



香蕉胁迫相关蛋白基因的克隆及其表达分析

邢文婷^{1,2},徐碧玉²,王 卓²,贾彩红²,刘菊华²,金志强^{2,3*}

(1 海南大学 农学院,海口 570228;2 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室,海口 571101;3 中国热带农业科学院海口实验站,海口 570102)

摘要:通过随机克隆测序的方法从香蕉根系 cDNA 文库中获得胁迫相关蛋白基因,命名为 *MaSAP1*(GenBank 登录号为 AGH14257.1)。扩增获得的 cDNA 序列与质粒 OZ092 的目的片段序列一致,表明 *MaSAP1* 是香蕉 SAP 基因编码框全长 cDNA,包含一个 510 bp 的最大开放阅读框,编码一个长 169 个氨基酸的蛋白质。蛋白质序列同源比对发现其含有完整的 A20 和 AN1 基序结构。系统进化树比对分析表明, *MaSAP1* 与水稻和獐茅的亲缘关系较近。组织特异性研究表明, *MaSAP1* 基因在香蕉根和果实中的表达量较高,在茎中的表达量最低。实时荧光定量 PCR 分析表明 *MaSAP1* 响应激素的处理,同时也响应干旱、低温、高盐和枯萎病菌的侵染等胁迫。可见, *MaSAP1* 基因在植物生长发育和植物响应逆境中具有重要作用。

关键词:香蕉;胁迫相关蛋白;基因克隆;表达

中图分类号:Q785;Q786 文献标志码:A

Cloning and Expression of Stress Associated Protein Gene from Banana (*Musa acuminata* L. AAA group, cv. Brazilian)

XING Wenting^{1,2}, XU Biyu², WANG Zhuo², JIA Caihong², LIU Juhua², JIN Zhiqiang^{2,3*}

(1 Department of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China; 2 Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture; Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3 Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 570102, China)

Abstract: The aim of this paper is to acquire genes related to the stress response in banana. A stress associated protein gene was acquired from banana roots cDNA library by randomly sequencing, which was named *MaSAP1* (GenBank accession number: AGH14257.1). The sequence amplified from banana root cDNA was the same with fragment sequences of plasmid OZ092 in library, indicating that *MaSAP1* was a full-length cDNA, containing a 510 bp of the largest open reading frame, encoding 169 amino acids. The homology alignment of protein sequence found to contain complete A20 and AN1 motif. Phylogenetic analysis indicated that the *MaSAP1* was closer with *Oryza sativa* and *Aeluropus littoralis*. Tissue-specific expression study showed that the expression of *MaSAP1* was higher in the roots and fruits, the lowest in the stems. Real-time PCR analysis showed *MaSAP1* in response to hormone treatment, and also in response to various stress, such as drought, low temperature, high salt and FocTR4. Altogether the results in this work demonstrated that *MaSAP1* may play an important biological role in plant growth and development, and plant response to different stress types.

Key words: banana; stress associated protein; gene clone; expression

收稿日期:2013-09-10;修改稿收到日期:2014-01-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31071788);国家现代农业产业体系项目(CARS-32)

