakir et al., 2003; Carrari et al., 2004; Frankel et al., 2007; Konrad & Bar-Zvi, 2008; Carpentier et al., 2010)。ASR 蛋白是一类受 ABA、干旱、高盐、低温, 有限光照等逆境胁迫诱导和在成熟过程中上调表达的蛋白质 (Rossi et al., 1998; Yang et al., 2005a)。Iusem 等 (1993) 最早从番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中分离得到第 1 个 ASR 蛋白, 随后, 番茄中的其他 ASR 成员也被发现 (Amitai-Zeigerson et al., 1994; Rossi & Iusem, 1994), 很多 ASR 蛋白的同源序列陆续从多种植物中克隆得到。无论在单子叶还是双子叶植物, 草本还是木本植物中, ASR 均广泛存在, 但仅存在于植物中, 然而在模式植物拟南芥及其同源的盐芥 *Thellungiella halophilla* (Wong et al., 2006) 和十字花科植物芥蓝 *Thlaspi caerulescens* (Plessl et al., 2005) 中却没有发现该基因的同源序列 (Silhavy et al., 1995; Padmanabhan et al., 1997; Wang et al., 1998; Maskin et al., 2001; Cakir et al., 2003; Carrari et al., 2004; Jin, 2004; Dóczi et al., 2005; Yang et al., 2005b), 推测十字花科家族可能缺乏 ASR 同源基因。目前, ASR 蛋白在几十种植物中多以小基因家族形式存在 (Rossi et al., 1996)。例如, 水稻 (*Oryza sativa*) 中有 6 个成员 (Philippe et al., 2010), 番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中有 5 个成员 (Rossi et al., 1996; Gilad et al., 1997; Frankel et al., 2006), 松树 (*Pinus taeda*) 中有 4 个成员 (Chang et al., 1996), 而玉米 (*Zea mays*) 中则有多达 9 个成员, 为目前报道最高的成员数量 (Virlouvet et al., 2011)。

1 ASR 蛋白的特点及其亚细胞定位

1.1 ASR 蛋白的分类和特点

ASR 蛋白属于小分子碱性蛋白, 富含组氨酸、谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸等, 缺少半胱氨酸和色氨酸, 具有很强的亲水性。这些蛋白的分子量不同 (70 ~ 230 个氨基酸)、等电点不同 (从碱性到酸性) (Iusem et al., 1993; Amitai-Zeigerson et al., 1995; Cakir et al., 2003; 董凤英 等, 2009)。Iusem 等 (1993) 最早发现的番茄 ASR1 蛋白由于没有任何 N 端亲水重复序列, 被 Maskin 等 (2007) 认为是 1 种 LEA 蛋白 (late embryogenesis abundant), 即在种子发育过程中逐渐形成的, 通常在胚胎发育晚期的特定阶段大量表达的蛋白。LLA23 (百合的 ASR 蛋白) 的 C 末端具有富含钾的赖氨酸, 核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 显示该蛋白不属于 LEA 蛋白 (Wang et al., 2005)。后来, 陆续发现的植物 ASR 蛋白与干旱、盐碱、冷和热胁迫是相互联系的, 并且属于两个压力调节蛋白群体。第一群体包括维系植物生存的蛋白, 如植物体所需的渗透和离子平衡, 清除活性氧, 直接参与保护的高亲水性蛋白; 第二群体包括信号检测蛋白和信号蛋白, 如转录因子, 结合蛋白, 蛋白激酶和磷酸酶。在渗透胁迫调节方面, ASR 蛋白是双重功能的压力调节蛋白 (Yang et al., 2005a)。另一方面, ASR 蛋白很可能是最近提出 LEA 蛋白家族的第 7 组成员 (Battaglia et al., 2008), 该组所属成员具有共同的理化特性——具有大量与高亲水指数相关的甘氨酸 (Garay-Arroyo et al., 2000)。此外, LEA 蛋白是 DNA 结合蛋白 (Wise & Tunnacliffe, 2004; Battaglia et al., 2008), 而 ASR 蛋白的 DNA 结合能力是依赖 Zn^{2+} 与一段特异性 DNA 序列结合后, 达到无序到有序的过渡 (Kalifa et al., 2004a; Goldgur et al., 2007; Maskin et al., 2007)。两种蛋白在作为转录因子时是具有相同特点的 (Cakir et al., 2003; Shkolnik & Bar-zvi, 2008)。尽管 ASR 蛋白和 LEA 蛋白有一些相似, 但 ASR 蛋白还是缺乏 LEA 蛋白的显著特征 (Wise & Tunnacliffe, 2004)。因此, 也有一些文章没有把 ASR

