

文章编号 :1003-8701(2010)03-0021-06

水稻耐盐转基因研究进展

杨 闯¹,尚丽霞²,李淑芳²,于志晶²,林秀峰^{2*},马 瑞^{2*}

(1. 吉林农业大学中药材学院,长春 130118;2. 吉林省农业科学院生物技术研究中心,长春 130033)

摘 要:土壤盐渍化正吞噬着人类赖以生存的有限的土地资源,已经成为严重制约农业生产的另一个全球性问题。提高作物的耐盐能力是植物育种工作急需解决的关键问题。随着现代分子生物技术的飞速发展,人们寄希望于基因工程培育耐盐品种。科研工作者已经鉴定和克隆出一批耐盐碱相关的基因,这些基因的利用已成为培育耐盐水稻品种的主要途径之一。通过耐盐相关基因转化,已经获得了一些耐盐性提高的转基因水稻。本文就植物耐盐机理、耐盐相关基因的克隆及转耐盐基因水稻等几个方面进行了综述,并对该领域的前景进行了展望。

关键词:水稻;耐盐;转基因

中图分类号:S511

文献标识码:A

Advances in Transformation of Salt Tolerance Gene in Rice

YANG Chuang¹, SHANG Li-xia², LI Shu-fang², YU Zhi-jing², LIN Xiu-feng^{2*}, MA Rui^{2*}

(1. College of Chinese Medicinal Plant, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;

2. Biotechnology Center, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Changchun 130033, China)

Abstract: Soil salinization swallowing the limited farm land of mankind's has become another global serious constraint for agricultural production. Improving the capacity of crop salt-tolerance is urgently needed for plant breeding. With development of modern molecular biology technology, genetic engineering was expected for breeding the salt-tolerant plant. Scientific workers have cloned a number of salt-tolerance related genes which have been used for rice breeding. Salt-tolerance of the transgenic rice has been improved to some extent. In this paper, the mechanism of salt-tolerance in plant, salt-tolerance related gene cloning and transformation of the genes into rice were reviewed. The prospect of the research area was also illustrated.

Keywords: Rice; Salt tolerance; Genetic transformation

据联合国粮农组织的调查结果表明,全球6%的陆地面积遭受着土壤盐渍化的侵蚀,20%的灌溉农业受到不同程度的盐害威胁。土壤盐渍化正吞噬着人类赖以生存的有限的土地资源,成为严重制约农业生产的另一个全球性问题。尽管盐碱地可以通过水分灌溉、施用化学改良剂来进行土

壤改良,但因耗资巨大。通过遗传改良提高作物的抗逆性是解决这一农业问题的最有效途径之一,因此,提高作物的耐盐、抗旱能力是植物育种工作急需解决的关键问题。虽然近年来利用传统的育种方法使作物的耐盐碱性有了一定的改良,然而进展相对缓慢,至今尚未培育出真正的耐盐品种,利用常规品种选育方法难以解决上述难题。随着现代分子生物技术的飞速发展,人们寄希望于基因工程培育耐盐、抗旱品种。转基因技术可定向改造植物的遗传性状,外源基因的导入打破了物种之间的生殖隔离障碍、丰富了基因资源,弥补了常规育种方法的不足,使作物育种得到了前所未有的发展。

收稿日期:2010-03-24

基金项目:吉林省农业科学院博士后基金和博士启动基金、吉林省科技厅现代农业重点项目(编号为20090201)、吉林省科技厅应用基础研究项目(编号为20090564)

作者简介:杨 闯(1984-)男,硕士,主要从事植物基因工程研究。

通讯作者:林秀峰,女,研究员,E-mail:linxiufeng8581@163.com

马 瑞,男,研究员,E-mail:ruimaa@yahoo.com

1 植物的耐盐机理

耐盐是指通过生理或代谢过程来适应细胞内的高盐环境的现象。在盐胁迫下,植物的外部形态和内部的生理生化特性都发生了一系列的变化,有些变化是盐胁迫伤害的结果,是植物对逆境条件的消极反应,有些变化则是植物对逆境的积极反应,有利于对不利环境条件的适应。