作者简介:邢文婷(1987—),女,在读硕士研究生,主要从事作物分子遗传改良研究。E-mail:xingwenting8@126.com

*通信作者:金志强,研究员,主要从事香蕉分子生物学研究。E-mail:zhiqiangjin2001@yahoo.com.cn

非生物胁迫困扰着植物的生长,导致其生理、生化和形态发生变化,严重则会导致死亡;因而制约了植物的生长发育和作物产量的提高^[1]。植物在应对环境胁迫的响应中,诱导大量胁迫基因表达^[2-4],使植物对胁迫产生耐受力^[5-7]。锌指蛋白是参与调节植物生长发育和响应逆境的一类关键蛋白^[8-9]。锌指蛋白不仅可以参与DNA/RNA的识别,还能够与其它蛋白和脂类结合^[10-11]形成其丰富的生物功能。A20/AN1型锌指蛋白就是其中一类。在植物中,胁迫相关蛋白(stress associated protein, SAP)在N-或C-端包含A20、AN1或均包含A20和AN1锌指结构,一些SAP蛋白还在C端包含额外的Cys₂-His₂锌指模块^[12]。根据SAP蛋白结构上的锌指特点,通过系统进化分析将A20/AN1锌指蛋白家族分为两大类:类型I SAP蛋白具有典型的CX₂CX₉₋₁₂CX₁₋₂CX₄CX₂HX₅HXC结构;类型II具有扩展的CX₄CX₉₋₁₂CX₁₋₂CX₄CX₂HX₅HXC结构^[13]。前人研究表明,拟南芥中有10个SAP均包含A20和AN1锌指结构,3个SAP具有2个AN1锌指结构域,1个SAP具有1个AN1锌指结构域^[14]。水稻中18个SAP均包含有A20和/或AN1锌指结构域,11个SAP包含单个A20和AN1锌指结构域;OsSAP12包含2个A20和1个AN1锌指结构域^[12]。在水稻全基因组中18个SAP基因在非胁迫条件下有6个表达量较高,4个表达量较低^[12]。番茄的13个SAP基因成员对多种逆境胁迫均有应答^[15];玉米的7个SAP基因成员对冷胁迫均表现为上调表达^[16]。过量表达SAP基因能提高植物对逆境的耐受力^[17-19]。

香蕉是热带、亚热带发展中国家重要的农作物之一。其果实由于富含丰富的蛋白质和碳水化合物,是一些热带地区人民的主要粮食和国民收入的主要来源^[20]。在香蕉生产过程中经常遭受病虫害、低温、干旱和盐渍等因素的影响,降低了香蕉产量和果实品质,因此研究香蕉抗逆的机理十分重要。笔者从王卓等^[21]之前构建的香蕉根系均一化全长cDNA文库中进行随机测序获得一个包含SAP基因的克隆,通过实时荧光定量PCR方法研究该基因在香蕉对逆境响应中的表达变化,以期能够揭示该基因的生理功能。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

供试香蕉幼苗购自中国热带农业科学院组培中

心,苗龄为移栽大棚后约60 d的杯苗,浇灌Hoagland's营养液[0.51 g/L KNO₃, 0.82 g/L Ca(NO₃)₂, 0.49 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 0.136 g/L KH₂PO₄, 0.6 mg/L FeSO₄, 2.86 mg/L H₃BO₃, 1.81 mg/L MnCl₂ · 4H₂O, 0.08 mg/L CuSO₄ · 5H₂O, 0.22 mg/L ZnSO₄ · 7H₂O, 0.09 mg/L H₂MoO₄ · 4H₂O], pH 6.0^[22]]。材料分8个组,每组处理20棵苗。*Fusarium oxysporum* f. *specialis* (f. Sp) cubense Tropical Race 4(Foc TR4)处理:将幼苗置于1.5×10⁶个/mL的孢子悬液中,在接种2、4和6 d后取样,接种前(0 d)为对照。另外,将幼苗置于分别含100 μmol/L脱落酸(ABA)、1% (V/V)乙烯利(Ethephon)、100 μmol/L茉莉酸甲酯(MeJA)、100 μmol/L水杨酸(SA)、200 mmol/L NaCl及250 mmol/L PEG-6000的溶液中;低温处理为将香蕉幼苗置于8 °C环境中;以上材料处理分别在6、12和24 h后取样,对照为处理0 h的样品。上述样品均用液氮速冻,存于-80 °C备用。

1.2 文库的筛选

取2 μL含文库质粒的大肠杆菌DH10B菌液涂于氯霉素平板,随机挑取大于800 bp的克隆进行菌落PCR鉴定。使用96孔板进行碱裂解法提取质粒DNA,测序委托深圳华大基因研究院完成。测出的DNA序列在经过切除载体和接头序列后在NCBI核酸数据库BLASTn和蛋白数据库BLASTx中进行同源核苷酸和蛋白序列检索。应用DNAMAN、ProtParam和MEGA 5.0等生物软件分析获得cDNA序列及其编码蛋白质的结构域,并与NCBI数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>)和香蕉A基因组数据库(<http://banana-genome.cirad.fr/tools.html>)中已知核酸和蛋白序列进行比较分析。