蛋白归为 LEA 蛋白家族 (Hundertmark & Hinch, 2008; Hanault & Jaspard, 2010)。

1.2 ASR 蛋白的结构

不同物种来源的 ASR 蛋白结构高度保守, 甚至其 3' 端的非编码区也是保守的 (Frankel et al., 2006)。ASR 蛋白具有两个高度保守区: 第一个区域是短的 N 端区, N 端的一段由包含连续 6 ~ 7 个组氨酸残基重复大约 3 次组成的多肽, 能结合两个 Zn^{2+} ; 连续重复的组氨酸残基可能是结合位点。第二个区域是较长的 C 端区, 由大约 70 个氨基酸残基组成, 包含一个核定位的信号肽。但是, 也有研究表明在 ASR 多基因家族的垂直同源物和水平同源物中也并不都具有核定位信号肽 (Cakir et al., 2003)。第二区域高度保守 (Zheng et al., 2004), 含有 ASR 蛋白共同序列特征 ABA / WDS (Water deficit stress) 序列标签 (PF02496) (Canel et al., 1995; Padmanabhan et al., 1997), 在大约第 61 ~ 115 区段是 Zn^{2+} 依赖的 DNA 结合活性中心 (Kalifa et al., 2004a)。对不同物种来源的 ASR 蛋白进行分子系统进化分析, 单一物种的家庭成员比其它物种的 ASR 成员相互关系更密切, 显示具有种属特异性特点 (Carrari et al., 2004; Philippe et al., 2010)。

1.3 ASR 蛋白的亚细胞定位

ASR 蛋白的亚细胞定位是在细胞质 (Kalifa et al., 2004a; Urtasun et al., 2010) 还是在细胞核 (Cakir et al., 2003; Wang et al., 2003) 尚未明确。Padmanabhan 等 (1997) 进行的亚细胞定位试验和免疫荧光检测结果显示, 几乎所有的 ASR 蛋白均定位于细胞核内, 这一结果与 ASR 蛋白 C 端具有一个核定位信号相一致。也有一些报道认为 ASR 蛋白定位在细胞质中, 或一开始定位于细胞质中, 受胁迫诱导后转入细胞核 (Cakir et al., 2003)。例如, 体外研究表明, 番茄 ASR1 在非生物胁迫条件下以单体形式定位于胞浆中并保护胞浆蛋白 (Kalifa et al., 2004a; Konrad & Bar-Zvi, 2008); 在受到 ABA、渗透胁迫、成熟诱导和 Zn^{2+} 存在的情况下, 则以大量的二聚体形式定位于细胞核中 (Kalifa et al., 2004a; Goldgur et al., 2007), 而且最近经原子力显微镜和凝胶电泳分析证实, 体外 ASR1 结合 DNA 后容易形成不能被 SDS 完全分解的二聚体 (Ricardi et al., 2012)。由于不同植物中的 ASR 蛋白有两种不同的亚细胞定位, 进一步表明了该蛋白可能具有其明显的双重作用 (Wang et al., 1998; Saumonneau et al., 2012)。

2 ASR 蛋白编码基因的表达调控

2.1 基因表达和调控

在不同的物种中, ASR 基因在不同的器官中表达, 如柚, 杏的果实 (Canel et al., 1995; Mbeguie-A-Mbeguie et al., 1997), 番茄, 水稻, 松, 玉米的根和叶 (Amitai-Zeigerson et al., 1994; Chang et al., 1996; Riccardi et al., 1998; Vaidyanathan et al., 1999), 马铃薯块茎 (Silhavy et al., 1995) 和百合的花粉 (Wang et al., 1998)。此外, 一个 ASR 家族的不同成员可以在不同的器官中表达, 在不同的条件下具有不同的表达模式 (Canel et al., 1995; Maskin et al., 2001)。家族成员之间的序列同源性, 以及它们类似的大小, 阻碍了对单个成员表达的研究。然而它们的表达模式可能在转录和蛋白质之间的差异很大, 如马铃薯冷调节基因 (Schneider et al., 1997)。大多 ASR 蛋白在逆境条件下和果实成熟诱导下显示上调表达 (Frankle et al., 2006), 然而干旱诱导的马铃薯 *DS2* 代表了一个非常少见的水胁迫诱导的基因类型。*DS2* 基因是 ASR 基因家族成员。在马铃薯叶片中表现出高度的脱水特异性, 不被冷、热、盐、缺氧或氧胁迫诱导, 也与 ABA 无关, 对蔗糖和植物激素都不响应 (Silhavy et al., 1995; Dóczi et al., 2005)。ASR 在各种器官中的普遍存在以及不同的亚细胞定位、不同的表达

模式暗示该蛋白具有多样功能。但目前关于 ASR 蛋白的生理功能和作用分子机制尚不清楚。现有的几种推测认为 ASR 蛋白受诱导表达且能提高植物对逆境耐受能力的原因可能是：该蛋白具有 DNA-Binding 活性，起着类似真核生物非组蛋白染色体蛋白的作用（Gilad et al., 1997），在逆境胁迫时保护核 DNA 的稳定性（Kalifa et al., 2004a）；根据真核生物中这类蛋白的功能推测 ASR 蛋白可能参与改变 DNA 拓扑结构，维持染色质的高级结构（Zlatanova, 1990）。也有试验证明，具有 Zn^{2+} 依赖的 DNA-Binding 活性的 ASR 蛋白，在结合 Zn^{2+} 后构象发生改变，蛋白稳定性也发生改变，推测 ASR 蛋白通过感应逆境胁迫引起的细胞内 Zn^{2+} 浓度变化，改变蛋白构象，来应答逆境胁迫（Rom et al., 2006），但具体关系及作用机理还有待进一步研究。