1.1 耐渗透胁迫

在盐胁迫下,由于细胞外的水势低于胞内,细胞不仅不能吸收到水分,而且内部水分会向外倒流,引起细胞的失水,从而造成生理干旱。为保持胞内的水分,维持细胞的正常生理代谢,细胞通过渗透调节,降低胞内水势,使水分的跨膜运输朝着有利于细胞生长的方向流动。

所谓渗透调节(Osmotic adjustment)是指植物生长在渗透胁迫下,其细胞中在渗透上有活性的无毒害作用的溶质的主动净增长过程。这种主动净增长的结果,使细胞质浓度增加,渗透势降低,便于植物在低渗透势环境中吸收水分,进而维持膨压。渗透调节从理论上讲可以通过3个途径来达到:(1)水分减少;(2)细胞体积变小;(3)溶质增加。实际上这3个途径是共存的。当然在一定的条件下,对某种植物而言,可能以某一种方式为主。

一般而言,在盐分胁迫下植物进行渗透调节的方式通常有两种:一是吸收和积累无机盐离子。许多盐生植物在盐分胁迫下,主要依靠从外界介质中吸收和积累大量的无机盐离子进行渗透调节,从而避免脱水,防止盐害^[1]。植物吸收和积累的离子多种多样,主要有 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 等。植物主要以主动吸收的方式从周围的介质中吸收无机离子。盐离子进入细胞后,大部分积累在液泡中,在那里降低细胞水势,进行渗透调节。这些途径普遍存在于盐生植物和一些栽培植物中。二是合成和积累有机小分子物质,盐胁迫下,植物细胞中常积累一些小分子有机物质以维持高的细胞质渗透压,便于植物在高盐条件下对水分的吸收,以保证细胞正常的生理功能。如脯氨酸、可溶性糖、游离有机酸、游离氨基酸、甜菜碱、多胺、山梨醇、甘露醇等,它们可以降低细胞内的水势,提高作物的吸水能力,但它们本身不会对作物细胞造成伤害,是植物耐盐的重要原因。这些小分子物质在正常情况下含量往往很低,只有在盐胁迫等逆境条件下合成反应才会被激活,在植物体内逐渐积累,以调节细胞内的渗透势、维持水分

平衡,还可以保护细胞内许多重要代谢活动所需的酶类活性,与植物的抗逆性关系密切。通常这两种途径同时存在,总是因不同的植物、器官和组织而各占的比例不同。

1.2 耐离子胁迫

植物对离子毒害抵抗方式有2种:一种是避盐,在盐胁迫环境和植物之间存在某种障碍(如对盐离子不吸收或很少吸收,即使吸收后也尽可能不向代谢活性部位运输),从而使植物具有全部或部分抵抗盐胁迫能力;另一种方式是耐盐,是指植物体可全部或部分承受盐胁迫而不引起伤害或伤害轻微的能力。在组织中盐分浓度相等的情况下,具有耐盐能力的植物比其它植物生长要好,作物可以通过选择性吸收不同的离子来减轻毒害,主要是通过吸收土壤中 Ca^{2+} 或释放液泡中储藏的 Ca^{2+} 来减少对 Na^+ 的吸收。 Ca^{2+} 能维持细胞壁、细胞膜及膜结合蛋白的稳定性,参与胞内稳定和生长发育的调节过程,起第二信使的作用。它有效地改变了植物对有毒害作用的 Na^+ 的吸收,限制 Na^+ 进入细胞,提高 Na^+ 的流出速度,从而抑制了 Na^+ 在细胞内的积累,减少了过氧化物自由基的产生。

