바이오에너지 작물 소재로서 자트로파의 염과 가뭄 스트레스 하에서 상반되는 생리적 특성과 아쿠아포린(*JcPIP2*)의 발현

장하영* · 이지은* · 장영석** · 안성주*[†]

*전남대학교 바이오에너지공학과 바이오에너지연구센터, **농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터

Conflicting Physiological Characteristics and Aquaporin (*JcPIP2*) Expression of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) as a Bio-energy Crop under Salt and Drought Stresses

Ha-Young Jang*, Ji-Eun Lee*, Young-Seok Jang**, and Sung-Ju Ahn*[†]

*Department of Bioenergy Science and Technology, Bioenergy Research Center, College of Agriculture & Life Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea

**Bioenergy Crop Research Center, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Muan 534-833, Republic of Korea

ABSTRACT This study was undertaken to collect basic knowledge of *Jatropha* which is one of bio-energy crops, based on the understanding of physiological and molecular aspects under salt and drought conditions. The treatments were followed as: 100, 200 and 300 mM NaCl for salt stress and 5, 10, 20 and 30% PEG for drought stress for 8 days, respectively. Leaf growth, stomatal conductance, chlorophyll fluorescence and gene expression of aquaporin (*JcPIP2*) of *Jatropha* were investigated. From 2 days after treatments, plants treated with higher than 100 mM NaCl and 10% PEG respectively were significantly suppressed in leaf length, width, and stomatal conductance, but 5% PEG treatment showed that plant growth was improved more than control plant. Semi-quantitative RT-PCR analyses revealed that the *JcPIP2* gene was expressed in root, stem, cotyledon and leaves. It was not detected in leaves at 200 and 300 mM NaCl treatments. However, transcripts of *JcPIP2* were induced in roots and stems under salt and drought conditions compared to those of healthy plants. Therefore, it was concluded that *JcPIP2* plays an important role in improving drought tolerance.

Keywords : aquaporin, chlorophyll fluorescence, stomatal conductance, *JcPIP2*

자트로파(*Jatropha curcas* L.)는 대극과(Euphorbiaceae)에

속하는 열대작물로 중앙아메리카, 남아메리카, 아프리카, 인도 그리고 동남아시아를 포함한 다양한 지역에서 재배되고 있다. 자트로파 종자는 인체에 해로운 독성이 있고 식용이 불가능하여 동물의 침입을 막는 담장 역할로 주로 이용되었지만 현재 정제기술 발달로 자트로파 종자로부터 유기질 비료, 항암 치료제, 비누 생산, 화장품 산업, 살충제 등을 추출할 뿐만 아니라 자트로파를 생태계 복화에 이용하는 등 다양한 목적으로 사용하고 있다(Openshaw, 2000).

최근에 자트로파가 주목을 받게 된 것은 바이오 에너지 작물로 이용가능 할 뿐만 아니라 다른 작물과 비교하여 바이오디젤 생산단가가 낮기 때문이다. 바이오디젤 생산비용이 배럴당 옥수수는 63달러, 사탕수수는 45달러가 드는데 반하여 자트로파는 43달러로 가장 저렴하다(Körbitz, 1999). 자트로파는 척박한 토양과 환경에서도 잘 자라므로 관수나 비료 등과 같은 투입 비용이 적고(Openshaw, 2000) 옥수수나 사탕수수 등 식용작물들과는 다르게 비식용작물로서 곡물 가격의 폭등에도 영향을 받지 않아 각광을 받고 있다(Yuan et al., 2008). 자트로파는 불포화 지방산 중 oleic acid(18 : 1)의 조성 비율이 42-49%로 바이오 디젤의 원료로 적합하다(Luo et al., 2006).

