

巴西橡胶树 6 个 PP2C 家族基因成员分子信息学与抗旱功能分析

张 冬¹ 李晓娜² 肖厚贞³ 陆燕茜¹ 张 宇^{1*} 王 萌¹

(1. 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室 海南大学热带农林学院 海口 570228 ; 2. 中国热带农业科学院科技信息研究所 海口 570228 ; 3. 海南大学材料与化工学院 海口 570228)

摘 要 PP2C 是一类丝氨酸/苏氨酸残基蛋白磷酸酶 , 在高等植物 ABA 信号途径中起着重要的作用。为阐明巴西橡胶树中 PP2C 基因的结构与功能 , 本研究通过生物信息学方法 , 从橡胶树转录组数据库中鉴定并获得 6 个 PP2C 家族基因 , 均含有 PP2CD、F1 和 F2 亚族。通过 qRT-PCR 技术对 6 个 PP2C 家族基因进行了干旱处理下的差异表达分析 , 发现 6 个基因都不同程度上响应橡胶树干旱胁迫。本研究为探究 PP2C 基因在橡胶树抗干旱反应机制提供了理论依据。

关键词 巴西橡胶树 ; PP2C 基因 ; 生物信息学 ; 表达分析 ; 干旱

中图分类号 S794.1 文献标志码 A doi : 10. 7525/j. issn. 1673 - 5102. 2017. 05. 013

Bioinformatics and Drought Tolerance of PP2C Gene Family
Members in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.

ZHANG Dong¹ LI Xiao-Na² XIAO Hou-Zhen³ LU Yan-Xi¹ ZHANG Yu^{1*} WANG Meng¹

(1. Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresource , Institute of Tropical Agriculture and Forestry , Hainan University , Haikou 570228 ; 2. Institute of Scientific and Technical Information , Catas , Haikou 570228 ; 3. College of Materials and Chemical Engineering , Hainan University , Haikou 570228)

Abstract PP2Cs are a group of monomeric serine/threonine protein phosphatases , which play an important role in ABA signaling pathway in higher plants. In order to elucidate the structure and function of PP2C gene in rubber tree , we used a bioinformatics approach to get six PP2C genes members from rubber tree transcription database , six *HbPP2Cs* all contain PP2C conserved domains. By sequence alignment and phylogenetic analysis , six *HbPP2Cs* were divided into four subfamilies : subfamily A , D , F1 and F2. Different expression analysis of six PP2C family genes under drought stress by qRT-PCR showed that they all response to drought stress in varying degrees. Our study provides a theoretical basis for exploring the mechanism of PP2C genes in drought resistance of rubber tree.

Key words *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. ; PP2C genes ; bioinformatics ; expression analysis ; drought

巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.) 原产于亚马逊森林 , 是一种优质天然橡胶资源。作为“ 工业原料和战略物资”^[1] , 天然橡胶在国民经济发展中起重要作用。在中国 , 巴西橡胶树主要

栽植于海南等地 , 自海南省种植橡胶树以来 , 承担生产天然橡胶的主要任务 , 为中国的经济建设和社会发展作出显著贡献^[2]。但是长期的适应过程使其形成了怕强风干旱和低温的生长习性 , 每年

基金项目 : 国家自然科学基金(31660187 31660204) ; 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-34-BC1) ; 海南省研究生创新科研课题(Hys2016-25)

第一作者简介 : 张冬(1992—) 女 , 硕士研究生 , 主要从事分子植物学研究。

* 通信作者 E-mail : yuzhang_rain@ hainu. edu. cn

收稿日期 2017 - 04 - 20

Foundation item : The National Natural Science Fund(31660187 31660204) ; The earmarker fund for China Agriculture Research System(CARS-34-BC1) ; Innovative research project of Hainan graduate students(Hys2016-25)

First author introduction : ZHANG Dong(1992—) , female , master , molecular botany research.

* Corresponding author E-mail : yuzhang_rain@ hainu. edu. cn

Received date 2017 - 04 - 20

11 月至次年 4 月为海南的旱季,即使是雨季,因降水时空分布不均,也会导致夏旱和秋旱,一些年份甚至全年干旱^[3~4]。干旱是限制我国橡胶发展的主要原因之一,大量的实验表明,干旱胁迫抑制橡胶树可溶性蛋白合成和光合生理^[5],导致次生根数量减少。当植胶区面临干旱威胁时,橡胶树叶片形态结构发生变化,胶树生长迟缓^[6],胶产量下降^[7],引发死皮病虫害,严重时致死^[8]。干旱对我国的天然橡胶产业发展有着巨大的威胁,影响宏观经济,所以,研究橡胶树抗旱机制对橡胶产业以及经济发展意义重大。然而橡胶树干旱胁迫的应答机制尚不清楚,目前已在拟南芥^[9]、番茄^[10]、黄花蒿^[11]和玉米^[12]等植物中发现了 *PP2C* 基因响应干旱胁迫,笔者推测 *PP2C* 基因在橡胶树抗旱过程中也存在作用。