另一些意见支持具有一定内源表达的 ASR 蛋白在非胁迫环境中参与植物生长发育过程，如衰老、果实发育、花粉成熟等（Iusem et al., 1993; Wang et al., 1996; Chen et al., 2011），在这些过程中它们受乙烯和 ABA 的共同调控，并作为转录因子或转录复合物中的一部分参与共同信号转导途径，在细胞质内接受信号，穿过核孔定位到细胞核上与 DNA 结合，通过改变 DNA 拓扑结构或染色质的高级结构调控基因的转录，改变基因的表达模式，从而改变植物的生物学特性（赵宏亮, 2006）。而 Maskin 等（2001）最先发现在胁迫环境中 ASR 蛋白可能作为共同信号转导途径中的一个下游成分参与植物细胞对各种环境信号的响应，从而使植物产生适应性。

还有研究发现，在葡萄果实的早期发育阶段和后期成熟过程中 *VvMSA*（葡萄 ASR 蛋白基因）上调表达，其表达受蔗糖诱导，ABA 能增强糖的诱导，说明来自葡萄的 ASR 蛋白可能与糖代谢信号途径有关，可能作为糖代谢复合体中的一部分参加调节单糖转运蛋白的表达（Cakir et al., 2003）。在植物中，ASR 蛋白可能参与 ABA 信号途径，也有部分 ASR 蛋白家族成员独立于 ABA 信号途径而响应逆境胁迫（Maskin et al., 2001）。因此，ASR 蛋白可能同时参与植物的独立于 ABA 信号途径，依赖 ABA 信号的转导途径，以及植物糖代谢途径，是这几种途径的交叉位点（Cakir et al., 2003）。

2.2 ASR 蛋白编码基因的启动子研究

目前，启动子和报告基因的融合表达试验表明，马铃薯 *ci21A* 的启动子赋予给 *GUS* 报告基因后，在转基因马铃薯的块茎中得到表达（Schneider et al., 1997）；此外，Rossi 等（1998）证明番茄 *ASR2* 的启动子受 ABA 调控表达。用马铃薯 *StDS2*（属于 ASR 基因家族）基因的启动子的两个区域，赋予给 *GUS* 报告基因，*GUS* 基因受渗透胁迫（冷、热、氧化、盐）和外源 ABA 诱导，其表达并没有显著改变，然而用干旱和 20% PEG 处理后，*GUS* 活性被强烈诱导，证明了响应缺水反应启动子区域的重要性（Dóczy et al., 2002）。最近对葡萄 ASR 基因 *VvMSA* 的两个最不相同启动子区域进行了功能分析，揭示了它们的报告基因的表达受 ABA 和葡萄糖代谢的调控，采用双荧光素酶系统进行瞬时表达分析发现顺式作用元件参与这些反应；另外发现，被赋予 *VvMSA* 启动子的 *GUS* 基因在茎和叶柄里优先表达，并且在稳定转化的烟草和在葡萄上运用原位杂交技术都进一步发现其韧皮部细胞中得到优先表达，说明植物中的 ABA 和葡萄糖信号通过响应环境因素参与葡萄 *ASRs* 基因表达的转录调控（Saumonneau et al., 2012）。

3 ASR 蛋白与植物的抗逆性

大量研究表明在各种非生物胁迫过程中，ASR 蛋白的积累对植物在胁迫条件下起到潜在保护作用。如 Vaidyanathan 等（1999）在水稻中发现 ASR 基因在茎中受外源 ABA、盐胁迫，甘露醇诱导上调表达；还有很多转基因试验证明，过表达 ASR 蛋白能提高植物对干旱、高盐、低温的耐受能力。

