

植物耐盐碱基因的克隆及其在水稻中遗传转化研究进展

王晓雪¹, 杨祥波¹, 任旭东¹, 刘威¹, 蔡勤安², 于志晶², 尚丽霞², 马景勇^{1*}, 马瑞^{2*}

(1. 吉林农业大学农学院, 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: 由于土壤盐碱化逐年增加造成可耕作面积逐年减少, 使盐碱等非生物胁迫已成为严重影响我国粮食生产的重要因素。目前, 提高作物耐盐碱性是植物育种工作的重中之重。随着现代生物技术的快速发展, 已经获得较多与耐盐碱相关的基因, 并通过遗传转化技术获得了一些耐盐碱转基因水稻。本研究就植物耐盐碱相关基因的克隆及其在水稻中的遗传转化等方面进行了综述, 并探讨了转基因水稻这一领域研究中存在的问题及应用前景。

关键词: 水稻; 耐盐碱; 转基因

中图分类号: S511.035.3

中图分类号: A

文章编号: 1003-8701(2016)05-0046-06

Advances in the Cloning of Salt Tolerance Related Genes in Plants and Genetic Transformation of Rice

WANG Xiaoxue¹, YANG Xiangbo¹, REN Xudong¹, LIU Wei¹, CAI Qin'an², YU Zhijing², SHANG Lixia², MA Jingyong^{1*}, MA Rui^{2*}

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Institute of Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Soil salinization is increasing and causes arable area reduction year by year. It has become a main limiting factor affecting the grain production in our country. At present, improving the salt tolerance of crop is urgently needed for plant breeding. With the rapid development of modern molecular biology technology, Scientific researchers have cloned a number of salt-tolerance related genes and some salt-tolerant transgenic rice have been obtained. In the paper, cloning of salt-tolerance related genes in plants and genetic transformation of rice have been summarized. The problems and prospect of their application in genetic transformation of rice in future were also discussed.

Key words: Rice; Salt tolerance; Genetic transformation

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是全世界范围内最重要的粮食作物之一^[1]。其种植分布广泛, 约有 120 多个国家种植水稻, 其中约 90% 的国家在亚洲, 全球人口的 50% 均以稻米为主食^[2-4]。我国是世界水稻的原产国, 水稻栽培历史悠久^[5]。我国作物总栽培面积中约 30% 为水稻栽培, 稻米产量约占粮食总产量的 50%^[6-7]。但是, 随着人口的增加, 未

马瑞, 男, 研究员, E-mail: ruimaa@126.com

对稻米的需求还将不断地增长, 因此, 培养高产、稳产、优质的水稻新品种对我国乃至全世界的水稻生产和发展具有举足轻重的作用。

在作物生长发育过程中, 受到干旱、盐碱等不良因素的胁迫, 从而影响了农作物的产量和品质。土壤盐碱化是影响农作物生长发育和产量的重要环境因素之一, 据联合国教科文组织 (UNESCO) 和世界粮农组织 (FAO) 的不完全统计, 全世界大约有 9.5 亿 hm² 面积的盐碱地, 我国盐碱地面积约为 9 900 万 hm²。随着土壤盐碱化逐年增加, 可耕作面积逐年减少, 严重制约了农业生产, 因此, 对于盐碱地的改良和利用已成为人们关注的重点。目前, 由于水稻耐盐碱种质资源的匮乏,

收稿日期: 2016-04-07

基金项目: 吉林省科技支撑计划项目 (20140307031NY)

作者简介: 王晓雪 (1988-), 女, 在读硕士, 从事水稻遗传育种研究工作。

通讯作者: 马景勇, 男, 教授, E-mail: 99n2@163.com

传统育种技术改良水稻耐盐碱性进展较为缓慢。随着分子生物学和现代基因工程技术的快速发展,可以通过转基因技术对植物的遗传性状进行定向改良,打破了物种之间的生殖隔离障碍,丰富了基因资源,克服了传统育种的资源匮乏、技术缓慢等缺点,且提高了育种目标的精准性,使作物育种工作进一步发展。因此,利用转基因技术培育耐盐碱转基因水稻新品种已经成为当前水稻育种工作研究的重点。