植物耐盐另一主要方式是离子区域化作用。所谓离子区域化作用,即将吸收到植物细胞中的大部分离子运输并贮存在液泡中,从而降低细胞中的盐浓度。离子区域化作用与细胞的渗透调节有直接的关系。耐盐细胞对盐胁迫所做出的渗透调节的迅速反应,一般是通过在细胞中积累大量的 Na^+ 、 Cl^- 来完成的。这些离子在细胞中的积累往往高于介质中的数倍以上,并聚集在液泡中,避免对细胞质的毒害作用,同时起到渗透调节作用。离子区域化作用还取决于植物对盐分的吸收、运输和分配。

1.3 耐氧化胁迫

由高盐引起植物的渗透和离子胁迫可能会产生次级胁迫或衍生胁迫,如毒物积累、非必需化合物合成、细胞代谢障碍以及营养紊乱等,其中氧化胁迫是耐盐的一个重要限制因素。盐胁迫植物产生的活性氧基团(ROS)^[2-3](包括过氧化氢、羟基氢氧基和超氧化物阴离子等),对细胞结构、脂、酶和DNA等均有损伤作用,因此,对这些化合物解毒有助于提高植物对盐和其他胁迫的耐受性。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽还原酶(GR)等是植物体内的保护酶系统,它们相互

协调,共同协作,可清除膜脂过氧化作用产生的丙二醛(MDA),最终达到保护膜结构的作用。减轻脂质过氧化作用和发挥 SOD 保护作用是植物耐盐的主要过程^[4]。过表达 ROS 清除酶,如超氧化物歧化酶和过氧化氢酶,均显示植物对盐和其他胁迫耐受程度的提高^[5]。

2 耐盐基因及其应用

根据植物的耐盐机理,目前用于植物遗传转化的耐盐碱相关基因主要有以下几类:

2.1 糖醇类物质合成基因

糖醇类物质广泛分布于细菌、酵母、藻类动物和高等植物中。近年来,随着转基因技术的应用,人们对这类物质在细胞中的作用已有了比较明确的认识。归纳起来有三方面的作用:①作为代谢产物,甘露醇和山梨醇分别是芥菜和苹果的主要光合作用产物。②抗氧化剂,甘露醇和山梨醇有清除羟自由基的能力,保护细胞免受羟自由基的损害。③作为细胞渗透调节物质,糖醇作为相容性溶质在渗透调节保护中起重要作用。

2.2 甜菜碱合成基因

甜菜碱及其衍生物是一类理想的渗透调节剂,它作为次生代谢产物在微生物和植物中的渗透调节中起了重要作用。目前,有关甜菜碱生物合成相关酶的基因及 cDNA 均已被克隆,并利用基因工程操作将甜菜碱生物合成途径引入无甜菜碱积累的高等植物中。

2.3 脯氨酸合成基因

脯氨酸是盐胁迫下易于积累的一种氨基酸,是盐生植物调节渗透压的一种溶质。在细胞中,脯氨酸的生物合成是由谷氨酸开始。在 δ -谷氨酸激酶作用下,谷氨酸转化成谷氨酰磷酸,谷氨酰磷酸在谷氨半醛脱氢酶的作用下形成谷氨半醛,环化后形成 Δ -吡咯啉-5-羧酸盐(P5C),然后 P5C 在 P5C 还原酶作用下形成脯氨酸。以上各种酶的基因均已被克隆。在植物中,脯氨酸的生物合成是由谷氨酸或鸟氨酸开始。在渗透胁迫下谷氨酸途径起主要作用,植物中负责前两步合成的酶为 P5C 合成酶,它兼有细菌谷氨酰激酶和谷氨半醛脱氢酶的活性。该酶的基因已从 *Mothbean*、拟南芥和 水稻中克隆。负责脯氨酸最后一步合成的酶为 P5C 还原酶,该酶基因已从大豆、豌豆和拟南芥中克隆。在高盐胁迫下 P5C 还原酶转录水平升高,但此步骤并不是脯氨酸合成的限速步骤,脯氨酸合成的早期步骤中 P5C 合成酶才是限速步骤。