자트로파의 불량 환경을 감지하는 다양한 경로와 이에 대응하는 반응 기작이 보고되고 있다(Dou et al., 2008 and Zhang et al., 2008). 홍수가 발생하여 식물의 뿌리가 물에 잠기면, 뿌리가 갑자기 산소결핍 상태에 놓이게 된다(Tournaire-

[†]Corresponding author: (Phone) +82-62-530-2052 (E-mail) asjsuse@chonnam.ac.kr

<Received 21 April 2011; Revised 30 May 2011; Accepted 1 June 2011>

Roux *et al.*, 2003). 산소결핍에 대한 식물의 초기 반응은 뿌리 세포의 세포막에 존재하는 수분 통로인 아쿠아포린(aquaporin)을 차단하는 것이다. 산소결핍은 뿌리 세포의 세포질(cytosol)의 산성화를 유발하여, 아쿠아포린에 의해 일어나는 수분 전달을 차단한다(Baiges *et al.*, 2002). 아쿠아포린은 major intrinsic protein으로 불리는 막 단백질로써, 식물에는 다양한 이성체가 존재한다. 예를 들어, 애기장대에는 35개의 아쿠아포린이 존재하며 원형질막에 존재하는 plasma membrane intrinsic protein(PIP)과 액포막에 존재하는 tonoplast intrinsic protein(TIP)이 가장 많이 보고되었다(Luu *et al.*, 2005). 최근까지 자트로파에서 밝혀진 아쿠아포린은 JcPIP2로 가뭄 스트레스 반응에 관여한다고 보고되고 있다(Zhang *et al.*, 2007). 자트로파는 가뭄과 열의 스트레스에 내성으로 알려져 있으나 어떠한 기작으로 반응하는지는 알려져 있지 않고 이러한 스트레스에 관한 기초적인 자료가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 다양한 환경 스트레스 중에서 염과 가뭄 스트레스에 대한 생리적 반응과 아쿠아포린의 발현 양상을 검토하여 자트로파의 환경 스트레스 내성 기작 연구의 기초적 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

자트로파 종자(Biji jarak; 인도네시아산)를 상업용 vermiculite에 파종하여, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도조건과 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 광조건에서 발아시켰다. 파종 10일 후에 1/2배 Hoagland solution으로 옮겨 5일 동안 수경재배 조건에서 순화시킨 후 1배 Hoagland solution으로 재배하였다. 파종 후 20일째, 본엽의 출수 후에 염과 가뭄 스트레스 처리를 하였다. 염 스트레스는 100, 200, 300 mM NaCl, 가뭄 스트레스는 5, 10, 20, 30% polyethylene glycol(PEG3350)을 처리하여 실험을 실시하였다. 모든 실험은 온도 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 65%, 일장 16 h light/8 h dark, 광도 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 를 유지하는 growth chamber에서 수행됐다.

잎의 생장률과 기공전도도, 엽록소 형광 측정을 2일 간격으로 8일까지 제 1 본엽을 선택하여 조사하였다. 엽장은 엽맥의 직선 길이를 측정하였으며, 엽폭은 잎의 가장 넓은 부분의 직선 길이를 측정하였다. 기공 전도도는 steady state diffusion promoter(Decagon Devices, Inc, USA)를 사용하여 오전 11시에서 오후 1시 사이에 잎의 기공 전도도를 측정하였고, 엽록소 형광은 측정 전에 어댑터를 25분간 미리 부착하였고 CF-1000(Morgan Scientific, USA)으로 측정하였다. 잎의 전해질 유출량은 삼각 플라스크에 60 mL의 3차

증류수를 넣고, 잎의 크기를 균일하게 1 cm로 파쇄하여 0.5 g을 담고 26°C 에서 2시간 교반 후 전기전도도(Model 4070, ELE, England)를 측정하였다.