PP2C (*PP2C*-type protein phosphatase) 是一类单体丝氨酸/苏氨酸残基蛋白磷酸酶^[13~14],其活性依赖于 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 等离子,进化保守^[15],广泛存在于古细菌、细菌、真菌、植物和动物中^[16]。相较于其他生物,植物中 *PP2C* 类蛋白数量最大^[17]。大部分植物 *PP2C* 蛋白包含 3 个基序,1 个具有保守催化结构域的 C 末端,1 个具有功能各异的膜定位信号序列延伸区的 N 端,还有 1 个类似受体激酶互作结构域^[18]。研究发现,拟南芥中有 80 个 *PP2C* 基因,水稻中 90 个^[9],二穗短柄草中 86 个^[16]。拟南芥的 80 个 *PP2C* 候选基因被分为 13 个亚类:A-D、Ea、Eb、F1、F2、G-J 亚族^[9]。其中,A 亚族调控脱落酸(abscisic acid, ABA)信号途径,胡杨 *PeHAB1* 基因^[19]、拟南芥 *ABI1*、*ABI2* 和 *At-PP2CA* 基因属于 A 亚族^[20],是 ABA 信号途径中的调控基因^[21~22],ABA 诱导 *PYL-PP2C* 相互作用,激活 *SnRK2* 蛋白激酶,从而调控下游转录因子促使基因表达。B 亚族在蛋白激酶 *MAPK* 途径起作用,拟南芥中 B 亚族 *PP2C* 基因 *AP2C1*,在病原体应激、受到机械伤害后,影响 *MPK4* 或 *MPK6* 基因,抑制 *MAPK* 活性^[23]。苜蓿中 B 亚族 *PP2C* (*MP2C*)受逆境胁迫诱导,是 *MAPK* 途径中的负调控因子^[24~25]。C 亚族与花器官发育有关^[26],而关于 *PP2C* 基因其他亚族的研究并不多。

本研究利用生物信息学和分子生物学手段,鉴定橡胶树 6 个 *PP2C* 家族基因,并分析其在干旱处理下的差异表达,以期探究 *PP2C* 家族基因参与干旱胁迫分子机制提供理论依据,为培育抗旱橡胶树品种提供候选基因。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis* Mull. Arg)品种‘热研 7-33-97’芽接苗由海南大学热带农林学院儋州校区种植基地提供。

选取两组长势一致的同龄橡胶芽接苗,一组对照,一组实验,每组 3 个重复。干旱处理采用方法如下:对两组苗持续 10 d 饱和浇水后,实验组做断水处理,对照组正常浇水,持续观测橡胶树表型变化直至叶片干枯,在第 0、1、3、6、9 d 采取同一时段的实验组和对照组橡胶芽接苗叶片,所有采集的样品迅速保存于液氮中备用。

1.2 巴西橡胶树生物信息学分析

1.2.1 巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因家族成员的鉴定

PP2C 基因家族成员序列来源于橡胶树转录组数据库。使用 NCBI ORF Finder(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)看基因的开放阅读框(ORF)是否完整,预测基因的氨基酸序列。利用 SWISS-PROT 数据库中 ExPASy Proteomics Server(<http://expasy.org/>)对 *PP2C* 蛋白氨基酸序列进行分子量、等电点的预测;通过 NCBI Conserved Domains 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)和 Pfam database(<http://pfam.xfam.org/>)在线分析其保守结构域。在 MEME 的 Multiple Em for Motif Elicitation(<http://meme-suite.org/>)分析保守元件。NCBI 在线 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)分析 *Hb-PP2Cs* 与其他物种间的相似序列。通过 DNAMAN 6.0 软件分析了橡胶树与其他物种的 *PP2C* 氨基酸序列。

1.2.2 巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因家族成员分类

从拟南芥信息资源(TAIR)数据库(<http://www.arabidopsis.org/>)下载拟南芥全序列,导入本地 PowerBlast,对比找出橡胶树 *PP2C* 基因同源性的最高的拟南芥基因;利用 NCBI Basic Local Alignment Search Tool(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)找出与橡胶树 *PP2C* 基因同源性最高的水稻(*Oryza sativa* L.)基因,分析比对它们的氨基酸序列。ClustalX(1.83)程序多重序列比对拟南芥、水稻 *PP2C* 基因和橡胶树 6 个 *PP2C* 基因,对比结果利用软件 MEGA6 构建邻接法(Neighbor-Joining, NJ)进化树,bootstrap 值设置为 1 000。

1.3 实验方法

1.3.1 总 RNA 提取和 cDNA 合成

用天根的多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取橡胶芽接苗叶片总 RNA ,Thermo 公司的 Re-vertAid™第一链 cDNA 合成试剂盒进行反转录。

1.3.2 实时荧光定量 qRT-PCR 分析

使用 Primer 6.0 设计 6 个 *PP2C* 基因实时荧光定量 PCR 的特异性引物 ,以巴西橡胶树 Actin 为内参基因 ,分析各基因相对表达量。设计的引物见表 1。

表 1 橡胶树 6 个 *PP2C* 基因 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primers sequence of six *PP2C* genes in Rubber tree for qRT-PCR