在正常情况下谷氨酸激酶受脯氨酸的反馈抑制,因而始终保持低水平的脯氨酸含量。但一旦遇到干旱或盐渍,其含量可增加数十倍,甚至上百倍;在总游离氨基酸中所占的百分数也由原来的 2%左右增加到 40%~50%。但脯氨酸的积累究竟是由于盐胁迫引起植物损伤的征兆,还是耐盐的原因,目前尚不清楚。

2.4 多胺物质合成基因

多胺是生物体中存在的低分子量含氮碱。在高等植物中有二胺腐胺(Putrescine),三胺亚精胺(Spermidine),四胺精胺(Spermine)等胺类物质。多胺在植物体内起的作用主要有两种,一种是作为生长调节物质对植物的生长发育起调节作用;另一种是作为渗透调节物质在植物受到环境胁迫时起作用。多胺生物合成途径中由精氨酸通过两条不同路线而形成腐胺。一条是精氨酸由精氨酸脱羧酶(ADC)催化脱羧,生成胍精氨,再脱去氨和氨甲酰磷酸后而生成腐胺。二是精氨酸先脱去一分子脲生成鸟氨酸,再经鸟氨酸脱羧酶(ODC)催化脱羧,生成腐胺。腐胺经过加入氨丙基残基,生成亚精胺和精胺。而氨丙基的提供是由 S-腺甘蛋氨酸脱羧酶(SAMDC)催化 S-腺甘蛋氨酸(SAM)脱羧产生的脱羧 SAM 而来。这样,在多胺合成中,ADC、ODC 和 SAMDC 脱羧酶起关键作用。这三种酶均已纯化和鉴定,它们的基因已从多种植物克隆。在盐及其它渗透胁迫的情况下,水稻耐盐品种亚精胺和精胺含量高,而腐胺含量低。而水稻对盐敏感品种则腐胺含量高,亚精胺和精胺含量低。多胺与植物耐盐胁迫密切相关,因而应用克隆的多胺合成基因进行转基因研究将具有实际意义。

除了上述的几类小分子渗透调节物,还存在一些其它的小分子如海藻糖、甘油等可作为生物体的渗透调节分子。这些小分子的物质合成的关键酶基因也已转入植物。

2.5 LEA 蛋白合成基因

LEA(late embryogenesis abundant, LEA)蛋白是种子成熟过程中积累的亲水性球蛋白。在缺水情况下,营养器官也可以积累 LEA 蛋白。LEA 蛋白存在于许多不同类型的细胞中,且其浓度也有差异,在细胞内主要存在于细胞质中。在成熟的棉胚细胞中,LEA 蛋白含量可占非细胞器细胞质蛋白的 4%。LEA 蛋白的氨基酸组成极具亲水性。如棉花的 LEA 蛋白 D19 含有 13%甘氨酸和 11%的谷氨酸。另外,多数 LEA 蛋白缺乏半胱氨酸和色氨酸残基。因此,从氨基酸组成来看,LEA 蛋白不

太可能作为酶类起作用。相反,LEA蛋白的不规则卷曲部分可以结合大量水分子,从而使细胞在失水条件下仍能保持细胞结构的完整性。

根据序列同源性比较,可将LEA蛋白分为五组,其中第二、三、四组显示与抗逆性有关。在第二组中一类称之为脱水素(dehydrin)的LEA蛋白(又名RAD或D-11),在许多逆境下均可被诱导。在水稻根中有较高的含量,在ABA和盐处理下,脱水素仅在耐盐品种中积累而盐敏感品种中不积累。HVA1基因为第三组的代表,它是从大麦糊粉层中分离的基因,主要在种子发育后期表达,在幼苗中受ABA、脱水、盐和高温诱导。第四组LEA蛋白中的代表是番茄的LE25,该基因在种子成熟时期和缺水时表达并受ABA调节。在缺水条件下,它可在除花柱和子房外的所有器官中表达。其他逆境如渗透胁迫、盐害、冷害、PEG处理也可诱导LE25表达。