1.3 MaSAP1在香蕉不同器官的表达分析

选取生长8个月的香蕉根、球茎、假茎、叶、花和果实按照Wan等^[23]的方法提取RNA。每个样品取4 μg总RNA,用Invitrogen SuperScript™ III Reverse Transcriptase合成cDNA第一链。以香蕉根、球茎、假茎、叶、花和果实的cDNA为模板,以MaActin片段为内参,采用RT-PCR方法对其进行组织特异性表达分析。MaSAP1引物为P₁(5'-AAAGCCACAGTTATTAGCG-3')和P₂(5'-TTC-CGAGGTCTGTATGAT-3');MaActin引物为P₁(5'-CGAGGCTCAATCAAAGA-3')和P₂(5'-ACCAGCAAGGTCCAAC-3')。

1.4 实时定量 PCR 检测 MaSAP1 在香蕉各种胁迫中的表达

实时定量 PCR 采用 TaRaKa 公司的试剂盒,染料为 SYBR Green,在吉泰生物科技公司 Mx 3005P 荧光定量 PCR 仪上进行。以接种后不同时间点的香蕉根系 cDNA 第一链为模板,以 *MaActin* 片段为内标,引物同 1.3。荧光定量 PCR 的反应程序如下:95 °C 预变性 3 min;95 °C 变性 7 s,60 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 20 s,循环 40 次。

2 结果与分析

2.1 MaSAP1 克隆与序列分析

通过对香蕉根系 cDNA 文库克隆的随机测序,OZ092 克隆上的 cDNA 片段可能属于香蕉胁迫相关蛋白基因(图 1,A)。克隆测序,根据其 ORF 设计的引物在香蕉根系 cDNA 中扩增出大小一致的特异产物(图 1,B)。特异片段克隆到 pMD19-T vector 中进行测序分析,结果也完全一致,表明该序列是香蕉 SAP 基因编码框全长 cDNA,命名为 *MaSAP1*,GenBank 登录号为 AGH14257.1。

MaSAP1 序列全长为 1 038 bp,其中 5'非翻译区 191 bp,3'非翻译区 337 bp,含有一个 510 bp 的

ORF,编码 169 个氨基酸残基。可编码分子量为 18.85 kD 和等电点为 8.19 的氨基酸序列,而且对氨基酸序列结构预测发现,*MaSAP1* 在其 N 端都有完整的 A20 保守基序,C 端都有完整的 AN1 保守基序(图 2)^[15]。*MaSAP1* 氨基酸序列与香蕉 A 基因组氨基酸序列进行比对,发现与 *MuSAP9* 基因(登录号为 GSMUA_Achr2P12750_001)高度同源,其相似性为 98.29%,仅在 86 和 114 位的氨基酸不同。与其它植物的 A20/AN1 锌指蛋白基因氨基酸序列进行 BLASTp 比对,结果显示 *MaSAP1* 与玉

