

·综述·

羊草分子生物学研究进展

孔祥军^{1,2}, 梁正伟^{1,3*}

(1.中国科学院 东北地理与农业生态研究所 中国吉林 长春 130012;

2.中国科学院研究生院 中国北京 100039;3.中国大安碱地生态试验站,中国吉林 大安 131317)

摘要:羊草是一种优质牧草,对发展我国优质草地畜牧业具有重要意义。以往研究对羊草生物学以及生理生态学进行了比较深入的探讨,但对于羊草分子生物学的研究起步较晚,进展也比较缓慢。近年来,随着分子生物学研究手段和技术的进步,以及羊草遗传改良的需要,人们在羊草遗传多样性、愈伤组织培养、酶蛋白分析以及基因克隆与转化等研究领域陆续开展了一些有益的尝试,并取得了重要的研究成果。结合科研工作的需要,对羊草分子生物学的最新进展进行了概述,并就亟需解决的问题进行了分析,提出了该领域今后的发展方向。

关键词:羊草;分子生物学;遗传多样性;组织培养;基因克隆

中图分类号:S543.901

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2007)04-0289-06

Progress on Molecular Biology of *Leymus chinensis*

KONG Xiang-jun^{1,2}, LIANG Zheng-wei^{1,3*}

(1. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, Jilin, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Da'an Sodic Land Experiment Station of China, Da'an 131317, Jilin, China)

Abstract: As a kind of excellent herbaceous species, *Leymus chinensis* is very important for developing grassland stockbreeding. The biology and physiological ecology in *L. chinensis* have been studied in detail, but little progress were made on molecular biology because of the later start. Recently, with the advancement of molecular biological technology and methods and the necessity for genetic improvement of *L. chinensis*, many instructive experiments had been designed and great achievements had been achieved in the fields of the genetic diversity, callus cultivating, analyzing of enzymes and proteins, and cloning and transferring of genes in *L. chinensis*. The progresses on molecular biology in *L. chinensis* were summarized, the problems were discussed and the future development directions in this research field were proposed.

Key words: *Leymus chinensis*; molecular biology; genetic diversity; callus cultivating; gene cloning

(Life Science Research, 2007, 11(4):289~294)

羊草(*Leymus chinensis*)是多年生禾本科赖草属草本植物,由于其环境适应性较强,具有耐寒、耐旱、耐盐碱等优点而成为松嫩平原的优势物种。同时羊草也是一种重要的牧草资源,蛋白质

含量高,适口性好,耐践踏,在发展草原畜牧业方面具有重大的经济和社会效益^[1]。但羊草种子发芽率低^[2,3]、种子萌发最适 pH 值为 8.0~8.5^[4],加上过度放牧和草地盐碱化日益加重等原因,我国现存

收稿日期:2007-04-02;修回日期:2007-06-29

基金项目:国家科技部 973 项目(2007CB106800);中国科学院知识创新工程农业重大项目(KZCX1-SW-19-3-02);吉林省生态恢复与生态系统管理重点实验室项目(K09M6)

作者简介:孔祥军(1980-),男[满],河北承德人,博士研究生,主要从事植物抗逆分子机理研究,E-mail:kongxiangjun@neigae.ac.cn;梁正伟(1962-),男,吉林长春人,博士,研究员,博士生导师,通讯作者,主要从事植物逆境生理生态与分子生物学研究,Tel:0431-85542347,E-mail:liangzw@neigae.ac.cn

羊草草地约有90%以上发生了不同程度的退化^[5]。因此,研究羊草的遗传分化、抗逆机理、栽培育种以及转基因等对于改善生态环境和草场建设具有重要意义。随着分子生物学对各个学科的交叉渗透,使羊草的研究从细胞水平进一步深入到分子水平。羊草属于异交植物,物种趋向于在种群中具有较高水平的变异性,仅在松嫩草原中西部靠近内蒙古高原东部草原上的羊草种群就数以千计,这为研究羊草种群的遗传多样性提供了对象^[5]。培养愈伤组织是进行羊草转基因研究的前期工作,但诱导率低的问题尚未得到解决。笔者结合自己的科研工作,对羊草分子生物学领域的研究成果加以综述,旨为羊草抗逆分子机理研究提供参考资料。