基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
<i>HbPP2C7</i>	GATAAGGCACTCGTCTTCTT	CAATGTCAAGGTCCATAGGT
<i>HbPP2C10</i>	GACATACAAGACACCATCATAG	GACACCAGGATAACGATAGT
<i>HbPP2C11</i>	AACCTCCAGCATCTTCAATC	CTAGACTGGTAGCCAGTAGA
<i>HbPP2C16</i>	TTCGCAACTGACAATACT	CCGATGAGGCTGTTACTG
<i>HbPP2C42</i>	CTCTTGCTGCTGAGTTATGGA	CTGAATAGCAGCAATGCTCTC
<i>HbPP2C46</i>	CCTCTACATTGCTAACCTTG	GCCACATTATGCTCTGATG
<i>HbACTIN</i>	GATGTGGATATCAGGAAGGA	CATACTGCTTGAGCAAGA

表 2 橡胶树 6 个 *PP2C* 家族基因信息
Table 2 Basic information of 6 *PP2C* family genes in Rubber tree

基因 Gene	基因登录号 Gene identifier	序列长度 Sequence length	大小 Width(aa)	分子量 Mass	等电位 IP	<i>E</i> 值 <i>E</i> -value	保守结构域 Conserved domain
<i>HbPP2C7</i>	KY419224	1 404	467	51 054.54	6.62	5.21E-90	142 – 457
<i>HbPP2C10</i>	KY419219	846	281	30 766.68	8.7	3.11E-87	31 – 279
<i>HbPP2C11</i>	KY419222	831	276	30 162.58	4.79	2.48E-95	27 – 273
<i>HbPP2C16</i>	KY419220	1 638	545	58 926.58	4.71	3.84E-85	219 – 535
<i>HbPP2C42</i>	KY419223	726	241	26 124.6	5.63	6.51E-27	68 – 228
<i>HbPP2C46</i>	KY419221	744	247	27 451.31	6.3	9.06E-33	70 – 244

使用 NCBI 的在线 BLAST 分析核酸序列得出 ,*HbPP2C7* 与蓖麻(*Ricinus communis* L. ,XM_002514049.2)相似性 83% ,麻风树(*Jatropha curcas* L. ,XM_012221592.1)相似性 86% ;*HbPP2C10* 与麻风树 XM_012212487.1 相似性 81% ,蓖麻 XM_002513878.2 相似性 86% ;*HbPP2C11* 与麻风树 XM_012210755.1 相似性 90% ,蓖麻 XM_015719900.1 相似性 89% ;*HbPP2C16* 与蓖麻 XM_002521322.2 相似性 83% ,麻风树 XM_012213539.1 相似性 88% ;*HbPP2C42* 与麻风树

1.4 数据统计与分析

基因表达的数据是 3 次生物重复和 3 次技术重复的平均值 ± 标准误差。利用 SAS 9.1.3 软件进行统计分析 ,单因素方差分析和 Duncan 检验分析不同处理之间的差异显著性。使用 Origin2015 和 Adobe Photoshop CS5 绘图。

2 结果与分析

2.1 巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因的生物信息学分析

利用生物信息学方法 ,从橡胶树转录组中鉴定获得 6 个具有完整 ORF 的候选 *PP2C* 基因家族成员 ,分别是 CL10879. Contig2、CL224. Contig3、CL4996. Contig1、CL10902. Contig1、CL2659. Contig3 和 CL10104. Contig2。根据与拟南芥同源性将橡胶树 6 个 *PP2C* 基因分别命名为 *HbPP2C7*、*HbPP2C10*-11、*HbPP2C16*、*HbPP2C42* 和 *HbPP2C46*。NCBI Consered Domains 和 Pfam database 的分析结果显示 ,6 个橡胶树 *PP2C* 家族基因均含有 *PP2C* 保守结构域(图 2B)。利用 ExPASy 在线分析得出 ,这 6 个 *HbPP2C* 基因家族成员中 ,蛋白质编码最长的 545 aa ,最短的 241 aa ,等电位范围从 4.71 ~8.7(表 2)。

XM_012228710.1 相似性 86% ,蓖麻 XM_015719271.1 相似性 83% ;*HbPP2C46* 与蓖麻 XM_015726275.1 相似性 89% ,麻风树 XM_012233075.1 相似性 89%。橡胶树 *PP2C* 基因与蓖麻和麻风树等物种的相似性较高。将橡胶树 6 个 *PP2C* 基因的氨基酸序列与水稻、拟南芥、蓖麻和麻风树中部分 *PP2C* 基因对比(图 1) ,发现 *PP2C* 家族成员绝大多数含有高度保守的 *PP2C* 结构域 ,证明 6 个 *HbPP2C* 基因是 *PP2C* 基因家族成员。