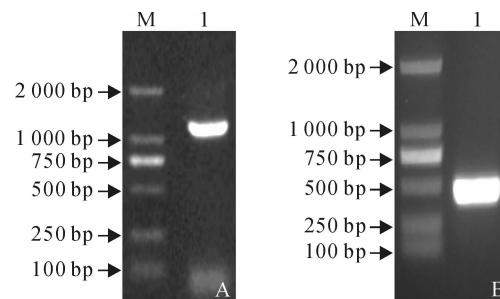


图 1 *MaSAP1* 全长 cDNA PCR 结果

A. 文库质粒克隆检测;B. *MaSAP1* ORF 扩增

Fig. 1 PCR of full-length cDNA sequences of *MaSAP1*

A. Plasmid cloning PCR product;B. *MaSAP1* ORF PCR product

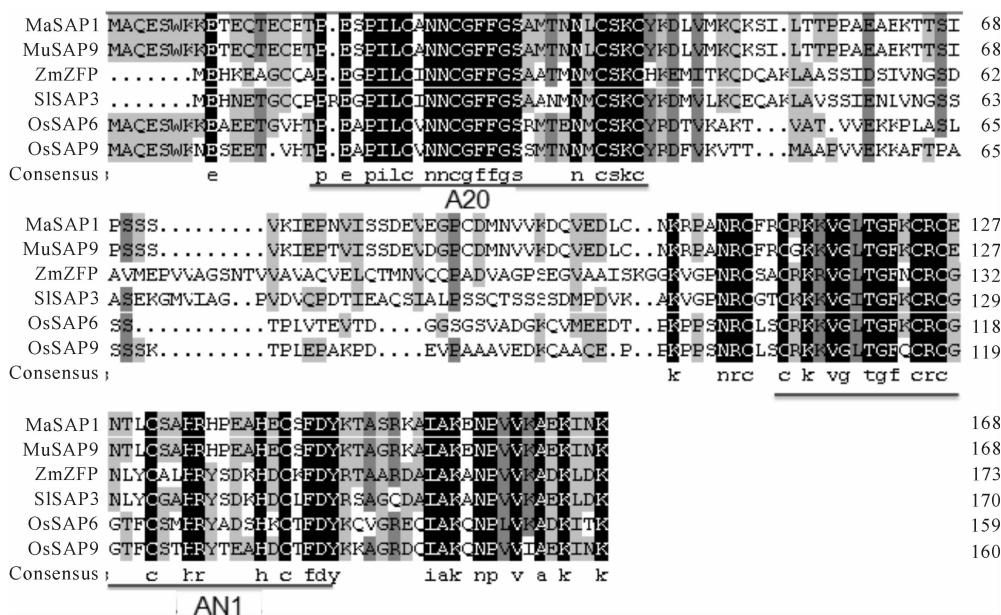


图 2 *MaSAP1* 与其他植物 SAP 氨基酸序列比对分析

下划线标注序列为 SAP 家族的保守基序。选用的同源氨基酸序列为香蕉 SAP9(GSMUA_Achr2P12750_001)、

玉米 ZFP(AAX14637.1)、番茄 SAP3(ACM68440.1)、水稻 SAP6(Q852K5.1)、水稻 SAP9(Q7Y1W9.1)

Fig. 2 Comparison of the deduced amino acid sequences of *MaSAP1* proteins and other plants

Sequences marked by underlines show the conserved motif of SAP family. Amino acid multiple alignment of *MaSAP1* with homologs from other plants:*Musa acuminata* SAP9(GSMUA_Achr2P12750_001),*Zea mays* ZFP(AAX14637.1),

Solanum lycopersicum SAP3(ACM68440.1),*Oryza sativa* SAP6(Q852K5.1),*Oryza sativa* SAP9(Q7Y1W9.1)

米、水稻和番茄的 SAP 蛋白相似度较高(图 2)。采用 ClustalW 和 MEGA 5.0 软件分析了 *MaSAP1* 与其它植物 SAP 基因的进化关系, bootstrap 为 1 000。系统进化树分析表明, *MaSAP1* 与水稻 *OsSAP6*(Q852K5.1) 和 *OsSAP9*(Q7Y1W9.1) 以及獐茅 *AIZFP*(ABK90631.1) 等植物的过氧化物酶基因聚类到一起(图 3)。

2.2 *MaSAP1* 组织特异性表达分析

采用半定量 RT-PCR 方法,以 *MaActin* 作为内参,分别检测香蕉不同部位 *MaSAP1* mRNA 转录水平的变化。结果表明: *MaSAP1* 在香蕉不同部位的表达水平有一定的差异,在根和果实中的表达量较高,在茎中的表达量最低(图 4)。

2.3 *MaSAP1* 表达分析

为了研究 *MaSAP1* 对逆境胁迫的应答方式,对不同胁迫条件处理的香蕉根系提取总 RNA,以 *MaActin* 为内参基因,进行实时定量 PCR 分析。所采用的处理包括:生物胁迫(FocTR4)和非生物胁