1 羊草遗传多样性研究

由于羊草生态适应性强、分布范围广、生境类型多样,在长期的适应和进化过程中,羊草种群之间在形态、生理、生态以及遗传特征方面均产生了趋异^[6]。RAPD(randomly amplified polymorphic DNA, 随机扩增多态 DNA)技术可以在对被检对象无任何分子生物学资料的情况下对其基因组进行分析,而且具有费用较低、方便易行、模板 DNA 用量少、不需要同位素,在安全性和实验操作上具有比 AFLP (amplified fragment length polymorphism, 扩增酶切片多态性)、SSR (simple sequence repeat, 微卫星重复序列)等分子标记更加简便易行等优点^[7],从而使其成为目前研究羊草遗传多样性的最重要的手段之一。该技术主要是利用各种种群羊草的总基因组 DNA 作为模版,筛选能够扩增出具有明显差异性条带的随机引物,以至少两次重复均出现的结果做 0,1 矩阵图,即有条带记为 1,无条带记为 0,计算总片段数及多态位点百分率、各种种群间遗传相似系数和遗传距离,利用分析软件进行聚类分析从而得到其遗传结构树状图。

羊草 RAPD 分析可以用于研究羊草的种群关系以及遗传分化的影响因子。崔继哲等^[8]应用 RAPD 技术证明相似生境或同一地域的种群在一些位点上表现出相似或相同的变化。刘惠芬等^[9]运用 RAPD 技术对内蒙古典型草原不同生境 8 个羊草种群进行分析,聚类结果显示生境相似的种群能够聚在一起,而地理距离最近的种群不一定归为一类,说明小范围内羊草种群间的遗传分化与地理距离不存在相关性,而与其生境间的相似

度相关。影响遗传相似性的不是单一因子而是各种因子的综合作用,较小地理范围内羊草种群间的遗传分化主要是由环境的异质性所引起的。笔者曾以采自中国大碱地生态试验站 (N45°36', E123°53')^[10]的羊草种子单株播种栽培,以每株羊草幼苗的地上部为材料进行 RAPD 分析,30 个实验样品的平均遗传距离为 0.190 9,共可分为 4 个类群(待发表)。通过 RAPD 分析,还可以进一步将羊草遗传分化多样性的原因具体化。汪恩华等^[11]利用分子标记与形态标记以 21 个有效随机引物中对 9 份羊草材料进行 RAPD 分析,对随机抽取的 17 份禾草种质进行了种质评估的比较研究。结果表明,羊草种质的小穗数、种子千粒重、叶色、有性繁殖量和结实率 5 个形态学指标与遗传多样性指标存在一定的相关性。应用 RAPD 技术对不同生境羊草在水分胁迫下游离脯氨酸含量的变化做聚类图比较分析,证实水分是影响羊草种群间遗传变异和生态型分化的一个最主要的因子^[12]。虽然水因子是影响羊草分化的一个主导因子,但是在实际研究工作中也认识到羊草变异和分化是多种生态因子综合作用的结果(如温度、海拔、经纬度、土壤类型等),而且各因子之间又是相互影响,在不同的生境中限制因子又是变换的,这就造成不同地理种群的羊草遗传分化过程的复杂性^[13]。由此可见,目前以羊草为实验材料的 RAPD 分析虽有许多报道,但是由于羊草本身具有较高的种群变异性,组成羊草群落的植物总计有 357 种^[5],加之尚缺乏一种统一的标准分型方法,因此 RAPD 技术就成为研究羊草分类及来源的主要工具,在物种鉴定及遗传分化研究中发挥着重要作用。

除了 RAPD 技术以外,等位酶技术也可用于羊草遗传多样性分析。等位酶是指由一个位点的不同等位基因编码的同种酶的不同类型,其功能相同但氨基酸序列不同。崔继哲等^[14]通过该技术,综合分析了松嫩平原 11 个羊草种群的遗传多样性及遗传分化指标,深入剖析了灰绿型和黄绿型两种叶色类型羊草种群之间的遗传差异,证明种群间的遗传距离与地理距离之间没有相关。崔继哲等^[15]还采用淀粉凝胶电泳技术,应用等位酶分析方法测定了松嫩平原南部微生境下羊草灰绿色和黄绿色两种生态型 9 个种群的遗传多样性和遗传分化程度,证明羊草种、种群和生态型水平都维持较高的遗传多样性,两种生态型之间有显