유전자 발현을 살펴보기 위해 자트로파의 뿌리, 줄기, 떡잎, 잎은 채취하여 바로 액체질소에 넣고 분석하기 전까지 -80°C 에 보관하였다. 처리별로 자트로파의 total RNA를 RNeasy plant mini kit(Qiagen, USA)를 이용하여 추출하였다. cDNA의 합성은 PrimerScript™ 1st strand cDNA synthesis kit(Takara)를 이용하여 제작하였다. Semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)은 *JcPIP2*, 5' - G A A A C G C A A A C T A C C C A T G C - 3' 와 5'-CTGCGGAAAGATCCCAAAG-3'; *JcBD1*, 5'-ATTACG GTTTAGGTGCTGC-3'와 5'-GCTTTGAAGGAGACTGATAC-3'; *18S rRNA*, 5'-AGAAACGGCTACCACATC-3'와 5'-CCAAGGTCCAACACTACGAG-3'의 프라이머를 사용하여 실시하였다. PCR reaction은 94°C 3분; 1cycle, 94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분; 26 cycles, 72°C 5분; 1cycle의 조건으로 수행하였다.

결과 및 고찰

염과 가뭄 스트레스에 따른 자트로파의 생리적 반응

자트로파에 100, 200, 300 mM NaCl의 염 스트레스와 5, 10, 20, 30% PEG의 가뭄 스트레스를 8일간 처리한 잎과 뿌리 상태는 가뭄 스트레스보다 염 스트레스에서 피해 증상이 심각함을 알 수 있었다(Fig. 1A). 특히 200, 300 mM NaCl 처리 후 1일째부터 바로 잎이 위조되었고 300 mM NaCl 처리구에서는 뿌리가 갈변하여, 가장 심한 피해 증상을 보였다. 또한, 잎의 생장률은 300 mM NaCl 처리구에서 이틀째부터 엽장과 엽폭의 생장이 멈췄고, 200 mM NaCl 처리구에서도 엽장이 처리 6일째부터 생장이 멈췄다(Fig. 1B, 1C). 그러나 가뭄 스트레스 처리구에서는 모든 농도에서 처리 8일째까지 잎의 생장이 지속되었고, 5% PEG 처리구에서는 엽폭이 오히려 대조구보다 더 잘 자랐다. 이는 저농도의 PEG 처리는 식물에게 스트레스가 아니라 오히려 생장을 촉진하는 요인으로 작용한 것으로 판단되었다(Fig. 1D, 1E).

잎의 기공 전도도는 염과 가뭄 처리구에서 심각한 영향을 받았다. 모든 염 처리구에서 대조구와 비교하여 기공전도도가 현저하게 감소하였다(Fig. 2A). 10% 이상의 PEG 처리구에서는 2일째부터 기공전도도가 $60 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 이하로 감소하고, 반면에 5% PEG 처리구는 대조구와 비슷한 수준으로 실험기간 동안 유지되었다(Fig. 2B). 기공전도도의 측

A

Fig. 1. Pictures of *Jatropha* shoot and root growth status with salt and drought stresses at day 8 after treatment (A) and effect of salt (B, C) or drought (D, E) treatments on leaf length and width of *jatropha*. Values are mean $\pm$ SE (n=6).

정 결과는 자트로파 잎의 생장 측정 결과(Fig. 1)와 스트레스에 대한 반응이 비슷한 경향을 보였다. 식물이 수분부족 상태가 되면 식물체의 잎 내부에서 기체상 CO₂ 전도도를 감소시켜 기공 전도도의 변화를 나타낸다. 또한, 광합성 속

도는 호흡속도의 지하에 비하여 매우 현저하게 저하되므로 이는 순광합성속도의 저하로 나타난다(Bernacchi *et al.*, 2003).

이를 통해 기공전도도가 감소한 100, 200, 300 mM NaCl

Fig. 2. Effect of salt or drought treatments on leaf stomatal conductance (A, B) and chlorophyll fluorescence (C, D). Values are mean $\pm$ SE (n=6).

처리구와 10, 20, 30% PEG 처리구의 식물은 광합성에 피해를 입었다는 것을 알 수 있었다.