2.6 功能性蛋白和调节性蛋白

在盐胁迫下,植物除了积累渗透调节物质外,还产生许多反应。这些反应包括信号的感受与传递、转录因子的激活和基因表达以及生理系列反应等。对于植物在盐害、干旱下诱导的基因表达已有很多研究。表达的基因一般编码功能性蛋白和调节性蛋白等,其中功能性蛋白包括负责小分子渗透调节物合成的关键酶类以及LEA蛋白等。而对于调节性蛋白的研究不很系统,应该是今后耐盐研究的主要方向。

3 水稻耐盐相关基因的遗传转化

国内外学者已经克隆了一些耐盐相关基因,并通过转化相关耐盐基因,获得了一些耐盐性提高的转基因植物,展示了诱人的前景。

刘俊君等^[6]将mtlD/gutD双价基因转入水稻,结果耐盐能力较转它们的单基因植物明显增强。Ohta等^[7]将SOS1基因转入水稻中,显著提高了转基因植株后代的耐盐性。Cheng等^[8]将来源于小麦的LEA蛋白基因PMA80, PMA1959转入水稻, Xiong等^[9]将来源于水稻的丝裂原活化蛋白基因OsMAPK5转入水稻,均提高了转基因水稻的耐旱和耐盐性状。利用cDNA微阵列和RNA印迹技术在水稻中检测到57个高盐胁迫下诱导表达的基因^[10],并定位和克隆了一些与耐盐性状有关的基因。Katsuhara M等^[11]把大麦质膜上的一种水通道蛋白编码基因转入水稻并使其在转基因水稻中过量表达结果使水稻的茎根比率显著提高,对盐胁迫

的敏感性下降。密穗野生稻(*P. coarctata*, $2n=48$)能忍受较长时间的海水浸泡,具有较强的耐盐性(30~40 ds/m, Ece),利用远缘杂交、胚培养和生物技术等方法,将该野生稻的耐盐基因转入栽培稻中,获得了耐盐性较强的杂交后代^[12]。林秀峰等^[13]研究表明水稻转入的BADH基因正常表达,耐盐性也明显高于对照。李荣田等^[14]通过农杆菌介导法把水稻类HAL2基因(RHL)导入粳稻品种合江19,筛选后的阳性植株在苗期耐盐性有所改善,在孕穗期盐胁迫时细胞膜损伤小、叶组织活力强、耐盐性增强。Ajay等^[15]将大肠杆菌海藻糖合成基因整合在组织特异或胁迫特异诱导的启动子之下转入水稻,转基因植株中海藻糖的含量增加3~30倍,并增强了水稻的耐旱、耐盐及耐冷性。Jang等^[16]将编码大肠杆菌海藻糖-6-磷酸合成酶(TPS)和海藻糖-6-磷酸磷酸酯酶(TPP)融合蛋白的双功能蛋白(TPSP)基因转入水稻,转基因水稻中海藻糖的积累显著增加,并表现出对干旱、盐渍、寒冷等多种环境胁迫的抗性。Rohila^[17]和Babu^[18]先后将来自大麦的晚期胚胎发生丰富蛋白基因(HVA1)导入水稻,转基因水稻的耐旱性和耐盐性得到明显提高。苏金等^[19]、Anoop N和Gupta A K^[20]、Su和Wu^[21]先后将合成脯氨酸的关键酶(A-pyrroline-5-carboxylatesynthetase, p5cs)转入水稻中,转基因水稻的耐旱性及耐盐性显著提高。Saijo等^[22]研究表明超量表达水稻Ca²⁺依赖蛋白激酶可以大幅度提高水稻的耐旱性及耐盐性。Hu等^[23]的研究结果表明,在不改变表型或收益不受影响的情况下,胁迫响应基因SNAC1的过量表达可以显著提高转基因水稻生育后期的田间抗旱性。在后期遭受严重的干旱胁迫后,转基因水稻的结实率比对照高出22%~34%。Dubouzet等^[24]克隆了OsDREB1A基因,在水稻原生质中OsDREB1A能特异结合DRE并激活GUS报告基因的转录,并在转基因植株中表达,使转基因植株对干旱、高盐和冷冻胁迫环境具有较高的耐性,这些结果说明调节基因在水稻抗逆性改良中可以发挥更大的作用。Fukuda等^[25]将OsNHX1基因在水稻中超表达,耐盐性实验和一些生理生化检测表明转基因水稻的耐盐性有所提高。高继平、林鸿宣^[26]将甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因和SCK1基因转入水稻后获得的转基因植株表现出较强的耐盐性。干旱胁迫下,由于调节基因可以调控一系列功能基因的表达变化,以适应胁迫环境,因此与转化单个功能基因相比,转化调节基因具有较大的优势。另