3.1 抗旱性

高等植物在复杂多变的环境中生长, 阵发性和短暂性干旱经常发生, 影响其正常的生长与发育 (张林生和赵文明, 2003)。Yang 等 (2005a) 将从百合花粉中克隆的 *ASR1* 基因以 *35S::ASR1* 结构转化到拟南芥中过量表达, 发现其表达受 ABA、盐和干旱的诱导。转基因的拟南芥种子能在具有抑制浓度的甘露醇和氯化钠等不利条件下萌发, 转基因拟南芥的水分散失减少, 抗干旱和抗盐能力增强。Frankel 等 (2006) 研究发现, 在缺水条件下 *ASR1* 和 *ASR4* 基因在番茄叶片中大量表达, 在栽培种中的表达比野生种中少。体外研究发现番茄的 *ASR1* 蛋白也以伴侣身份防止可溶性胞浆蛋白在干燥条件下展开 (Konrad & Bar-Zvi, 2008)。Giombini 等 (2009) 获得两个野生番茄种群 (*Solanum chilense*, *Solanum arcanum*) 的 *Asr2* 基因序列, 通过分析种内序列变异模式, 得出这可能是由于物种适应不同区域降雨量产生的结果, 进一步说明 *Asr* 基因与植物体感应水分量的多少密切相关。荔枝的 *LcASR* 蛋白中亲水氨基酸含量比较高。含有 ABA-WDS 保守结构域。ABA / WDS 结构域最早发现于水胁迫诱导蛋白 (Padmanabhan et al., 1997) 中, 推测 *LcASR* 蛋白可能在水胁迫方面也有一定的作用 (董凤英 等, 2009)。Philippe 等 (2010) 发现水稻的 4 个 *ASR* 成员中 *OsASR3* 与耐旱性密切相关。Cortés 等 (2012) 研究发现菜豆的 *ASR1* 基因也与植物的耐旱性有着重要的关系。Zhu 等 (2012) 在玉米中发现的抗干旱诱导蛋白 DIP, 属于 *ASR* 蛋白家族。Wang 等 (2013) 将从百合花粉中分离到的 1 个 *ASR* 基因 *LLA23* 转化到拟南芥中, 发现该基因编码的蛋白在水分缺乏条件下起到调节因子和保护分子的双重作用, 并且通过全基因组芯片揭示了 *LLA23* 和干旱诱导基因之间是有关系的。但是也有相反研究, 研究中发现过度表达大蕉 *MpASR*, 只有 2 个转基因拟南芥株系耐旱性增加。于是提出了在其转基因拟南芥增加耐旱性和 *MpASR* 表达水平之间没有相关性 (Liu et al., 2010)。通过对以上研究的分析, 说明 *ASR* 蛋白可以提高植物的抗旱性。

3.2 抗盐性

大量转基因试验表明, *ASR* 蛋白对植物抵抗盐胁迫具有重要作用。Kalifa 等 (2004b) 在烟草中过量表达番茄的 *ASR1* 蛋白, 增加了其耐盐能力, 在盐胁迫下转基因烟草比野生型长势更好, 且叶片组织中, Na^+ 和脯氨酸含量都比野生型低, Jha 等 (2012) 的研究同样发现, 来自海蓬子的 *SbASR1* 能够提高转基因烟草的抗盐性。Shen 等 (2005) 用 RT-PCR 分析显示银杏 *GbAsr* 在甘露醇和氯化钠诱导下上调。Goldgur 等 (2007) 用番茄的 *ASR1* 基因创制的转基因植株, 抗盐性增强。Zhu 等 (2012) 用原核表达玉米 *ZmDIP* 蛋白 (玉米 *ASR* 蛋白), 结果发现该蛋白可以调节耐盐性。Yang 等 (2007) 用蛋白质组学的方法在水稻根部鉴定了一些对铝产生应答的基因, 其中 *ASR5* 在根部大量表达; 最新的研究发现 ‘日本晴’ 水稻所有 *ASR* 基因家族成员在铝胁迫下显示不同程度的表达, 这表明 ‘日本晴’ 水稻 *ASR* 基因对铝胁迫调节表现出差异性, 但是 *ASR5* 对水稻根部的铝没有反应, 这与 ‘日本晴’ 对铝高度敏感不符合 (Freitas et al., 2006); 另外, 基因表达分析发现, *ASR* 的 RNAi 沉默型植株增加了铝的敏感性 (Arenhart et al., 2013)。

3.3 抗寒性及其它抗性

在受到冷胁迫时, 番茄的 *ASR1* 蛋白在胞质中表现出分子伴侣活性, 在解冻周期中能稳定一定数量的蛋白质, 以避免它们因反复冻结而引起的变性 (Konrad & Bar-Zvi, 2008)。转基因研究发现水稻 *OsAsr1* 基因的异源表达可增强转基因水稻的耐冷性 (Kim et al., 2009)。新的研究发现, 植物的 *ASR* 蛋白在各种渗透胁迫和抗病中也有作用, 如在拟南芥中过量表达大蕉 *MpASR* 基因, 转基因植株表现出耐渗透力的增强 (Dai et al., 2011), Liu 等 (2010) 发现在大蕉损伤的分生组织中, *MpASR3* 上调表达, 且外源 ABA 诱导也可使 *MpASR3* 上调。Henry 等 (2011) 同样发现了在香蕉的 4 个 *Asr*

基因成员中, *Asr1* 和 *Asr3* 受渗透胁迫和机械损伤的诱导表达, 而 *Asr3* 和 *Asr4* 受 ABA 诱导表达。最近报道, LLA23 (百合的 ASR 蛋白) 作为渗透保护剂, 有助于增强转基因拟南芥的酶保护和耐冷能力 (Hsu et al., 2011)。Yang 等 (2012) 用酵母双杂交的方法筛选到 NtTIP1 的多肽 (烟草 bZIP 型转录因子 TBZF 相互作用蛋白), 与马铃薯 CI21A (ASR/CI21 家族中的成员) 高度相似, 证实在冷胁迫条件下起作用。另外, 转基因烟草在受病原菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. 侵染时, *MpASR* 也参与抗病反应 (Liu et al., 2010); 还有, 在烟草和番茄中, 发现 *ASR2* 基因参与 *Cf* 介导的过敏性抗性反应 (Xu et al., 2012)。Zhu 等 (2012) 在玉米叶片中瞬时表达 *ZmDIP* 后接种玉米叶斑病原菌, 发现该叶片可以抵抗病原菌侵染; 于是推断 *ZmDIP* 介导的活性氧和 ABA 信号通路与玉米叶片抗病原体侵染密切相关。