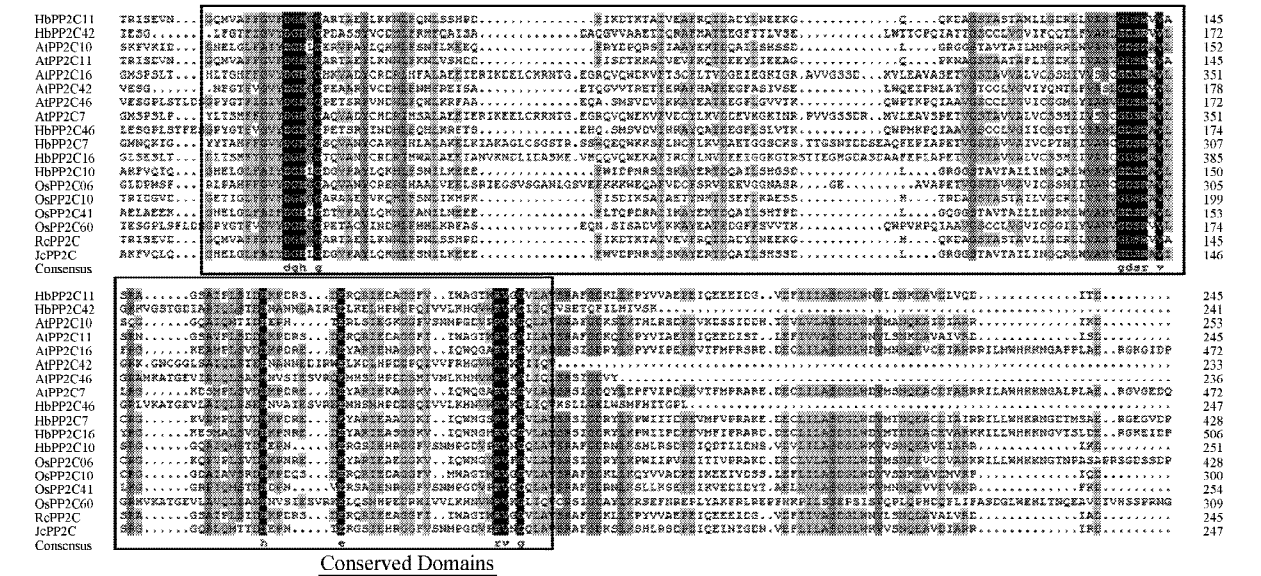


图 1 橡胶树 PP2C 基因与其他植物 PP2C 基因蛋白序列多重比对

Fig. 1 Multiple protein sequence alignment of Rubber tree PP2Cs with other PP2C proteins

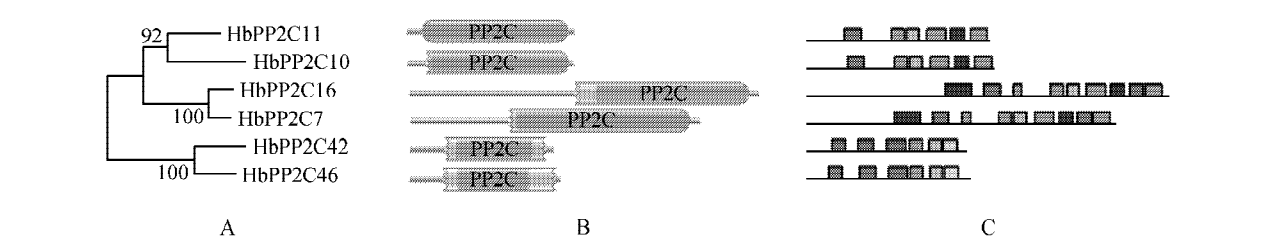


图 2 6 个橡胶树 PP2C 基因的系统进化树 (A)、保守结构域 (B) 和保守元件 (C) 分析

Fig. 2 Phylogenetic tree (A), conserved domains (B) and conserved motifs (C) of 6 Rubber tree PP2Cs

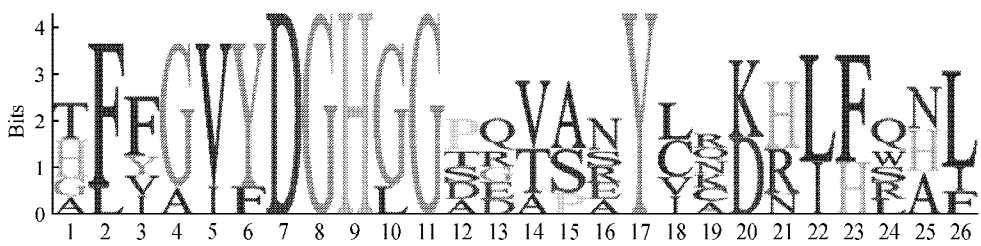


图 3 6 个橡胶树 PP2C 基因的保守元件模型

Fig. 3 The conserved motif logo of the 6 Rubber tree PP2Cs

2.2 巴西橡胶树 6 个 PP2C 基因的系统进化分析与分类

为探究 6 个橡胶树 PP2C 基因蛋白系统进化关系,本研究构建了 6 个橡胶树 PP2C 基因的系统进化发育树(图 2A)。6 个 PP2C 基因在进化发育树中形成 3 个分支。为了进一步确定橡胶树 PP2C 基因基因间的关系,用 MEME 软件构建了保守元件结构图(图 2C)。可看出 6 个 PP2C 基因具