또 엽록소 형광의 측정은 엽 스트레스 처리구나 가뭄 스트레스 처리구에서 큰 차이를 보이지는 않았지만, 고농도의 엽 스트레스 처리구인 300 mM NaCl에서는 처리 4일째부터 암 적응된 PSII 반응 중심의 엽록소 형광 값(Fv/Fm)이 0.7 이하로 떨어졌고, 8일째에는 0.45로 떨어져 제 2 광계에 피해를 입은 것을 알 수 있었다(Fig. 2C, 2D). 엽록소 형광의 측정은 광합성 초기 광화학반응에 사용되지 못한 빛 에너지의 일부가 다시 빛으로 방출되는 형광값을 측정하는 것이다. 엽록소 분자가 여기상태에서 기저상태로 돌아오는 방법 중 형광으로 여기에너지를 방출하는 양을 측정하며 식물 잎에서 나오는 형광은 photodiode으로 충분히 측정이 가능하다(Maxwell *et al.*, 2000). 그러므로 엽록소 형광의 측정은 식물 광합성의 효율을 알려주는데, 300 mM NaCl 처리구 식물은 스트레스로 인해 광합성 효율이 감소하여 엽록소

형광 값 즉, 여기에너지의 방출량이 감소하였음을 알 수 있었다(Liang *et al.*, 2007).

전해질 유출량은 NaCl 농도가 증가할수록 급격히 증가하였다. 특히 300 mM NaCl 처리구에서는 값이 약 800 μ S/FW로 대조구에 비해 40배가 증가하였다(Fig. 3A). 그러나 PEG 처리구에서는 전해질 유출량에 변화가 거의 없었다(Fig. 3B). 이는 엽 스트레스에서는 식물이 막 수준에서 큰 피해를 입어 전해질 유출량이 급격히 증가하였고, 가뭄 스트레스에서는 피해가 적어 전해질 유출량의 증가가 미미한 것으로 판단된다. 이것은 스트레스가 원형질막 상의 수용체에 작용하여 막을 파괴하기 때문으로 스트레스에 대한 내성과 민감성은 전해질 유출의 증감과 비슷한 경향을 보인다(Bajji *et al.*, 2001).

이러한 결과들을 종합하면 잎의 생장률과 기공전도도의 측정을 통하여 5% PEG 처리에서는 오히려 생장이 촉진되는 것을 확인하였고, 엽록소 형광과 전해질 유출량의 측정

Fig. 3. Effect of various salt or drought treatments on leaf electrolyte leakage at 8 days after treatment. Values are mean $\pm$ SE (n=6).

을 통하여 10, 20, 30% PEG 처리에서는 식물체가 큰 피해를 입지 않는 것을 보여주었다. 염 스트레스 처리에서도 100 mM NaCl 농도까지는 식물의 생장에 피해가 크지 않았으나, 200 mM NaCl 처리부터 피해가 심각함을 확인하였다. 그러므로 열대작물인 자트로파는 염 스트레스 보다는 가뭄 스트레스에 더 내성을 갖는 것으로 보인다.

염과 가뭄 스트레스에 따른 자트로파의 유전자 발현

염과 가뭄 스트레스는 식물 내에서 수분 스트레스로 작용하므로 수분 수송과 관련된 아쿠아포린의 발현 양상을 조사하였다. 자트로파는 선행 연구에서 아쿠아포린 유전자인 *JcPIP2*(ABM54183)가 밝혀져 있었고(Zhang *et al.*, 2007), 본 논문에서는 애기장대와 자트로파의 amino acid alignment를 실시하였다. 그 결과 *AtPIP2;7*(AT4G35100)과 *AtPIP2;8*(AT2G16850)이 89, 90%로 높은 상동성을 보였고(Fig. 4A), 계통발생학적 분석에 따라서는 *AtPIP2;7*과 가장 가까웠다(Fig. 4B). *AtPIP2;7*는 원형질막 내재 단백질(plasma membrane intrinsic protein 3)으로 염 스트레스 관련 주요 내재 단백질로 알려져 있다(Baiges *et al.*, 2002). 고로 *JcPIP2*의 발현 양상을 관찰하는 것이 스트레스와 아쿠아포린의 관련성을 밝히는데 적합할 것으로 판단되었다. 먼저 RT-PCR를 통하여 유전자의 전사 단계에서 *JcPIP2*가 자트로파의 뿌리, 줄기, 떡잎, 잎 등 모든 기관에서 발현하는 것을 확인하였다(Fig. 4D). 뿌리는 더욱 세분화하여 주근, 측근, 뿌리 끝 1 cm 별로 분류하여 유전자의 발현 양상을 조사한 결과 주근과 측근에서 모두 발현하였고, 뿌리 끝에서는 발현하지 않았다(Fig. 4E). 이를 통해 자트로파는 조직 특이적이 아닌