的遗传多样性差异及遗传分化。另外,对不同生境、不同分类种群的遗传结构分析发现羊草种群遗传变异度很高,但是无论如何归属,松嫩草原上的羊草种群遗传分化程度很低,推测可能与羊草为异花授粉、不同类型混生及种群间基因流强度大有关^[16]。刘杰等^[17,18]曾用 SSR 作为探针构建了羊草的遗传指纹图谱,为羊草种质资源评价、种间及种内亲源关系分析、生物多样性研究提供了有效手段。利用 AFLP 方法对我国不同地区分布的羊草材料进行的 DNA 多态性分析结果也表明了羊草基因组 DNA 具有比较丰富的多态性。

2 羊草愈伤组织培养及利用

植物组织细胞培养(plant tissue and cell culture)是通过运用植物组织细胞培养技术实现植物育种获得新品种的一条快捷途径,既可以通过花粉培养、未授粉子房以及胚株培养等诱导形成单倍体植物,也可以通过植物愈伤组织培养中普遍存在的染色体变异实现植物突变育种。另外,通过植物组织培养技术进行的植物细胞融合(尤其是原生质体融合)、胚胎培养以及植物体外受精技术可获得远缘杂交种。通过植物组织培养中的茎尖培养能够产生无病毒原种,因而可用于植物脱毒,解决生产实践中植物病毒危害问题^[19]。组织培养是植物细胞工程学、遗传学、植物生理学、生物化学与分子生物学研究的重要基础,不仅用于快速繁殖,还用于单倍体育种、种质保存、生理学研究和基因转化等领域。

早在上世纪 80 年代,高天舜^[20]就利用羊草根茎作为外植体进行愈伤组织的诱导和植株再生材料,目的是为了改良羊草的遗传性状,试图通过组织培养途径获得羊草新类型。该研究采用当年生羊草根茎幼嫩部分的节间基部切段以及隔年生老根茎和当年生根茎的节间中部、顶部切段作为外植体,消毒处理后接种于 3 种 MS 培养基中,先进行暗培养,待长出愈伤组织后转入光照培养,诱导率平均在 20% 左右,分化率最高也只有 24.2%。羊草幼穗和成熟种子也可作为诱导愈伤组织的外植体。刘公社等^[21]以幼穗作为外植体,恒温 25℃ 条件下诱导愈伤组织,在加有 1 mg/L 2,4-D MS 培养基上继代 2 次后,转移到含 1.0 mg/L KT 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基上分化培养得到再生芽,并在无激素的基本培养基上获得了生根的试管苗,移栽到温室后可正常生长。尽管从羊草叶片、

幼穗和成熟胚在同样培养条件下均能诱导出愈伤组织,但只有幼穗愈伤组织能够继续分化出再生植株,但分化率因基因型和外源激素的不同而不同。以成熟羊草种子为外植体诱导愈伤组织具有操作简便、污染程度低、材料选择直观化的优点,且诱导率和幼苗分化率较高、幼苗健壮、生长势好^[22]。崔秋华等^[23]采用 3 种培养基(MS、B5 和 8114),3 种 2,4-D 的浓度水平(1、2、4 mg/L)培养羊草幼嫩根茎和种子,结果表明,以种子作为外植体可获得较高的愈伤组织诱导率(29.05%)。但目前对于最适激素浓度没有统一结论,其范围从 1~4 mg/L 不等^[20-24],对愈伤组织的诱导效果也未达到令人满意的水平,仍需要深入研究。

在对羊草愈伤组织的应用方面,可以以羊草种子诱导出的愈伤组织为材料,用含有 NaCl 的培养基和含有 NaHCO₃ 与 Na₂CO₃ 的混合盐培养基进行培养,测定羊草愈伤组织的耐盐性。结果表明羊草愈伤组织对 NaCl 最大耐受强度为 180 mmol/L;对 NaHCO₃ 与 Na₂CO₃ 的混合盐的最大耐受强度为 4 mmol/L。中性盐(NaCl)与碱性盐(NaHCO₃ 与 Na₂CO₃)对羊草愈伤组织的胁迫机制明显不同^[25]。国内外对于愈伤组织的培养大多应用于转基因,但在羊草方面进行的该项研究却很少。刘公社^[26]将携带 PAT 基因的质粒通过基因枪法转化羊草愈伤组织,然后在筛选培养基上进行培养,筛选抗性愈伤组织并转接到分化培养基上,得到再生苗,然后接种到含有筛选剂的生根培养基上培养后得到转基因羊草小苗,该研究已获得耐除草剂的羊草新品种专利。曲同宝等^[27]用基因枪将 BADH 基因转入由羊草成熟胚诱导出的胚性愈伤组织中,获得了转基因植株,经过 PCR 检测证明外源基因已整合到羊草基因组中并得以表达。虽然转入羊草的基因都可被检测到已整合入羊草基因组中,而且也得到表达,但是对于转基因羊草对周围生态环境的影响还未见相关报道。筛选突变体是羊草愈伤组织的另一用途。陈晖等^[28]用组织培养方法筛选获得羊草抗羟脯氨酸(HYP)变异系 HR20-8,该变异系细胞内游离氨基酸和蛋白质组分氨基酸含量均发生了较大的变化,与供体对照比较,分别提高 2.35 倍和 1.40 倍。其中,游离脯氨酸和蛋白质组分脯氨酸分别提高 6.6 倍和 3.0 倍,且脯氨酸合成途径必需的 γ -谷氨酸激酶的活性提高了 2.5 倍。