有 11 个保守元件,这导致功能的多样性。尽管橡胶树 PP2C 基因的蛋白长度有 241~545 个氨基酸,但 MEME 保守元件结构图表明,聚类在一起的橡胶树 PP2C 基因拥有相同蛋白基序位置。同时,从橡胶树 PP2C 基因的保守元件模型(图 3)可看出,橡胶树 PP2C 基因的进化是保守的。

将巴西橡胶树 6 个 PP2C 基因在 NCBI 在线 BLAST,同时与拟南芥全序列进行本地 Pow-

erBlast 结果表明 *HbPP2Cs* 分别与拟南芥中的 *AtPP2C10*、16、79、11、42、7 同源性最高,与水稻中的 *OsPP2C41*、6、60、10、60、6 同源性最高。将 *HbPP2Cs* 与拟南芥和水稻中同源性最高的基因进行进化树构建,根据拟南芥和水稻 *PP2C* 基因的分类 *HbPP2Cs* 可被分为 4 个亚族:A、D、F1、F2 亚族(图 4)。*HbPP2C7* 和 *HbPP2C16* 属于 A 亚族,*HbPP2C42* 和 *HbPP2C46* 属于 D 亚族,*HbPP2C10* 属于 F1 亚族,*HbPP2C11* 属于 F2 亚族。

2.3 巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因在干旱处理下的表达分析

干旱处理橡胶树芽接苗后,叶片表型变化如图 5。橡胶树芽接苗在第 6 d 时表现出受害症状,叶片变黄;在干旱处理第 9 d 时,叶片完全枯萎。所以,本研究取对照组与干旱处理下 0、1、3、6 和 9 d 的橡胶树芽接苗叶片,分析巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因在干旱处理下的表达量变化情况。

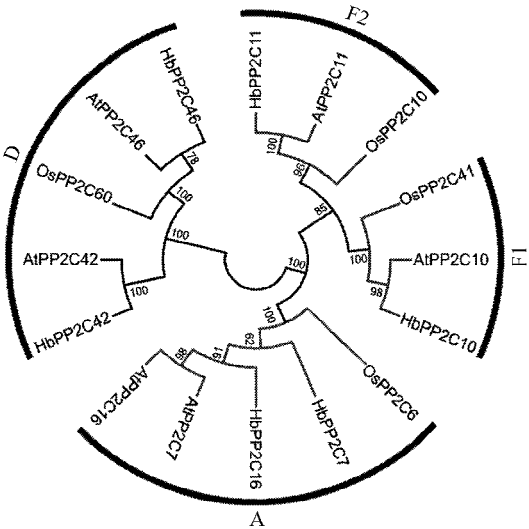


图 4 巴西橡胶树、拟南芥和水稻 *PP2C* 基因进化关系
Fig. 4 Phylogenetic relationship of *Hevea brasiliensis*, *Arabidopsis* and *Oryza sativa* *PP2C* genes



图 5 干旱对橡胶树叶片影响的表型图

Fig. 5 The phenotypic map of rubber tree after non-irrigation treatment

巴西橡胶树芽接苗叶片在干旱处理下表达量变化情况如图 6,巴西橡胶树 6 个 *PP2C* 基因在干旱处理 1~3 d 下调,第 6 d 时上调。*HbPP2C7* 是 *PP2C* 家族 A 亚族基因,在干旱处理 6 d 后的表达较显著,干旱处理 9 d 时显著上调表达,是对照处理的 12 倍,而其他五个基因均呈下调表达,*HbPP2C10*、11、16 下调表达较显著。橡胶树 6 个 *PP2C* 基因在干旱处理 6 d 时都显著上调,其表达量变化情况说明这 6 个基因都不同程度地参与了橡胶树干旱胁迫响应机制。由此说明,*HbPP2Cs* 是橡胶树干旱胁迫应答的较为关键的上游基因。

3 讨论

本研究在橡胶树转录组数据库中找出并鉴定

了 6 个具有完整 ORF 的 *PP2C* 基因家族成员,分析蛋白质序列得出 *PP2C* 蛋白 C 端含有保守的蛋白磷酸酶,橡胶树 6 个 *PP2C* 基因家族成员都有 *PP2C* 保守结构域。分析其保守域模型发现,橡胶树 6 个 *PP2C* 基因有相对较高的保守性。将橡胶树 6 个 *PP2C* 基因在线 BLAST 分析发现,橡胶树 *PP2C* 基因与蓖麻、麻风树同源性较高。将橡胶树 6 个 *PP2C* 基因聚类分析,形成 3 个分支,在分析保守元件时发现橡胶树这各个分支下的基因具有相同的蛋白基序结构和位置,而不同分支的 *PP2C* 基因保守元件差异显著。说明 *PP2C* 基因家族种类繁多,结构特征、理化性质较特殊,橡胶树中 *PP2C* 基因具有多样性。使用本地 PowerBlast 对橡胶树、水稻和拟南芥进行 *PP2C* 基因同源性分