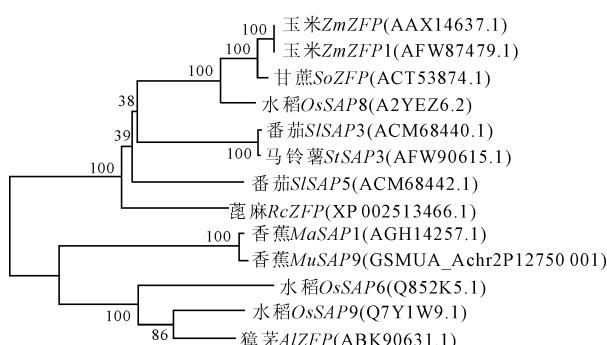


图 3 植物 A20/AN1 锌指蛋白基因的系统进化树
节点上的数值表示 bootstrap 重复 1 000 次的置信度

Fig. 3 Phylogenetic tree of A20/AN1

zinc-finger proteins in plants

Values at nodes show the confidence level

of bootstrap replication 1 000

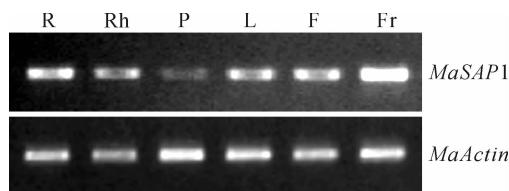


图 4 半定量 RT-PCR 检测 *MaSAP1* 在香蕉不同部位中的表达情况

R. 根; Rh. 球茎; P. 假茎; L. 叶; F. 花; Fr. 果实

Fig. 4 Semi-quantitative RT-PCR analysis of the expression *MaSAP1* in banana tissue

R. Root; Rh. Rhizome; P. Pseudo-stem; L. Leaf; F. Flower; Fr. Fruit

迫 [100 μmol/L ABA、1% 乙烯利(Ethephon)、100 μmol/L SA 和 100 μmol/L MeJA、8 °C、250 mmol/L PEG-6000、200 mmol/L NaCl] 处理。在生物胁迫中,在接种 Foc TR4 后 *MaSAP1* 表达量逐渐上升,在 4 d 时达到最大值,为对照的 7.9 倍(图 5)。此外,从图 6 可见在非生物胁迫中,ABA 处理后 *MaSAP1* 在 12 h 增加约 10 倍,而在其它时间点 *MaSAP1* 表达变化不大。经乙烯利和 SA 处理后, *MaSAP1* 表达逐渐上升,并都在 12 h 达到最大值,分别约为对照的 25 倍和 9.2 倍。在 MeJA 处理中, *MaSAP1* 在 6 h 上调表达,其表达量是对照的 6.6 倍,之后便下降,在 12 h 低于对照,在 24 h 不及对

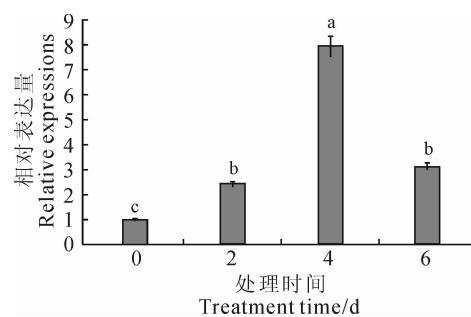


图 5 Foc TR4 处理后 *MaSAP1* 在不同发育时期表达模式
不同小写字母表示不同处理时间在 0.05 水平上的显著性差异

Fig. 5 Expression pattern of *MaSAP1*

after Foc TR4 treatment

The different letters show the significant difference
among diverse exposure time at 0.05 level

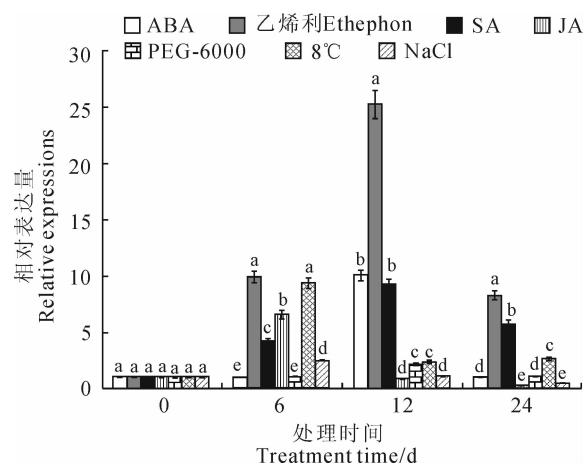


图 6 不同发育时期 *MaSAP1* 响应逆境胁迫表达模式
不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上存在显著性差异