4 展望

ASR 蛋白是一类具备多功能的逆境蛋白, 与植物的抗逆性密切相关, 可以使高等植物在极端条件下维持正常生命代谢活动, 但是对 ASR 蛋白的确切功能和作用机制的了解尚不完善, 还需要大量的研究工作。特别是对其如何参与植物抗逆性的分子机制并不十分清楚, 并且存在很多争议。未来需要利用分子生物学手段, 分析植物 ASR 蛋白编码基因对逆境胁迫的响应, 进一步明确 ASR 蛋白参与植物抗逆的分子机制; 从抗逆性强的植物中筛选出 ASR 蛋白基因, 通过基因表达模式分析, 异源表达, 突变体检测等方法探究其功能; 利用基因工程技术, 将特定筛选出的 ASR 蛋白基因转入栽培作物中, 培育出新的转基因品种, 这对提高植物的抗逆性和提高逆境下的作物产量均有重要意义。

References

- Amitai-Zeigerson H, Scolnik P A, Bar-Zvi D. 1994. Genomic nucleotide sequences of tomato *Asr2*, a second member of the stress ripening-induced *Asr1* gene family. *Plant Physiology*, 106 (4): 1699 – 1700.
- Amitai-Zeigerson H, Scolnik P A, Bar-Zvi D. 1995. Tomato *Asr1* mRNA and protein are transiently expressed following salt stress, osmotic stress and treatment with abscisic acid. *Plant Science*, 110 (2): 205 – 213.
- Arenhart R A, de Lima J C, Pedron M, Carvalho F E, Silveira J A, Rosa S B, Caverzan A, Andrade C M, Schünemann M, Margis R, Margis-Pinheiro M. 2013. Involvement of ASR genes in aluminium tolerance mechanisms in rice. *Plant, Cell and Environment*, 36 (1): 52 – 67.
- Battaglia M, Olvera-Carrillo Y, Garcarrubio A, Campos F, Covarrubias A A. 2008. The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiology*, 148 (1): 6 – 24.
- Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7 (7): 1099 – 1111.
- Cakir B, Agasse A, Gaillard C, Saumonneau A, Delrot S, Atanassova R. 2003. A grape ASR protein involved in sugar and abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 15 (9): 2165 – 2180.
- Canel C, Bailey-Serres J N, Roose M L. 1995. Pummelo fruit transcript homologous to ripening-induced genes. *Plant Physiology*, 108: 1323 – 1324.
- Carpentier S C, Vertommen A, Swennen R, Witters E, Fortes C, Souza M T, Panis B. 2010. Sugar-mediated acclimation: The importance of sucrose metabolism in meristems. *Journal of Proteome Research*, 9 (10): 5038 – 5046.
- Carrari F, Fernie A R, Iusem N D. 2004. Heard it through the grapevine? ABA and sugar cross-talk: The ASR story. *Trends in Plant Science*, 9 (2): 57 – 59.
- Chang S, Puryear J D, Dias M A D L, Funkhouser E A, Newton R J, Cairney J. 1996. Gene expression under water deficit in loblolly pine (*Pinus taeda*): Isolation and characterization of cDNA clones. *Physiologia Plantarum*, 97 (1): 139 – 148.
- Chen J Y, Liu D J, Jiang Y M, Zhao M L, Shan W, Kuang J F, Lu W J. 2011. Molecular characterization of a strawberry *FaASR* gene in relation to fruit ripening. *PLoS ONE*, 6 (9): e24649.
- Cortés A J, Chavarro M C, Madriñán S, This D, Blair M W. 2012. Molecular ecology and selection in the drought related *Asr* gene polymorphisms in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BMC Genetics*, 13: 58.