3 羊草酶蛋白类研究

蛋白质是生物体生命中的第一重要物质,是生理功能的执行者,是生命现象的直接体现者,同时能够调控相关基因的表达。植物对抗非生物胁迫必然有蛋白质的参与,比如耐冷蛋白、热休克蛋白、水通道蛋白、赤霉素信号传导蛋白等,从羊草中检测这些蛋白的含量以及克隆表达该蛋白的基因对于研究羊草耐逆分子机理和改善羊草品质都具有重要意义。

目前对于羊草酶蛋白的研究还远远不够,主要有细胞色素氧化酶、过氧化物酶、脂酶同工酶等,其应用也仅局限于阐明羊草的遗传分化。通过聚类分析可以研究羊草种群在不同地理及生态环境中羊草在分子水平上细胞色素氧化酶同工酶存在着种内分化^[29]。羊草在同工酶水平上的分化受多个环境因子的综合影响,而且与羊草耐寒性能存在一定的内在联系^[30]。张丽萍等^[31]对采自同一天然草地上叶片呈黄绿色、灰绿色两种类型羊草的根、茎、叶的过氧化物同工酶、脂酶同工酶进行了分析比较。结果表明,两种叶色羊草,其相同组织的过氧化物同工酶谱及脂酶同工酶谱基本一致,两种羊草叶片呈现不同颜色只属不同生态型。

磁场处理不仅可以促进羊草的生长,而且还能提高羊草的抗盐碱性。磁场使羊草过氧化物酶(POD)活性提高,并且诱发了一条新的同工酶带^[32]。张卫东等^[33]认为羊草自交不孕的原因是自交不亲和性障碍,并利用禾本科植物自交不亲和性有关的硫氧还蛋白(thioredoxin)*h* 基因设计的引物在羊草 DNA 中检测到预期片段,说明硫氧还蛋白 *h* 基因可能与羊草的自交不亲和性有关,该基因现已被克隆并能够从 GenBank 中查到其序列。

研究羊草草原土壤酶的活性可以判断土壤的肥力。土壤肥力水平接近则土壤酶的活性相似,土壤蛋白酶、脲酶、多酚氧化酶的活性与土壤有机碳、全氮呈显著相关关系,可以反映土壤肥力水平高低,是评价土壤退化的重要指标^[34]。

4 羊草耐逆基因的分离与克隆

羊草具有耐寒、耐旱、耐盐碱的特性,并且蛋白质含量较高,说明羊草在面对非生物胁迫时高效表达能够适应、缓解或对抗相应逆境条件的物质,尤其是调控这些物质表达的酶类基因。据报道,羊草种子个体萌发期最大忍受 pH 范围是

9.14-9.53^[4],对于 NaCl 可耐受的最大强度为 600 mmol/L,对于 Na₂CO₃ 可耐受的最大强度为 175 mmol/L^[35-38]。为了弄清这种适应机制的复杂性,通过大规模的 cDNA 克隆或者表达序列标签(EST)的测序分离相关基因是非常重要的。Jin 等^[39]采集自然生长的植物叶组织经过 Na₂CO₃ 胁迫处理构建了 cDNA 文库,并对其 EST 进行测序对比分析,推断在羊草叶和根中各有 39 和 31 个非生物胁迫相关基因,这些 EST 资源将有助于对植物耐盐碱分子基础的深入研究和理解。

甜菜碱是在生物体内起着渗透保护作用最主要的细胞相溶性物质^[40],编码决定该物质合成的关键酶-甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因已经先后从多种生物体内得到克隆,并在多种植物中进行了遗传转化,已获得了抗盐、抗寒、耐旱能力得到较大程度提高的转基因植株。某些植物体内的甜菜碱含量和 BADH 活性随着土壤盐碱化程度的加重而增加,因此推测甜菜碱可能与羊草耐盐碱性有关。目前羊草中的部分 BADH 基因片段也已经被成功克隆^[41-43]。