外,Oh 等^[27]将来源于拟南芥的转录因子 CBF3 基因转入水稻, Ito 等^[28]将来源于水稻和拟南芥的转录因子 OsDREB1 A, DREB1A, 1B, 1C 基因转入水稻, Liu 等^[29]将低温诱导锌指蛋白基因 OsCOIN 转入水稻, Prashanth 等^[30]将来源于海榄雌 (*Avicennia marina*) 的解毒酶类基因 Sod1 转入水稻, Wang 等^[31]、Xu 等^[32]、和 Xiang 等^[33]分别将转录因子 OsDREB1F、ZFP252、和 OsbZIP23 基因转入水稻, Kanneganti 等^[34] 将胁迫诱导蛋白基因 OsiS-AP8 转入水稻, Hou 等^[35] 将 SKI 同源蛋白基因 OsSKIPa 转入水稻, 以上这些都显著提高了转基因水稻的耐盐性, 为利用基因工程技术培育抗盐新品种奠定了基础。

4 存在的问题和解决方法

植物耐盐机制的研究已开展了数十年, 而有关分子机制的研究开展不过十几年, 却已取得了许多可用于基因工程的结果, 为植物耐盐分子育种带来了曙光。但在通过基因工程方法进行耐盐分子育种的过程中存在一些问题: 虽然对渗透调节物质以及离子进出细胞和液泡的通道和渗透剂的代谢过程及关键酶等有一些了解, 但总体上对植物耐盐分子机制还处于探索阶段, 还有一些重要的而且是基本的问题, 至今还不太清楚, 如盐生植物之所以具有较高耐盐能力的关键因子是什么, 影响植物耐盐性的关键生理生化反应是什么; 关键酶是什么; 植物耐盐性的表达部位在哪里等等。由于这些问题没有研究清楚, 因此, 耐盐分子育种还具有较大的盲目性。另外, 采用单基因策略提高植物的耐盐性对有的植物有效, 但提高的程度有限, 而且外源基因的表达水平不稳定。

4.1 提高水稻耐盐性的育种途径

4.1.1 耐盐水稻基因型的筛选

水稻种质资源耐盐性存在较大差异, 而且耐盐机制又不完全相同, 这是水稻耐盐品种筛选的基础。培育耐盐水稻品种的研究始于 1940 年。在斯里兰卡, 1945 年曾推广过耐盐水稻品种 Pokkali, 这个材料目前还在育种等研究中应用。印度也是较早开展水稻耐盐育种的国家。我国从 70 年代开始这项工作^[36]。赵守仁等^[37]与国际水稻研究所协作, 在 500 多份耐盐水稻材料中筛选鉴定所得到的优良耐盐水稻 80~85, 该品种高抗盐碱, 分蘖性强, 耐肥抗倒, 丰产性能好。方先文等^[38]对前人选留的 38 份水稻耐盐种质资源 (用 0.5% NaCl 盐土)进行了重复筛选, 获得苗期极端耐盐

品种 6 份。严小龙等^[39]研究表明植株地上部 Na^+ 、 Cl^- 含量可以作为水稻苗期耐盐性的一个生理指标。目前, 在水稻种质资源的耐盐筛选方面还没有统一的条件与方法, 该方面有待于加深研究。