- Dai J R, Liu B, Feng D R, Liu H Y, He Y M, Qi K B, Wang H B, Wang J F. 2011. MpAsr encodes an intrinsically unstructured protein and enhances osmotic tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 30 (7): 1219 – 1230.
- Dóczi R, Csanaki C, Bánfalvi Z. 2002. Expression and promoter activity of the desiccation specific *Solanum tuberosum* gene, *StDS2*. *Plant, Cell and Environment*, 25 (9): 1197 – 1203.
- Dóczi R, Kondrák M, Kovács G, Beczner F, Bánfalvi Z. 2005. Conservation of the drought-inducible *DS2* genes and divergences from their ASR paralogues in solanaceous species. *Plant Physiology Biochemistry*, 43 (3): 269 – 276.
- Dong Feng-ying, Wang Jia-bao, Xu Bi-yu, Jin Zhi-qiang. 2009. Bioinformatic analysis and construction of plant expression vector of *LcAsr* gene from litchi. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 30 (5): 677 – 682. (in Chinese)
- 董凤英, 王家保, 徐碧玉, 金志强. 2009. 荔枝 *LcAsr* 基因的生物信息学分析与载体构建. *热带作物学报*, 30 (5): 677 – 682.
- Frankel N, Carrari F, Hasson E, Iusem N D. 2006. Evolutionary history of the Asr gene family. *Gene*, 378: 74 – 83.
- Frankel N, Nunes-Nesi A, Balbo I, Mazuch J, Centeno D, Iusem N D, Fernie A R, Carrari F. 2007. ci21A/Asr1 expression influences glucose accumulation in potato tubers. *Plant Molecular Biology*, 63 (5): 719 – 730.
- Freitas F A, Kopp M M, Sousa R O, Zimmer P D, Carvalho F I, Oliveira A C. 2006. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. *Ciência Rural*, 36 (1): 72 – 79.
- Garay-Arroyo A, Colmenero-Flores J M, Garciarrubio A, Covarrubias A A. 2000. Highly hydrophilic proteins in prokaryotes and eukaryotes are common during conditions of water deficit. *Journal of Biological Chemistry*, 275 (8): 5668 – 5674.
- Gilad A, Amitai-Zeigerson H, Bar-Zvi D, Scolnik P A. 1997. *ASR1*, a tomato water-stress regulated gene: Genomic organization, developmental regulation and DNA-binding activity. *Acta Horticulturae*, 447: 447 – 454.
- Giombini M I, Frankel N, Iusem N D, Hasson E. 2009. Nucleotide polymorphism in the drought responsive gene *Asr2* in wild populations of tomato. *Genetic*, 136 (1): 13 – 25.
- Goldgur Y, Rom S, Ghirlando R, Shkolnik D, Shadrin N, Konrad Z, Bar-Zvi D. 2007. Desiccation and zinc binding induce transition of tomato abscisic acid stress ripening 1, a water stress and salt stress-regulated plant-specific protein, from unfolded to folded state. *Plant Physiology*, 143 (2): 617 – 628.
- Henry I M, Carpentier S C, Pampurova S, Hoylandt A V, Panis B, Swennen R, Remy S. 2011. Structure and regulation of the *Asr* gene family in banana. *Planta*, 234 (4): 785 – 798.
- Hsu Y F, Yu S C, Yang C Y, Wang C S. 2011. Lily ASR protein-conferred cold and freezing resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49 (9): 937 – 945.
- Hundertmark M, Hinch D K. 2008. LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 9: 118.
- Ingram J, Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: 377 – 403.
- Iusem N D, Bartholomew D M, Hitz W D, Scolnik P A. 1993. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) transcript induced by water deficit and ripening. *Plant Physiology*, 102 (4): 1353 – 1354.
- Jha B, Lal S, Tiwari V, Yadav S K, Agarwal P K. 2012. The SbASR-1 gene cloned from an extreme halophyte *Salicornia brachiata* enhances salt tolerance in transgenic tobacco. *Marine Biotechnology*, 14 (6): 782 – 792.
- Jin J. 2004. Identification of protein coding regions of rice genes using alternative spectral rotation measure and linear discriminant analysis. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2 (3): 167 – 173.
- Kalifa Y, Gilad A, Konrad Z, Zaccari M, Scolnik P A, Bar-Zvi D. 2004a. The water and salt-stress-regulated *Asr1* (abscisic acid stress ripening) gene encodes a zinc-dependent DNA-binding protein. *Biochemistry Journal*, 381 (2): 373 – 378.
- Kalifa Y, Perlson A, Gilad A, Konrad Z, Scolnik P A, Bar-Zvi D. 2004b. Over-expression of the water and salt stress-regulated *Asr1* gene confers an increased salt tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 27 (12): 1459 – 1468.
- Kim S J, Lee S C, Hong S K, An K, An G, Kim S R. 2009. Ectopic expression of a cold responsive *OsAsr1* cDNA gives enhanced cold tolerance in transgenic rice plants. *Molecules and Cells*, 27 (4): 449 – 458.
- Konrad Z, Bar-Zvi D. 2008. Synergism between the chaperone-like activity of the stress regulated ASR1 protein and the osmolyte glycine-betaine.