Fig. 6 Expression patterns of *MaSAP1*

response to different treatments

The different letters indicate the significant difference
among seven treatments at 0.05 level

照的四分之一。胁迫处理表明,3种非生物胁迫都诱导MaSAP1的表达。其中,MaSAP1在PEG-6000干旱处理12 h达到最大值;在冷处理6 h表达量就达到最大,为对照的9.3倍,虽然之后有所下降,但还是高于对照;经NaCl处理后MaSAP1在6 h是对照的2.4倍,但之后逐渐下降,在24 h仅为对照的一半。以上结果表明MaSAP1的表达均受生物和非生物胁迫以及信号分子的诱导,可能参与了香蕉对逆境胁迫的应答。

3 讨 论

SAP参与植物生长发育和植物对各种胁迫响应的过程^[15]。本实验克隆到的MaSAP1编码的蛋白序列与其它植物的SAP蛋白具有较高的一致性,其蛋白序列中包含A20和AN1完整的保守基序,表明该蛋白确实为胁迫相关蛋白^[16]。MaSAP1与香蕉A基因组中的MuSAP9高度一致,表明这2个基因可能是直系同源基因,差异产生于最近的基因复制事件^[24]。

MaSAP1在香蕉各个组织中均有表达,且对多种信号激素处理也表现出上调响应,表明在该基因的启动子中可能含有受这些激素调控的顺式作用元件^[25],并在香蕉的生长发育过程中起着重要作用。

很多研究表明SAP参与植物的胁迫响应过程^[18-19]。OsiSAP1是第一个被鉴定的植物A20/

AN1锌指蛋白基因,该基因可被多种胁迫所诱导,如低温、盐、重金属、伤害和ABA等。在烟草中过量表达该基因能增强烟草种子和苗期对干旱、冷和盐胁迫的耐受性^[13]。在本研究中,MaSAP1同样对多种胁迫表现出上调响应,如干旱、低温、高盐和枯萎病处理等,表明MaSAP1广泛参与香蕉响应多种胁迫,是一个很重要的抗逆基因。由于香蕉耐寒性较差,在8℃时香蕉的生长将受到影响,导致寒害发生^[26]。对于低温处理,在香蕉中MaSAP1响应明显,说明该基因在香蕉响应低温胁迫中起着重要作用。在其它作物中也发现类似现象,如玉米的A20/AN1锌指蛋白基因ZmAN1l、ZmAN1l2、ZmAN1l3、ZmAN1l4、ZmAN15、ZmAN1l8和ZmAN1l9对冷胁迫均表现为上调表达^[16]。但在番茄中所有的Sl-SAPs对冷胁迫响应变化很小^[15],其中可能的原因是不同物种对冷或低温胁迫响应的方式存在差异,通过不同的激素或代谢途径来适应冷或低温胁迫^[27]。

本试验从香蕉中获得了SAP基因,并对该基因和推导出的氨基酸序列进行了若干分析,再对香蕉组织和胁迫的响应进行研究,说明该基因参与了香蕉的生长发育及胁迫反应,然而对其具体的调控机理并未进行深入的研究。今后将对MaSAP1进行过量表达研究,探讨其如何调控香蕉生长发育和响应胁迫,以期能揭示SAP在香蕉中的生理作用。

参考文献:

- [1] KANNEGANTI V, GUPTA A K. Overexpression of OsiSAP8, a member of stress associated protein (SAP) gene family of rice confers tolerance to salt, drought and cold stress in transgenic tobacco and rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, **66**(5):445—462.
- [2] SEKI M, KAMEI A, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, et al. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, **14**(2):194—199.
- [3] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SEKI M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, **6**(5):410—417.
- [4] JAMIL A, RIAZ S, ASHRAF M, et al. Gene expression profiling of plants under salt stress[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011, **30**(5):435—458.
- [5] GUSTA L V, WISNIEWSKI M. Understanding plant cold hardiness: an opinion[J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, **147**(1):4—14.
- [6] PELEG Z, APSE M, BLUMWALD E. Engineering salinity and water-stress tolerance in crop plants: getting closer to the field[M]. California, USA: Advances in Botanical Research, 2011:405—443.
- [7] MITTLER R, BLUMWALD E. Genetic engineering for modern agriculture: Challenges and perspectives[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, **61**:443—462.
- [8] GANSS B, JHEON A. Zinc finger transcription factors in skeletal development[J]. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 2004, **15**(5):282—297.
- [9] HALL T M T. Multiple modes of RNA recognition by zinc finger proteins[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2005, **15**(3):367—373.