모든 부위에서 동일하게 수분이나 양분을 수송한다는 것을 발견하였다.

환경 스트레스 조건 하에서 발현하는 것으로 알려진 *JcBDI*은 베타인 알데히드 탈수효소(betaine aldehyde dehydrogenase) 유전자로 이전 연구에서 가뭄, 고온 그리고 염 스트레스와 관련 있음이 밝혀져 양성 대조군으로 사용되었다(Zhang *et al.*, 2008). *JcBDI*은 NaCl과 PEG 스트레스에서 발현이 증가하지는 않았지만, 모든 처리 조건에서 발현하였다(Fig. 5A). 200과 300 mM NaCl 염 스트레스 처리구의 뿌리에서는 *JcPIP2*의 발현이 각각 62, 61%로 증가하였고(Fig. 5B), 이와 동일하게 줄기에서도 *JcPIP2*의 발현이 각각 20, 15%로 증가하였다(Fig. 5C). 그러나 떡잎에서는 각각 77, 78%로 감소하였고(Fig. 5D), 잎에서는 발현되지 않았다(Fig. 5E). 또한, 10, 20, 30% PEG 가뭄 스트레스 처리구의 뿌리에서는 농도 순으로 각각 62, 67, 62%로 *JcPIP2*의 발현이 증가하였고(Fig. 5B), 줄기에서도 마찬가지로 12, 14, 7%로 증가하였다(Fig. 5C). 그러나 염 스트레스 처리구와 달리 떡잎에서는 발현이 유지되었고(Fig. 5D), 잎에서도 35, 29, 32%로 증가하였다(Fig. 5E). *JcPIP2*가 염 스트레스에는 발현이 감소하였고, 가뭄 스트레스에는 아무런 변화가 없는 것은 앞의 alignment 결과에 따라 *AtPIP2;7*과 높은 상동성을 가졌기 때문에 염 스트레스 관련 주요 내재 단백질과 같은 기능을 한 것으로 보여진다. 염과 가뭄 스트레스에 따른 아쿠아포린 발현량 조사를 통해서 자트로파가 염 스트레스보다 가뭄 스트레스에 덜 피해를 입는 것을 알 수 있었다. 이는 열대작물의 특징으로써 자트로파가 가뭄 스트레스에 더 내성을 보여주는 것으로 사료된다.

Fig. 4. Amino acid sequence alignments of plasma membrane intrinsic proteins (PIPs) and expression of *JcPIP2*. Amino acid sequences were compared with the ClustalW multiple alignment program (A) and to draw the phylogenetic tree (B). The expression profile of *JcPIP2* in different plant tissues of whole root, stem, cotyledon and leaves (D) and main root, lateral root and root tip (E) were displayed and taken these roots to investigate the expression of *JcPIP2*.