5 问题与展望

分子生物学技术自其应用以来,以其不可逆转的渗透能力和交叉能力与各个学科齐头并进、相辅相成、共同发展,许多生物现象的机理机制都要最终依赖分子生物学手段予以阐明。以往对羊草生物学以及生理生态学进行了比较深入的探讨,但对于羊草分子生物学的研究起步较晚,进展也比较缓慢。近年来,随着分子生物学研究手段和技术的进步,以及羊草遗传改良的需要,人们在羊草遗传多样性、愈伤组织培养、酶蛋白分析以及基因克隆与转化等研究领域陆续开展了一些有益的尝试,并取得了许多重要研究成果。今后应在分子水平上,如对羊草自交不亲和性、非生物胁迫耐受机理,种子休眠机理,关键酶基因的分离克隆与转化,转基因羊草对周围环境的潜在影响等诸多方面加以深入探讨与研究,必将为羊草资源的保护和合理利用提供充分的理论基础。

参考文献(References):

- [1] 刘公社,齐冬梅. 羊草生物学研究进展[J]. 草业学报(LIU Gong-she, QI Dong-mei. Research progress on the biology of *Leymus chinensis* [J]. Acta Prataculturae Sinica), 2004, 13(5):6-11.
- [2] 易津. 羊草种子的休眠生理及提高发芽率的研究[J]. 中国草地 (YI Jin. Studies on resting physiology and improving the