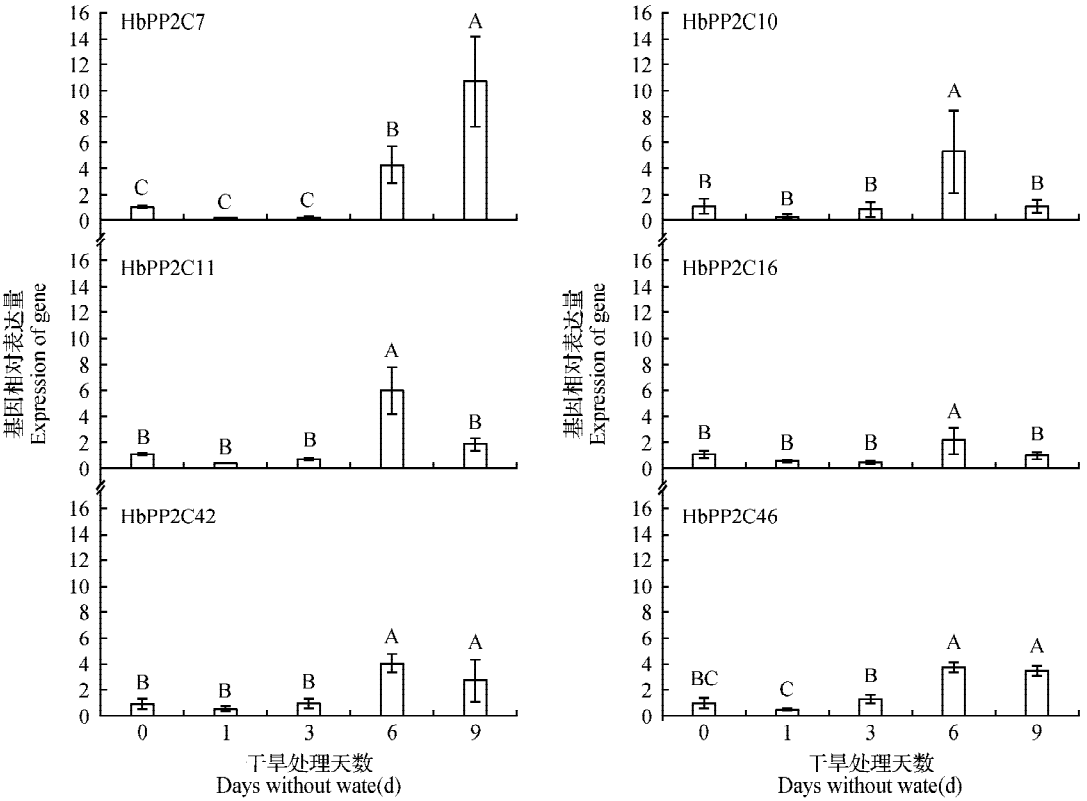


图 6 橡胶树叶片中 *HbPP2Cs* 基因在干旱条件下的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of *HbPP2Cs* in *H. brasiliensis* leaves after non-irrigation treatment

析,找出水稻和拟南芥中与橡胶树同源性最高的 *PP2C* 基因,与橡胶树 6 个 *PP2C* 基因进一步构建进化树。根据拟南芥和水稻中 *PP2C* 基因的分类,将橡胶树 6 个 *PP2C* 基因分为 4 个亚族:A、D、F1 和 F2 亚族。以上结果为进一步验证 *PP2C* 基因家族功能提供依据。

干旱胁迫影响植物表型,改变植物生理^[27],是限制作物产量的最普遍环境因素^[28~29]。橡胶树的生长情况及胶乳产量也受干旱因素制约^[30],解决干旱胁迫对橡胶树的危害对橡胶产业经济发展有着至关重要的作用。植物对干旱胁迫的响应受不同分子及信号通路调控^[31],随着分子生物学的发展,研究抗干旱等逆境相关基因的分子表达调控机制已成为培育橡胶树抗干旱品种的基础手段。*PP2C* 是植物中最大的蛋白磷酸酶家族,作为重要的信号分子调控植物逆境信号途径^[32~33]。在拟南芥和烟草等植物中研究发现,*PP2C* 酶催化可逆磷酸化作用,反作用于特定蛋白激酶,从而调节 ABA 信号通路^[34~35],充当负调控因子加速植物发育和增强植物对胁迫的耐受性^[36]。大量研究

发现,*PP2C* 基因调控干旱胁迫。二穗短柄草 *PP2C* 基因家族成员中绝大多数受干旱处理上调^[16];干旱胁迫条件下,玉米 *ZmPP2Ca* 基因在耐旱自交系中下调表达,在不耐旱自交系中上调表达^[37]。非洲冰草的 *PP2C* 基因家族中 *Mpc5* 和 *Mpc8* 由干旱条件诱导,但其他 *Mpcs* 受干旱胁迫下调^[38];山杨树 A 亚族四个 *PtPP2Cs* 均响应干旱、寒冷和高盐胁迫,在干旱处理下的表达量最高^[19]。为探究 *PP2C* 基因在橡胶树抗旱机制中的作用与机理,本研究利用 qRT-PCR 技术分析了橡胶树 *PP2C* 基因在干旱处理下的表达情况,结果发现:干旱处理橡胶树芽接苗后,橡胶树芽接苗在处理前期(1~3 d)无明显变化,此阶段巴西橡胶树中 6 个 *PP2C* 基因的表达量不变;干旱处理第 6 d 时橡胶树芽接苗表现出受害症状,叶片变黄,同时巴西橡胶树中 6 个 *PP2C* 基因均上调表达;干旱处理第 9 d 时,橡胶芽接苗叶片完全枯萎,此间,A 亚族 *HbPP2C7* 基因的表达量显著上调,其余 5 个 *PP2C* 基因下调表达。同家族不同基因可能存在不同的应答机制,所以基因差异表达结果不尽相同。推