그러나 많은 식물은 염과 가뭄에서 공통의 신호 전달 체계를 가지는 것으로 알려져 있다(Xiong *et al.*, 2002). 식물이 염과 가뭄 스트레스를 받으면 신호를 인식하고, 신호전달 경로는 ABA가 생합성되는 경로와 ABA와 독립적으로 작용하는 경로로 나뉜다(Shinozaki *et al.*, 2007). 하나는 ABA 생합성이 일어나는 과정으로 AREB/ABF(bZIP)이 전사요소(transcription factors)로 작용하여 *RD29B*나 *RD20A*와 같은 스트레스 관련 내성 유전자를 발현시키고, 또 다른 하나

는 ABA와 독립적으로 작용하여 DREB2 (AP2/ERF)가 전사 요소로 작용해 *RD29A*를 발현시켜 스트레스에 반응하고 내성을 나타낸다(Shinozaki *et al.*, 2003). 식물은 일반적으로 가뭄과 염 스트레스 둘 다 수분 스트레스로 인식하여 신호 전달 체계가 똑같은 경로의 선택은 그 이후에 일어난다(Zhu, 2002). 그러나 본 실험의 결과에서는 자트로파가 염에는 피해를 많이 입고 가뭄에는 피해를 덜 입는 생육양상을 나타내었다. 본래 식물은 가뭄과 염 스트레스를 둘 다 수

Fig. 5. Effect of salt (left A) or drought (right A) treatments on the expression of *JcPIP2* and *JcBD1* using semi-quantitative RT-PCR in the different plant tissues such as root (B), stem (C), cotyledon (D) and leaf (E) of *Jatropha*. The expressions of *JcPIP2* and *JcBD1* genes were used the different plant parts such as root, stem, cotyledon and leaf of *Jatropha* at day 3 after salt or drought treatment.

분 스트레스로 인식하지만, 자트로파의 경우에는 가뭄과 염에 의한 수분 스트레스를 인식하는 데 있어 다른 전달 체계가 있을 것이라고 생각된다(Maesa *et al.*, 2009). 이렇게 자트로파가 가뭄 스트레스에 다르게 반응하는 것은 열대작물이기 때문이라고 사료된다.

결론적으로 자트로파는 가뭄에 의한 수분 스트레스를 인식하는 정도가 일반 식물보다 덜 민감한 것으로 판단되며, 앞으로 자트로파의 스트레스 조건에 따른 생리반응 신호전달 체계에 보다 구체적인 검토가 필요할 것으로 사료되었다. 따라서 이와 같이 상반되는 특성을 이용하여 자트로파를 바이오 에너지 작물로 재배할 때에는 간척지보다는 가뭄 지역이나 또는 사막화가 진행되고 있는 척박한 땅에서 재배하는 것이 더 유리할 것으로 판단된다.

적 요

열대작물인 자트로파의 염과 가뭄 스트레스에 따른 생리적 반응과 유전자 발현의 연구를 통해 바이오에너지 작물로서의 기초적 자료를 얻고자 본 실험을 수행하였다.

1. 100·200·300 mM NaCl의 염 스트레스와 5·10·20·30% PEG의 가뭄 스트레스를 처리하여 잎의 생장, 기공의 전도도, 엽록소 형광, 전해질 유출량을 조사하였다. 자트로파의 잎의 생장, 기공의 전도도, 엽록소 형광, 전해질 유출량을 통한 생육조사 결과 가뭄 스트레스 보다 염 스트레스에서 더 많은 피해를 입었다.
2. 수분 수송과 관련된 아쿠아포린 중에서 *JcPIP2*가 뿌리, 줄기, 떡잎 그리고 잎에서 모두 고르게 발현하고 있음을 확인하였다. 잎의 *JcPIP2*는 대조구와 가뭄 스트레스 처리구에서 모두 발현하는 반면, 200·300 mM NaCl 처리구에서는 잎에서 발현하지 않았다.
3. 염과 가뭄 스트레스에서 *JcPIP2*가 상반되는 반응을 보이는 것은 *JcPIP2*가 염 스트레스 관련 주요 내재 단백질과 같은 기능을 하는 것으로 판단된다.
4. 자트로파는 염 스트레스보다 가뭄 스트레스에 더 내성을 보이므로 간척지보다는 가뭄 지역에서 재배하는 것이 더 유리할 것으로 보인다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업과제(과제번호: 201004010300390010600)와 교육과학기술부 WCU 녹색에너지 기초 기술 및 개발연구사업단(과제번호: R312009000200250)의 연구

지원에 의해 수행한 과제결과의 일부이며, 연구 지원에 감사드립니다.