- germinate of seeds of *Leymus chinensis* [J]. Grassland of China, 1994, 3:15-21.
- [3] 马红媛, 梁正伟, 陈渊. 提高羊草种子发芽率方法研究进展 [J]. 中国草地 (MA Hong-yuan, LIANG Zheng-wei, CHEN Yuan. Research progress on improving germination rate of *Leymus chinensis* [J]. Grassland of China), 2005, 27:64-68.
 - [4] 马红媛, 梁正伟. 不同 pH 值土壤及其浸提液对羊草种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 植物学通报 (MA Hong-yuan, LIANG Zheng-wei. Effects of different soil pH and soil extracts on the germination and seedling growth of *Leymus chinensis* [J]. Chinese Bulletin of Botany), 2007, 24:181-188.
 - [5] 祝廷成. 羊草生物生态学 [M]. 长春: 吉林科学技术出版社 (ZHU Ting-cheng. Yang-Cao Biological Ecology [M]. Jilin: Jilin Science and Technology Press), 2004. 539-542.
 - [6] 胡宝忠, 刘娣, 胡国富, 等. 羊草遗传多样性的研究 [J]. 草业学报 (HU Bao-zhong, LIU Di, HU Guo-fu, et al. Morphological variation and genetic diversity in *Aneurolepidium chinense* [J]. Acta Phytocologica Sinica), 2001, 25(1):83-89.
 - [7] WANG T, SU Y J, LI X Y. Genetic structure and variation in the relict populations of *Alsophila spinulosa* from southern China based on RAPD markers and cpDNA atpB-rbcL sequence data. [J]. Hereditas, 2004, 140:8-17.
 - [8] 崔继哲, 祖元刚, 关晓铎. 羊草种群遗传分化的 RAPD 分析 I: 扩增片段频率的变化 [J]. 植物研究 (CUI Ji-zhe, ZU Yuan-gang, GUAN Xiao-duo. Genetic differentiation in *Leymus chinensis* populations revealed by RAPD markers I: variation on the frequencies of amplified fragments [J]. Bulletin of Botanical Research), 2001, 21(2):272-277.
 - [9] 刘惠芬, 高玉葆, 阮维斌, 等. 内蒙古中东部不同草原地带羊草种群遗传分化 [J]. 生态学报 (LIU Hui-fen, GAO Yu-bao, RUAN Wei-bin, et al. Genetic differentiation within and between *Leymus chinensis* populations from different zones of Mid-Eastern Inner Mongolia steppe [J]. Acta Ecologica Sinica), 2004, 24(10):2157-2164.
 - [10] 邓伟, 裘善文, 梁正伟. 中国大安碱地生态试验站区域生态环境背景 [M]. 北京: 科学出版社 (DENG Wei, QIU Shan-wen, LIANG Zheng-wei. Background of Regional Eco-environment in Da'an Sodic Land Experiment Station of China [M]. Beijing: Science Press), 2006. 1-14.
 - [11] 汪恩华, 刘杰, 刘公社, 等. 形态与分子标记用于羊草种质鉴定与遗传评估的研究 [J]. 草业学报 (WANG En-hua, LIU Jie, LIU Gong-she, et al. Germplasm identification and genetic evaluation on *Leymus chinensis* with morphology and molecular marker [J]. Acta Prataculturae Sinica), 2002, 11(4):68-75.
 - [12] 钱吉, 马玉虹, 任文伟, 等. 不同地理种群羊草分子水平上生态型分化的研究 [J]. 生态学报 (QIAN Ji, MA Yu-hong, REN Wen-wei, et al. Comparative study on ecotype differentiation of *Leymus chinensis* in different geographic populations at molecular level [J]. Acta Ecologica Sinica), 2000, 20(3):440-443.
 - [13] 任文伟, 钱吉, 郑师章. 不同地理种群羊草的遗传分化研究 [J]. 生态学报 (REN Wen-wei, QIAN Ji, ZHENG Shi-zhang. A comparative study on genetic differentiation of *Leymus chinensis* in different geographic populations [J]. Acta Ecologica Sinica), 1999, 19(5):689-696.
 - [14] 崔继哲, 祖元刚, 聂江力, 等. 松嫩草原羊草种群遗传分化的研究 [J]. 植物研究 (CUI Ji-zhe, ZU Yuan-gang, NIE Jiang-li, et al. Genetic differentiation of *Leymus chinensis* populations in Songnen grassland [J]. Bulletin of Botanical Research), 2001, 21(1):116-125.
 - [15] 崔继哲, 曲来叶, 祖元刚. 微生物下羊草两种生态型种群的遗传多样性及遗传分化——等位酶分析 [J]. 生态学报 (CUI Ji-zhe, QU Lai-ye, ZU Yuan-gang. Genetic diversity and differentiation of two ecotypes of *Leymus chinensis* populations in microhabitat-Allozyme analysis [J]. Acta Ecologica Sinica), 2000, 20(3):434-439.
 - [16] 崔继哲, 曲来叶, 祖元刚. 松嫩平原中部地区羊草种群的遗传结构研究 [J]. 植物研究 (CUI Ji-zhe, QU Lai-ye, ZU Yuan-gang. Genetic structure of *Leymus chinensis* populations in the center of Songnen plain of China [J]. Bulletin of Botanical Research), 2000, 20(1):89-93.
 - [17] 刘杰, 刘公社, 齐冬梅, 等. 用微卫星序列构建羊草遗传指纹图谱 [J]. 植物学报 (LIU Jie, LIU Gong-she, QI Dong-mei, et al. Construction of genetic fingerprints of *Aneurolepidium chinensis* using microsatellite sequences [J]. Acta Botanica Sinica), 2000, 42(9):985-987.
 - [18] 刘杰, 朱至清, 刘公社. 羊草种质基因组 DNA 的 AFLP 多态性研究 [J]. 植物学报 (LIU Jie, ZHU Zhi-qing, LIU Gong-she. Polymorphic studies of genome DNA of *Leymus chinensis* using AFLP [J]. Acta Botanica Sinica), 2002, 44(7):845-851.
 - [19] 张献龙, 唐克轩. 植物生物技术 [M]. 北京: 科学出版社 (ZHANG Xian-long, TANG Ke-xuan. Plant biotechnology [M]. Beijing: Science Press), 2004. 4.
 - [20] 高天舜. 羊草根茎外植体愈伤组织的诱导及植株再生 [J]. 植物学报 (GAO Tian-shun. Induction of callus and regeneration of plantlets from the rhizome explant of *Aneurolepidium chinensis* [J]. Acta Botanica Sinica), 1982, 24(2):182-185.
 - [21] 刘公社, 汪恩华, 刘杰, 等. 羊草幼穗离体培养诱导植株再生的研究 [J]. 草地学报 (LIU Gong-she, WANG En-hua, LIU Jie, et al. Plant regeneration of *Leymus chinensis* via in vitro culture [J]. Acta Botanica Sinica), 2002, 10(3):198-202.
 - [22] 魏琪, 胡国富, 李凤兰, 等. 羊草种子愈伤组织的诱导及植株再生 [J]. 东北农业大学学报 (WEI Qi, HU Guo-fu, LI Feng-lan, et al. Study on callus inducement and plant regeneration in seeds of *Aneurolepidium chinense* (Trin) Kitag [J]. Journal of Northeast Agricultural University), 2005, 36(1):41-44.
 - [23] 崔秋华, 张玉珍, 朴铁夫, 等. 羊草胚性愈伤组织的形成及植株再生 [J]. 吉林农业大学学报 (CUI Qiu-hua, ZHANG Yu-zhen, PU Tie-fu, et al. Study on embryonal callus inducement and plant regeneration of *Leymus chinense* [J]. Journal of Jilin Agricultural University), 1990, 12(3):1-5.
 - [24] 曲同宝, 王丕武, 关淑艳, 等. 羊草组织培养及再生系统的建立 [J]. 草业学报 (QU Tong-bao, WANG Pi-wu, GUAN Shu-yan, et al. Establishment of regeneration system of *Leymus chinensis* culture [J]. Acta Prataculturae Sinica), 2004, 13(5):91-94.
 - [25] 曲同宝, 魏键, 刘振库, 等. 羊草愈伤组织耐盐性初步研究 [J]. 吉林农业大学学报 (QU Tong-bao, WEI Jian, LIU Zhen-ku, et al. Preliminary research on characters of salt-tolerant callus in *Leymus chinensis* [J]. Journal of Jilin Agricultural University), 2005, 27(5):503-506.
 - [26] 刘公社. 获得转基因羊草的方法: 中国. (LIU Gong-she. The method of gaining transgenic *Leymus chinensis*: China 200410046142 [P]. 2005-02-23).
 - [27] 曲同宝, 王丕武. 基因枪法将 BADH 基因转入羊草的研究 [J]. 中国草地 (QU Tong-bao, WANG Pi-wu. Studies on transformation of BADH gene into *Leymus chinensis* [J]. Grassland of China), 2005, 27(2):27-30.