- [10] LAITY J H, LEE B M, WRIGHT P E. Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2001, **11**(1): 39–46.
- [11] TAKATSUJI H. Zinc-finger transcription factors in plants[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1998, **54**(6): 582–596.
- [12] SHUBHA V, TYAGI A K. Genome-wide analysis of the stress associated protein (SAP) gene family containing A20/AN1 zinc-finger(s) in rice and their phylogenetic relationship with *Arabidopsis*[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2006, **276**(6): 565–575.
- [13] MUKHOPADHYAY A, SHUBHA V, TYAGI A K. Overexpression of a zinc-finger protein gene from rice confers tolerance to cold, dehydration, and salt stress in transgenic tobacco[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, **101**(16): 6 309–6 314.
- [14] DIXIT A R, DHANKHERO P. A novel stress-associated protein ‘AtSAP10’ from *Arabidopsis thaliana* confers tolerance to nickel, manganese, zinc, and high temperature stress[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(6): 1–16.
- [15] SOLANKE A U, SHARMA M K, TYAGI A K, et al. Characterization and phylogenetic analysis of environmental stress-responsive SAP gene family encoding A20/AN1 zinc finger proteins in tomato[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, **282**(2): 153–164.
- [16] JIN Y(金莹), WANG M(王蒙), FU J J(符俊杰), et al. Phylogenetic and expression analysis of ZnF-AN1 genes in plants[J]. *Genomics*, 2007, **90**(2): 265–275.
- [17] AURÉLIE CHARRIER, PLANCHET E, CERVEAU D, et al. Overexpression of a *Medicago truncatula* stress-associated protein gene (MtSAP1) leads to nitric oxide accumulation and confers osmotic and salt stress tolerance in transgenic tobacco[J]. *Planta*, 2012, **236**(2): 567–577.
- [18] SAAD R B, ZOUARI N, RAMDHAN W B, et al. Improved drought and salt stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing a novel A20/AN1 zinc-finger “AlsAP” gene isolated from the halophyte grass *Aeluropus littoralis*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, **72**(1/2): 171–190.
- [19] BEN S R, FABRE D, MIEULET D, et al. Expression of the *Aeluropus littoralis* AlsAP gene in rice confers broad tolerance to abiotic stresses through maintenance of photosynthesis[J]. *Plant Cell Environ*, 2012, **35**(3): 626–43.
- [20] GUYLÈNE AURORE, PARFAIT B, FAHRASMANE L. Bananas, raw materials for making processed food products[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2009, **20**(2): 78–91.
- [21] WANG ZH(王卓), YIN X M(殷晓敏), WANG J B(王家保), et al. Construction and characterization of normalized full-length cDNA library of banana roots[J]. *Acta Horticulture Sinica*(园艺学报), 2011, **38**(9): 1 667–1 674(in Chinese).
- [22] ARNON D I, HOAGLAND D R. A comparison of water culture and soil as media for crop production[J]. *Science*, 1939, **89**(2 318): 512–514.
- [23] WAN C Y, WILKINS T A. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *Analytical Biochemistry*, 1994, **223**(1): 7–12.
- [24] D’HONT A, DENOEUD F, AURY J M, et al. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants[J]. *Nature*, 2012, **488**: 213–217.
- [25] SAAD R B, ROMDHAN W B, ZOUARI N, et al. Promoter of the AlsAP gene from the halophyte grass *Aeluropus littoralis* directs developmental-regulated, stress-inducible, and organ-specific gene expression in transgenic tobacco[J]. *Transgenic Research*, 2011, **20**(5): 1 003–1 018.
- [26] JONES D R. Diseases of banana, abacá and enset: Injuries to banana caused by adverse climate and weather[M]. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2001: 139.
- [27] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, **3**(3): 217–223.