인용문헌

- Baiges I., A. R. Schäffnerb, M. J. Affenzellerb, and A. Masa. 2002. Plant aquaporins. *Physiol. Plant.* 115 : 175-182.
- Bajji M, J. M. Kinet, and S. Lutts. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulat.* 36 : 1-10.
- Bernacchi C. J., C. Calafapietra, P. A. Davey, V. E. Wittig, G. E. Scarascia-Mugnozza, C. A. Raines, and S. P. Long. 2003. Photosynthesis and stomatal conductance responses of poplars to free-air CO₂enrichment(PopFACE) during the first grow they clean dimmed iately following coppice. *New Phytol.* 159 : 609-621.
- Dou X. Y, G. J. Wu, H. Y. Huang, Y. J. Hou, Q. Gu, and C. L. Peng. 2008. Responses of *Jatropha curcas* L. seedlings to drought stress. Article in Chinese. 19 : 1425-30.
- Körbitz W. 1999. Biodiesel production in Europe and North America, an encouraging prospect. *Renewable Energy.* 16 : 1078-1083.
- Liang Y., H. Chen, M. J. Tang, P. F. Yang., and S. H. Shen. 2007. Responses of *Jatropha curcas* seedlings to cold stress: photosynthesis-related proteins and chlorophyll fluorescence characteristics. *Physiol. Plant.* 131 : 508-517.
- Luo T., S. M. Peng, W. Y. Deng, D. W. Ma, Y. Xu, M. Xiao, and F. Chen. 2006. Characterization of a new stearyl-acyl carrier protein desaturase gene from *Jatropha curcas*. *Biotechnology Letters.* 28 : 657-662.
- Luu D. T. and C. Maurel. 2005. Aquaproins in a challenging environment: Molecular gears for adjusting plant water status. *Plant, Cell and Environ.* 28 : 85-96.
- Maesa W. H., W. M. J. Achtena, B. Reubensa, D. Raesb, R. Samsonc, and B. Muysa. 2009. Plant-water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *J. Arid Environ.* 73 : 877-884.
- Maxwell K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *J. Expt. Bot.* 51 : 659-668.
- Openshaw K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy.* 19 : 1-15.
- Shinozaki K, K. Yamaguchi-Shinozaki, and M. Seki. 2003. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Current Opinion in Plant Biol.* 6 : 410-417.
- Shinozaki K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Experimental Bot.* 58 : 221-227.
- Tournaire-Roux C., M. Sutka, H. Javot, E. Gout, P. Gerbeau, D.T. Luu, R. Bligny, and C. Maurel. 2003. Cytosolic pH

- regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature*. 425 : 393-397.
- Xiong L., K. S. Schumaker, and J. K. Zhu. 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The Plant Cell*. 14 : 165-183.
- Yuan J. S, K. H. Tiller, H. A. Ahmad, N. R. Stewart, and C. N. Stewart. 2008. Plants to power: bioenergy to fuel the future. *Trends in Palnt Sci*. 13 : 421-429.
- Zhang F. L, B. Niu, Y. C. Wang, F. Chen, S. H. Wang, Y. Xu, L. D. Jiang, S. Gao, J. Wu, L. Tang, and Y. J. Jia. 2008. A novel betain aldehyde dehydrogenase gene from *Jatropha curcas*, encoding an enzyme implicated in adaptation to environmental stress. *Plant Sci*. 174 : 510-518.
- Zhang Y., Y. Wang, L. Jiang, Y. Xu, Y. Wang, D. Lu, and F. Chen. 2007. Aquaporin JcPIP2 is involved in drought responses in *Jatropha curcas*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 39 : 787-794.
- Zhu J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Rev. Plant Biol*. 53 : 247-273.