- [28] 陈晖, 匡柏健, 王敬驹. 通过细胞工程改良羊草品质的研究[J]. 草业学报 (CHEN Hui, KUANG Bai-jian, WANG Jing-jun. Quality improvement of *Aneurolepidium chinense* via cell engineering [J]. Acta Prataculturae Sinica), 1995, 4(1):1-4.
- [29] 卢萍, 郭惠梅, 梅丽君, 等. 羊草的细胞色素氧化酶同工酶分析[J]. 内蒙古师大学报自然科学(汉文)版(LU Ping, WU Hui-mei, MEI Li-jun, et al. The analysis of cytochrome isozyme of *Leymus chinensis* [J]. Journal of Inner Mongolia Normal University (Natural Science Edition)), 1998, 27(4): 313-315.
- [30] 汪敏, 钱吉, 郑师章. 羊草不同地理种群的同工酶研究[J]. 应用生态学报 (WANG Min, QIAN Ji, ZHENG Shi-zhang. Isozymes of different geographic populations of *Leymus chinensis* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology), 1998, 9(3): 269-272.
- [31] 张丽萍, 陈丽颖, 李建东. 东北松嫩草原羊草过氧化物同工酶及酯酶同工酶的研究. 草业科学 (ZHANG Li-ping, CHEN Li-ying, LI Jian-dong. The study on peroxidase and esterase isozymes of *Aneurolepidium chinense* [J]. Pratacultural Science), 1992, 9(3):49-51.
- [32] 夏丽华, 郭继勋. 磁场对羊草过氧化物酶的激活效应及同工酶分析 [J]. 应用生态学报 (XIA Li-hua, GUO Ji-xun. Effect of magnetic field on peroxidase activation and isozyme in *Leymus chinensis* [J]. chinese Journal of Applied Ecology), 2000, 11(5):699-702.
- [33] 张卫东, 刘公社, 刘杰. 羊草自交不亲和性初步研究[J]. 草业学报 (ZHANG Wei-dong, LIU Gong-she, LIU Jie. A preliminary study on self-incompatibility of *Leymus chinensis* [J]. Acta Agrestia Sinica), 1996, 5(2):43-48.
- [34] 颜宏, 赵伟, 尹尚军, 等. 羊草对不同盐碱胁迫的生理响应[J]. 草业学报 (LU Ping, WU Hui-mei, MEI Li-jun, et al. Different physiological responses of *Aneurolepidium chinense* to NaCl and Na₂CO₃ [J]. Acta Prataculturae Sinica), 2006, 15(6): 49-55.
- [35] 王娟, 谷雪景, 赵吉. 羊草草原土壤酶活性对土壤肥力的指示作用[J]. 农业环境科学学报 (WANG Juan, GU Xue-jing, ZHAO Ji. Function of soil enzyme activities in indicating soil fertility in *ssLeymus chinensis* steppe [J]. Journal of Agro-Environment Science), 2006, 25(4):934-938.
- [36] 周婵, 杨允菲. 松嫩平原两种趋异类型羊草实验种群对盐碱胁迫的水分响应[J]. 草业学报 (ZHOU Chan, YANG Yun-fei. Water characteristics on salt-alkali resistance of two divergent types in experimental *Leymus chinensis* populations in the Songnen Plain of China [J]. Acta Prataculturae Sinica), 2003, 12(1):65-68.
- [37] 颜宏, 石德成, 尹尚军, 等. 盐、碱胁迫对羊草体内 N 及几种有机代谢产物积累的影响. 东北师范大学学报 (自然科学版) (YAN Hong, SHI De-cheng, YIN Shang-jun, et al. Effects of salin-alkaline stress on the contents of nitrogen and several organisms of *Aneurolepidium chinense* [J]. Journal of Northeast Normal University), 2000, 32(3):47-52.
- [38] 王玉猛, 任立飞, 田秋英, 等. 根茎在羊草响应短期 NaCl 胁迫过程中的作用[J]. 植物生态学报 (WANG Yu-meng, REN Li-fei, TIAN Qiu-ying, et al. Physiological roles of rhizomes in response to short-term salinity in *Leymus chinensis* [J]. Journal of Plant Ecology), 2006, 30(6):954-959.
- [39] JIN H, PLAHA P, PARK JY, et al. Comparative EST profiles of leaf and root of *Leymus chinensis*, a xerophilous grass adapted to high pH sodic soil [J]. Plant Science, 2006, 170: 1081-1086.
- [40] WERETILNYK E A, HANSON A D. Betaine aldehyde dehydrogenase from spinach leaves. Purification in vivo translation of the mRNA, and regulation by salinity [J]. Arch Biochem Biophys, 1989, 271:56-63.
- [41] 崔喜艳, 郭继勋. 不同盐碱化草地羊草甜菜碱含量和甜菜碱醛脱氢酶活性的变化[J]. 吉林农业大学学报 (CUI Xi-yan, GUO Ji-xun. Changes of betaine content and activity of betaine aldehyde dehydrogenase of *Leymus chinensis* in different saline-alkali grassland [J]. Journal of Jilin Agricultural University), 2006, 28(6):606-609.
- [42] ZHANG N, LI X, XU X. Molecular cloned betaine aldehyde dehydrogenase in a monocotyledonous halophyte [DB10L]. *Leymus chinensis*, (2006-05-14) [2007-04-02]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=94983829#sequence_94983829.
- [43] OZAKI K, SHI WM, HIBINO T, et al. Molecular cloning and functional characterization of two kinds of betaine aldehyde dehydrogenase in a glycinebetaine-accumulating monocotyledonous halophyte [DB10L]. *Leymus chinensis*. (2005-01-13) [2007-04-02]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=57635839#sequence_57635839.