测橡胶树 *PP2C* 基因响应干旱胁迫, A 亚族 *Hb-PP2C7* 基因更具研究价值, 而 *PP2C* 基因对橡胶树逆境分子调控机制及与其他基因间的协同作用仍有待深入探究。

参 考 文 献

- 高伟, 韦家少, 何鹏, 等. 巴西橡胶树水解酶基因克隆与表达分析 [J]. 中国农学通报, 2013, 29(19): 9–13.
Gao W, Wei G S, He P, et al. Cloning and Expression Analysis of Hydrolase Gene from *Hevea brasiliensis* Muell. Arg [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(19): 9–13.
- 钟勇. 海南橡胶种植业发展前景分析 [J]. 热带农业科学, 2016, 36(8): 69–75.
Zhong Y. Development Prospects of Rubber Industry in Hainan Province [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2016, 36(8): 69–75.
- 李春鸾, 陈丽英, 郑亚娜. 海南岛暴雨统计分析 [J]. 气象研究与应用, 2008, 29: 57–58.
Li C Y, Chen L Y, Zheng Y N. Statistical analysis of Rainstorm in Hainan Island [J]. Journal of Meteorological Research and Application, 2008, 29: 57–58.
- 李海亮, 戴声佩, 胡盛红, 等. 海南岛农业干旱综合监测研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2012, 51(6): 126–130.
Li H L, Dai S P, Hu S H, et al. Study on Agricultural Drought Comprehensive Monitoring in Hainan Island Based on MODIS Data and Meteorological Data [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatsenii, 2012, 51(6): 126–130.
- Kumagai T O, Mudd R G, Giambelluca T W, et al. How do rubber (*Hevea brasiliensis*) plantations behave under seasonal water stress in northeastern Thailand and central Cambodia? [J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2015, 213: 10–22.
- Li Y W, Lan G Y, Xia Y J. Rubber trees demonstrate a clear retranslocation under seasonal drought and cold stresses [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7(e69357): 1907.
- 林秀琴, 袁坤, 王真辉, 等. 干旱胁迫下橡胶树叶片差异表达蛋白的鉴定与功能解析 [J]. 热带作物学报, 2009, 30(12): 1782–1788.
Lin X Q, Yuan K, Wang Z H, et al. Identification and Functional Analysis of Differentially Expressed Proteins in *Hevea brasiliensis* Leaves during Drought Stress [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2009, 30(12): 1782–1788.
- Wang L F. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg. [J]. Plant Physiol and Biochemistry, 2014, 83(2): 243–249.
- Xue T T, Wang D, Zhang S Z, et al. Genome-wide and expression analysis of protein phosphatase 2C in rice and arabidopsis [J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 550.
- Landi S, Nurcato R, De Lillo A, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a central role in the response of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants to short and long-term drought [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 105: 79–89.
- Zhang F Y, Fu X Q, Lü Z Y, et al. Type 2C phosphatase 1 of *Artemisia annua* L. is a negative regulator of ABA signaling [J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 521794.
- Wei K F, Pan S. Maize protein phosphatase gene family identification and molecular characterization [J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 773.
- Stern A, Privman E, Rasis M, et al. Evolution of the meta-zoan protein phosphatase 2C superfamily [J]. Journal of Molecular Evolution, 2007, 64(1): 61–70.
- Xing Y N, Xu Y H, Chen Y, et al. Structure of protein phosphatase 2A core enzyme bound to tumor-inducing toxins [J]. Cell, 2006, 127(2): 341–353.
- Fuchs S, Grill E, Meskiene I, et al. Type 2C protein phosphatases in plants [J]. FEBS Journal, 2013, 280(2): 681–693.
- Cao J M, Jiang M, Li P, et al. Genome-wide identification and evolutionary analyses of the *PP2C* gene family with their expression profiling in response to multiple stresses in *Brachypodium distachyon* [J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 175.
- 阮海华, 徐朗莱. 2C 类蛋白磷酸酶的结构与功能研究进展 [J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(1): 136–141.
Ruan H H, Xu L L. Progress in the structure and function of PP2C type protein phosphatases [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2007, 30(1): 136–141.
- 胡晓丽, 李德全. 植物蛋白磷酸酶 2C (PP2C) 及其在信号转导中的作用 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(3): 407–412.
Hu X L, Li D Q. Protein Phosphatase 2C in Plants and Its Functions of Signal Transduction [J]. Plant Physiology Communications, 2007, 43(3): 407–412.
- Chen J H, Zhang D Z, Zhang C, et al. A putative PP2C-encoding gene negatively regulates ABA Signaling in *Populus euphratica* [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0139466.
- Cui M H, Yoo K S, Hyoung S, et al. An Arabidopsis R2R3-MYB transcription factor, AtMYB20, negatively regulates type 2C serine/threonine protein phosphatases to enhance