- Planta, 227 (6): 1213 – 1219.
- Liu H Y, Dai J R, Feng D R, Liu B, Wang H B, Wang J F. 2010. Characterization of a novel plantain Asr gene, *MpAsr*, that is regulated in response to infection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and abiotic stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52 (3): 315 – 323.
- Maskin L, Frankel N, Gudesblat G, Demergasso M, Pietrasanta L, Iusem N D. 2007. Dimerization and DNA-binding of ASR1, a small hydrophilic protein abundant in plant tissues suffering from water loss. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352 (4): 831 – 835.
- Maskin L, Gudesblat G E, Moreno J E, Carrari F O, Frankel N, Sambade A, Rossi M, Iusem N D. 2001. Differential expression of the members of the Asr gene family in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Science*, 161 (4): 739 – 746.
- Mbeguie-A-Mbeguie D, Gomez R M, Fils-Lycaon B. 1997. Molecular cloning and nucleotide sequence of a protein from apricot fruit (Accession No. U82760) homologous to LEC14B protein isolated from *Lithospermum* gene expression during fruit ripening (PGR 97-161). *Plant Physiology*, 115: 1288.
- Padmanabhan V, Dias D M, Newton R J. 1997. Expression analysis of a gene family in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) induced by water deficit stress. *Plant Molecular Biology*, 35 (6): 801 – 807.
- Philippe R, Courtois B, McNally K L, Mournet P, El-Malki R, Le Paslier M C, Fabre D, Billot C, Brunel D, Glaszmann J C, This D. 2010. Structure, allelic diversity and selection of Asr genes, candidate for drought tolerance, in *Oryza sativa* L. and wild relatives. *Theoretical and Applied Genetics*, 121 (4): 769 – 787.
- Plessl M, Rigola D, Hassinen V, Aarts M G, Schat H. 2005. Transcription profiling of the metal-hyperaccumulator thlaspi biology: Identification of SUSIBA2 as a transcriptional activator in plant sugar signalling. *The Plant Journal*, 44 (1): 128 – 138.
- Ricardi M M, Guaimas F F, González R M, Burrieza H P, López-Fernández M P, Jares-Erijman E A, Estévez J M, Iusem N D. 2012. Nuclear import and dimerization of tomato ASR1, a water stress-inducible protein exclusive to plants. *PLoS ONE*, 7 (8): e41008.
- Riccardi F, Gazeau P, de Vienne D, Zivy M. 1998. Protein changes in response to progressive water deficit in maize. *Plant Physiology*, 117 (4): 1253 – 1263.
- Rom S, Gilad A, Kalifa Y, Konrad Z, Karpasas M M, Goldgur Y, Bar-Zvi D. 2006. Mapping the DNA- and zinc-binding domains of ASR1 (abscisic acid stress ripening), an abiotic-stress regulated plant specific protein. *Biochimie*, 88 (6): 621 – 628.
- Rossi M, Carrari F, Cabrera-Ponce J L, Vazquez-Rovere C, Herrera-Estrella L, Gudesblat G, Iusem N D. 1998. Analysis of an abscisic acid (ABA)-responsive gene promoter belonging to the Asr gene family from tomato in homologous and heterologous systems. *Molecular and General Genetics*, 258 (1 – 2): 1 – 8.
- Rossi M, Iusem N D. 1994. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) genomic clone homologous to a gene encoding an abscisic acid induced protein. *Plant Physiology*, 104 (3): 1073 – 1074.
- Rossi M, Lijavetzky D, Bernacchi D, Hopp H E, Iusem N. 1996. Asr genes belong to a gene family comprising at least three closely linked loci on chromosome 4 in tomato. *Molecular and General Genetics*, 252 (4): 489 – 492.
- Saumonneau A, Laloï M, Lallemand M, Rabot A, Atanassova R. 2012. Dissection of the transcriptional regulation of grape ASR and response to glucose and abscisic acid. *Journal of Experimental Botany*, 63 (3): 1495 – 1510.
- Schneider A, Salamini F, Gebhardt C. 1997. Expression patterns and promoter activity of the cold-regulated gene ci21A of potato. *Plant Physiology*, 113 (2): 335 – 345.
- Shen G O, Pang Y Z, Wu W S, Deng Z X, Liu X F, Lin J A, Zhao L X, Sun X F, Tang K X. 2005. Molecular cloning, characterization and expression of a novel Asr gene from *Ginkgo biloba*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43 (9): 836 – 843.
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 58 (2): 221 – 227.
- Shkolnik D, Bar-Zvi D. 2008. Tomato ASR1 abrogates the response to abscisic acid and glucose in *Arabidopsis* by competing with ABI4 for DNA binding. *Plant Biotechnology Journal*, 6 (4): 368 – 378.
- Silhavy D, Hutvagner G, Barta E, Binfalvi Z. 1995. Isolation and characterization of a water-stress-inducible cDNA clone from *Solanum chacoense*. *Plant Molecular Biology*, 27 (3): 587 – 595.
- Urtasun N, Correa Garcia S, Iusem N, Moretti B. 2010. Predominantly cytoplasmic localization in yeast of ASR1, a nonreceptor transcription factor from plants. *Open Biochemistry Journal*, 4: 68 – 71.