· 信息交流 ·

欢迎投稿、订阅《生物物理学报》

《生物物理学报》是中国生物物理学会主办的学术刊物, 为国内核心期刊。《生物物理学报》已被美国化学文摘(CA)、中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中国科学引文数据库(CSCD)、中文核心期刊要目总览、中国学术期刊文摘等收录。《生物物理学报》2006~2007 年连续获得了中国科协精品科技期刊工程项目的资助。

2008 年起, 《生物物理学报》的学科重点将进行一些调整, 会更多地报道分子、细胞水平的研究工作, 以及生物信息学方面取得的研究成果。同时, 也更加欢迎分子生物学、细胞生物学及生物信息学方面的来稿。

《生物物理学报》的读者对象为从事生物学、医学, 以及从事与生物学交叉学科的科研人员和大专院校师生。

《生物物理学报》为双月刊, 全年 6 期, 自办发行。2008 年每期定价 30 元, 全年 180 元(含邮费)。

请订阅 2008 年杂志的用户直接与编辑部联系。

编辑部联系方式:

通讯地址: 北京市朝阳区大屯路 15 号《生物物理学报》编辑部

邮政编码: 100101 电话: (010) 64888458 传真: (010) 64889892

E-mail: acta@sun5.ibp.ac.cn 网址: www.cjb.org.cn