- salt tolerance[J]. FEBS Letters ,2013 ,587(12) :1773 – 1778.
21. Leung J ,Merlot S ,Giraudat J. The Arabidopsis ABSCISIC ACID-INSENSITIVE2(ABI2) and ABI1 genes encode homologous protein phosphatases 2C involved in abscisic acid signal transduction[J]. The Plant Cell ,1997 ,9(5) :759 – 771.
22. Gosti F ,Beaudoin N ,Serizet C ,et al. ABI1 protein phosphatase 2C is a negative regulator of abscisic acid signaling[J]. The Plant Cell ,1999 ,11(10) :1897 – 1909.
23. Schweighofer A ,Kazanaviciute V ,Scheikl E ,et al. The PP2C-type phosphatase AP2C1 ,which negatively regulates MPK4 and MPK6 ,modulates innate immunity ,jasmonic acid ,and ethylene levels in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell ,2007 ,19(7) :2213 – 2224.
24. Meskiene I ,Baudouin E ,Schweighofer A ,et al. Stress-induced protein phosphatase 2C is a negative regulator of a mitogen-activated protein kinase[J]. Journal of Biological Chemistry ,2003 ,278(21) :18945 – 18952.
25. 郭鹏 ,张士刚 ,邢鑫 ,等. 欧美杨 *PdPP2C* 基因的克隆与功能分析[J]. 北京林业大学学报 ,2015 ,37(2) :100 – 106.
- Guo P ,Zhang S G ,Xing X ,et al. Cloning and Function analysis of *PdPP2C* from *Populus deltoides*[J]. Journal of Beijing Forestry University ,2015 ,37(2) :100 – 106.
26. 闵东红 ,薛飞洋 ,马亚男 ,等. 谷子 *PP2C* 基因家族的特性[J]. 作物学报 ,2013 ,39(12) :2135 – 2144.
- Min D H ,Xue F Y ,Ma Y N ,et al. Characteristics of *PP2C* Gene Family in Foxtail Millet(*Setaria italica*) [J]. Acta Agronomica Sinica ,2013 ,39(12) :2135 – 2144.
27. Vurukonda S S K P ,Vardharajula S ,Shrivastava M ,et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria[J]. Microbiological Research ,2016 ,184 :13 – 24.
28. Basu S ,Ramegowda V ,Kumar A ,et al. Plant adaptation to drought stress[J]. F1000Research ,2016 ,5 :1554.
29. Chaves M M ,Pereira J S ,Maroco J ,et al. How plants cope with water stress in the field ? Photosynthesis and growth [J]. Annals of Botany ,2002 ,89(7) :907 – 916.
30. 李国尧 ,王权宝 ,李玉英 ,等. 橡胶树产胶量影响因素 [J]. 生态学杂志 ,2014 ,33(2) :510 – 517.
- Li G Y ,Wang Q B ,Li Y Y ,et al. A Review of Influencing Factors on Latex ,Yield of *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Ecology ,2014 ,33(2) :510 – 517.
31. Xu Z Z ,Zhou G S ,Shimizu H. Plant responses to drought and rewatering[J]. Plant Signaling & Behavior ,2010 ,5(6) :649 – 654.
32. Rodriguez P L. Protein phosphatase 2C(PP2C) function in high plants[J]. Plant Molecular Biology ,1998 ,38(6) :919 – 927.
33. Moorhead G B G ,Trinkle-mulcahy L ,Ulke-lemée A. Emerging roles of nuclear protein phosphatases[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology ,2007 ,8(3) :234 – 244.
34. Bhalothia P ,Sangwan C ,Alok A ,et al. PP2C-like promoter and its deletion variants are induced by ABA but not by MeJA and SA in *Arabidopsis thaliana*[J]. Frontiers in Plant Science ,2016 ,7 :547.
35. Thomashow M F. Plant cold acclimation :freezing tolerance genes and regulatory mechanisms[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology ,1999 ,50 :571 – 599.
36. Tähtiharju S ,Palva T. Antisense inhibition of protein phosphatase 2C accelerates cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology ,2001 ,26(4) :461 – 470.
37. 何亮 ,李富华 ,沙莉娜 ,等. 玉米 2C 型丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶(PP2C)活性与耐旱性的关系[J]. 作物学报 ,2008 ,34(5) :899 – 903.
- He L ,Li F H ,Sha Li Na ,et al. Activity of Serine/Threonine Protein Phosphatase Type-2C(PP2C) and Its Relationships to Drought Tolerance in Maize[J]. Acta Agronomica Sinica ,2008 ,34(5) :899 – 903.
38. Miyazaki S ,Koga R ,Bohnert H J ,et al. Tissue- and environmental response-specific expression of 10 PP2C transcripts in *Mesembryanthemum crystallinum*[J]. Molecular and General Genetics MGG ,1999 ,261(2) :307 – 316.