- Virloulet L, Jacquemot M P, Gerentes D, Corti H, Bouton S, Gilard F, Valot B, Trouverie J, Tcherkez G, Falque M, Danmerval C, Rogowsky P, Preze P, Noctor G, Zivy M, Coursol S. 2011. The ZmASR1 protein influences branched-chain amino acid biosynthesis and maintains kernel yield in maize under water-limited conditions. *Plant Physiology*, 157 (2): 917 – 936.
- Vaidyanathan R, Kuruvilla S, Thomas G. 1999. Characterization and expression pattern of an abscisic acid and osmotic stress responsive gene from rice. *Plant Science*, 140 (1): 21 – 30.
- Wang C S, Liao Y E, Huang J C, Wu T D, Su C C, Lin C H. 1998. Characterization of a desiccation related protein in lily pollen during development and stress. *Plant Cell Physiology*, 39 (12): 1307 – 1314.
- Wang C S, Wu T D, Chung C K W, Lord E M. 1996. Two classes of pollen-specific, heat-stable proteins in *Lilium longiflorum*. *Physiologia Plantarum*, 97 (4): 643 – 650.
- Wang C S, Hsu S W, Hsu Y F. 2013. Chapter two-new insights into desiccation-associated gene regulation by *Lilium longiflorum* ASR during pollen maturation and in transgenic *Arabidopsis*. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 301: 37 – 94.
- Wang H J, Hsu C M, Jauh G Y, Wang C S. 2005. A lily pollen ASR protein localizes to both cytoplasm and nuclei requiring a nuclear localization signal. *Physiologia Plantarum*, 123 (3): 314 – 320.
- Wang H J, Jauh G Y, Hsu Y H, Wang C S. 2003. The nuclear localization signal of a pollen-specific, desiccation-associated protein of a lily is necessary and sufficient for nuclear targeting. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 44: 123 – 128.
- Wang Jing-ying, Li Yong-chun, Yin Jun, Liu Hao-ying, Si Zhi-fei. 2008. Research on signal transduction and gene expression under drought stress in plant. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24 (1): 271 – 275. (in Chinese)
- 王静英, 李永春, 尹 钧, 刘昊英, 司志飞. 2008. 干旱胁迫下植物的信号转导及基因表达研究进展. *中国农学通报*, 24 (1): 271 – 275.
- Wise M J, Tunncliffe A. 2004. POPP the question: What do LEA proteins do? *Trends in Plant Science*, 9 (1): 13 – 17.
- Wong C E, Li Y, Labbe A, Guevara D, Nuin P, Whitty B, Diaz C, Golding G B, Gray G R, Weretilnyk E A, Griffith M, Moffatt B A. 2006. Transcriptional profiling implicates novel interactions between abiotic stress and hormonal responses in *Thellungiella*, a close relative of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 140 (4): 1437 – 1450.
- Xiong L, Zhu J K. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell Environment*, 25 (2): 131 – 139.
- Xu Q F, Cheng W S, Li S S, Li W, Zhang Z X, Xu Y P, Zhou X P, Cai X Z. 2012. Identification of genes required for Cf-dependent hypersensitive cell death by combined proteomic and RNA interfering analyses. *Journal of Experimental Botany*, 63 (7): 2421 – 2435.
- Yang C Y, Chen Y C, Jauh G Y, Wang C S. 2005a. A lily ASR protein involves abscisic acid signaling and confers drought and salt resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 139 (2): 836 – 846.
- Yang Q, Wang Y, Zhang J, Shi W, Qian C, Peng X. 2007. Identification of A1 – responsive proteins in rice roots by a proteomic approach: Cysteine synthase as a key player in A1 response. *Proteomics*, 7 (5): 737 – 749.
- Yang S H, Kim S H, Berberich T, Kusano T. 2012. Identification and properties of a small protein that interacts with a tobacco bZIP-type transcription factor TBZF. *Plant Biotechnology*, 29 (4): 395 – 399.
- Yang X, Liang Z, Lu C. 2005b. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 138 (4): 2299 – 2309.
- Zhang Lin-sheng, Zhao Wen-ming. 2003. LEA protein functions to tolerance drought of the plant. *Plant Physiology Journal*, 39 (1): 61 – 66. (in Chinese)
- 张林生, 赵文明. 2003. LEA 蛋白与植物的抗旱性. *植物生理学通讯*, 39 (1): 61 – 66.
- Zhao Hong-liang. 2006. Analysis of the expression and functional of the *Maasr1* in different periods in the banana postharvest [M. D. Dissertation]. Danzhou: Huanan Tropical Agriculture University. (in Chinese)
- 赵宏亮. 2006. *Maasr1* 在香蕉果实采后不同时期的表达及功能分析 [硕士论文]. 儋州: 华南热带农业大学.
- Zheng S, Henken B, Yul K. 2004. The development of a reproducible *Agrobacterium tumefaciens* transformation system for garlic (*Album sativum* L.) and transgenic garlic resistant to beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hübner). *Molecular Breeding*, 14 (3): 293 – 307.
- Zhu J W, Huang X L, Liu T, Gao S G, Chen J. 2012. Cloning and function analysis of a drought-inducible gene associated with resistance to *Curvularia* leaf spot in maize. *Molecular Biology Reports*, 39 (8): 7919 – 7926.
- Zlatanova J. 1990. Histone H1 and the regulation of transcription of eukaryotic genes. *Trends in Biochemical Science*, 15 (7): 273 – 276.