4.1.2 耐盐基因工程研究

近年来, 借助分子生物学方法和技术, 在水稻耐盐碱基因源的鉴定、重要基因的分离、克隆和转导等方面取得了较大进展。目前克隆的许多耐盐相关基因, 仅有少量基因被用于转化, 且转入的均是单个基因或相关的少数几个基因。目前获得的一些转基因植株耐盐性虽有提高, 但这只是相对于对照植株而言的, 并没有得到在大田生产中能利用的耐盐品种。目前比较一致的观点是, 植物的耐盐性是多种生理性状的综合表现, 是由位于不同染色体上的多个基因控制的, 因此通过转基因培育有应用价值的品种可能需要同时转入多个基因, 但其遗传稳定性等还有待于进一步的研究。

4.2 利用化控和栽培措施提高水稻品种的抗盐性

水稻的耐盐潜力决定于基因型, 但抗性基因的表达受外源化学物质和栽培措施的影响。李才生等^[40]研究表明当锌浓度为 1.0 mg/L 时, 对水稻细胞膜具有保护作用, 提高水稻对盐胁迫的抗性。王振河等^[41]以湖南粳稻 (HN-1) 为试验材料, 用不同浓度 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 混合液浸种后, 测定幼苗长度、根系活力、叶片叶绿素含量、过氧化物酶活力及脯氨酸含量等指标, 以分析 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 与水稻幼苗生长耐盐性的关系, 结果表明, Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 混合液对水稻幼苗生长的耐盐性有较显著的促进作用, 其中以 1 800 mg/L Mn^{2+} +1000mg/L Zn^{2+} 混合液效果最佳。朱晓军等^[42]试验结果显示, Ca^{2+} 促进了盐胁迫下水稻幼苗脯氨酸和可溶性糖的积累。脯氨酸的累积一方面可以增加细胞的渗透调节能力, 另一方面又可避免对细胞造成氨中毒。王志春等^[43]报道施钾对盐敏感品种 IR28 抗盐性促进作用大于耐盐品种 Pokkali。

5 展 望

在过去的 20 多年里, 转基因水稻的研究取得了巨大的进步, 不仅建立了成熟的遗传转化体系, 而且获得了一大批有应用潜力的转基因材料。此外, 随着拟南芥、水稻等模式植物功能基因组研究的全面展开, 一大批具有重要功能的基因被发现和克隆, 极大地丰富了转基因水稻研究可以利用的基因资源。水稻耐盐生理与生化研究在不断深入, 从细胞、组织到整个植株耐盐机理的阐明有更

多的问题正在或需要探究,水稻耐盐种质的创新途径也在不断丰富,然而,将耐盐基因聚合到优良的水稻品种中绝非易事,这需要将基因工程、细胞工程和常规杂交相结合。随着分子生物学水平和生物信息学的迅速发展,基因操作技术提高,多种植物基因组测序已经完成,对盐胁迫耐受机制进行整体性研究成为可能,将传统方法与现代分子生物学技术相结合,在不久的将来植物的耐盐性研究会取得重大突破,必将会有更有效的方法去提高植物的耐盐性,培育出具有实际应用价值的新品种。

参考文献:

- [1] 刘俊君,彭学贤,王慧中,等. 转 *mtlD/gutD* 双价转基因水稻的耐盐性[J]. 科学通报, 2000, 45(7): 724-729.
- [2] Ohta M, Hayashi Y. Introduction of a Na^+/H^+ antiporter gene form *Atriplex gmelini* confer salt tolerance to rice [J]. FEBS Lett, 2000, 532 (3): 279-282.
- [3] Cheng Z Q, Targolli J, Huang X Q, et al. Wheat LEA genes, PMA80 and PMA1959, enhance dehydration tolerance of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mol Breeding, 2002, 10: 71-82.
- [4] Katsuhara M, Koshuo K, Shiba M, et al. Overexpression of a barley aquaporin increased the shoot / root ratio and raised salt sensitivity in transgenic rice plants [J]. Plant and Cell Physiol, 2003, 44 (12): 1378-1383.
- [5] 林秀峰, 邢少辰, 刘志铭, 等. 盐胁迫对转 BADH 基因水稻 R1 的影响[J]. 吉林农业科学, 2005(5): 33-34+39.
- [6] 李荣田, 等. RHL 基因对粳稻的转化及转基因植株的耐盐性[J]. 科学通报, 2002, 47(8): 613-617.
- [7] Garg Ajay K, Kim Ju Kon, Owents Thomas G, Ranwala Anil P, Choi Yang Do, Kochian Leon V and Wu Ray J. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses[J]. PNAS, 2002, 99:15898-15903.
- [8] Jang I C, Oh S J, Seo J S, Choi W B, Song S I, Kim C H, Kim Y S, Seo H.S, Choi Y D, Nahm B H, and Kim J K. Expression of a bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increases trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth[J]. Plant Physiol, 2003, 131 (2): 516-524.
- [9] Rohila J S, Jain R K, and Wu R. Genetic improvement of Basmati rice for salt and drought tolerance by regulated expression of a barley *Hva1* cDNA[J]. Plant Sci, 2002, 163 (3): 525-532.
- [10] 苏金, 陈丕铃, 吴瑞, 等. 甘露醇-1-P 脱氢酶转基因表达对转基因水稻幼苗抗盐性的影响[J]. 中国农业科学, 1999, 32 (6): 101-103.
- [11] Hu H, Dai M, Yao J, et al. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 12987-12992.
- [12] Dubouzet J G, Sakuma Y, Ito Y, Kasuga M, Dubouzet E G, Miura S, Seki M, Yamaguchi-Shinozaki K. OsDREB gene in rice, *Oryza sativa* L, encode transcription activators that function in drought high-salt and cold responsive expression [J]. Plant J, 2003, 33: 751-763.
- [13] Fukuda A, et al. Function, intracellular localization and the importance in salt tolerance of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter from rice[J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45: 146-159.
- [14] 高继平, 林鸿宣. 水稻耐盐机理研究的重要进展 - 耐盐数量性状基因 SKC1 的研究[J]. 生命科学, 2005, 17(6): 563-565.
- [15] Oh S J, Song S I, Kim Y S, et al. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth [J]. Plant Physiol, 2005, 138: 341-351.
- [16] Ito Y, Katsura K, Maruyama K, et al. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice [J]. Plant Cell Physiol, 2006, 47: 141-153.
- [17] Xu D Q, Huang J, Guo S Q, et al. Overexpression of a TFIIIA-type zinc finger protein gene ZFP252 enhances drought and salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Febs Lett, 2008, 582: 1037-1043.
- [18] 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 Mol Biol, 2008, 66: 445-462.
- [19] Hou X, Xie K, Yao J, et al. Homolog of human ski-interacting protein in rice positively regulates cell viability and stress tolerance[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 6410-6415.
- [20] 赵守仁, 秦忠彬, 张月平. 耐盐水稻 80-85 的选育及其栽培要点[J]. 江苏农业科学, 1985(3): 1-3.
- [21] 方先文, 汤陵华, 王艳平. 耐盐水稻种质资源的筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2004(3): 295-298.
- [22] 李才生, 马惠丽, 黄鹏飞. 盐胁迫下不同浓度锌对水稻幼苗生长及细胞膜的影响[J]. 安徽农业科学, 2008 (22): 9380-9381+9427.
- [23] 朱晓军, 梁永超, 杨劲松, 等. 钙对盐胁迫下水稻幼苗抗氧化活性和膜脂过氧化作用的影响[J]. 土壤学报, 2005 (3): 453-459.
- [24] 王志春, 梁正伟. 植物耐盐研究概况与展望[J]. 生态环境, 2003(1): 106-109.