1 植物耐盐碱的分子机制

盐害是指土壤在高盐环境下,植物体内被迫吸收大量的盐离子,过量的盐离子破坏了活性氧代谢系统的动态平衡,造成了膜脂或膜蛋白损伤,导致膜透性增加,细胞内水溶质外渗,导致生理干旱。植物为了能适应高盐碱的生存环境,自身进化出了多种耐盐碱信号通路。主要包括以下三个方面:①耐渗透胁迫:在盐碱胁迫下,会对植物根部产生渗透胁迫,植物在渗透胁迫下会积累小分子物质,如脯氨酸、甜菜碱、糖醇等,来调节植物体内的渗透压,从而维持细胞和组织的渗透平衡。②抗氧化胁迫:在盐碱胁迫下,植物产生氧化胁迫,植物在受到氧化胁迫时会迅速积累抗氧化酶类物质,包括超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, GPX)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, GR)等。消除活性氧有助于提高植物对盐碱胁迫的耐受性。③耐离子胁迫:在盐碱胁迫下,会对植物根部产生离子胁迫,植物根部在受到离子胁迫时会通过调节细胞内离子的进出平衡,来维持细胞内外和组织内外的离子平衡。

2 植物耐盐碱基因的克隆及其功能研究

2.1 参与渗透平衡相关基因

2.1.1 脯氨酸合成关键酶基因

在盐碱胁迫下,植物体内脯氨酸大量累积,对提高植物的盐碱耐受性起重要作用。脯氨酸的积累可以看作是一个植物盐碱胁迫耐受性的生理指标。吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)是脯氨酸合成的关键酶。Delauney等^[8]在大豆中发现了P5CS酶与调节渗透平衡有关,并进一步克隆得到了相关的基因P5CS。焦蓉等^[9]利用同源克隆技术和

RACE克隆技术从受水分胁迫的烟草中克隆得到两个脯氨酸合成的关键酶基因*NtP5CS*和*Ntδ-OAT*, RT-PCR分析表明干旱、低温、ABA、高盐等胁迫条件均可诱导*NtP5CS*和*Ntδ-OAT*基因的诱导表达。张兆元等^[10]从NaCl处理的野生大豆中克隆得到脯氨酸合成的关键酶基因*GsP5CS*,表明该基因受盐胁迫诱导上调表达,同时也证明了*GsP5CS*基因与野生大豆体内脯氨酸的合成具有高度相关性。

2.1.2 甜菜碱脱氢酶基因

植物在盐碱胁迫下,甜菜碱主要在细胞质中进行积累,其作用是通过维持水分平衡来调节植物细胞内的渗透压,并且不会毒害细胞器。甜菜碱脱氢酶基因*BADH*是甜菜碱生物合成过程中的关键酶。Falkenberg等^[11]对从菠菜中克隆得到的*BADH*基因进行功能分析,研究表明在盐碱胁迫下,甜菜碱含量的多少与*BADH*基因的活性有关,并进一步证明了*BADH*基因能提高植物耐盐碱能力。郭北海等^[12]将菠菜的*BADH*基因转入小麦中,在盐碱胁迫下,转基因植物的*BADH*基因活性增加,耐盐碱能力增强。王小丽等^[13]将甜菜碱醛脱氢酶*BADH*基因导入玉米中获得了耐盐碱转基因玉米植株,其耐盐碱能力获得了提高。

2.1.3 糖醇类合成关键酶基因

目前对糖醇类基因1-磷酸-甘露醇脱氢酶*mtlD*和6-磷酸-山梨醇脱氢酶*gutD*两个基因的研究较为清晰。它广泛分布于细菌、酵母和一些高等植物中。糖醇的积累能提高植物对盐碱胁迫的耐受性。Tarczynski等^[14]首次从大肠杆菌中克隆得到了1-磷酸-甘露醇脱氢酶*mtlD*基因,并将该基因转入烟草中,提高了转基因烟草中糖醇的含量,增强了转基因烟草植株的耐盐碱能力。Tao等^[15]从大肠杆菌中克隆得到6-磷酸-山梨醇脱氢酶*gutD*基因,并将该基因转入烟草中,提高了转基因烟草中山梨醇的含量,同时也提高了转基因烟草的耐盐碱能力。Goddijn等^[16]用大肠杆菌海藻糖合成酶基因*OTSBA*转化烟草和马铃薯,提高了转基因植株中积累海藻糖的含量,从而提高了转基因植株耐盐碱能力。

2.2 参与氧化胁迫相关基因

植物在盐碱胁迫下,细胞内会产生活性氧,导致氧化胁迫产生,同时植物体内也存在保护性蛋白合成基因。其中超氧化物歧化酶(SOD)的相关研究最清晰,包括*Mn-SOD*、*Fe-SOD*、*Cu/Zn-SOD*等基因。赵风云等^[17]研究发现水稻中的*Mn-SOD*

基因可响应 ABA、干旱和盐胁迫的诱导。Roxas 等^[18]从烟草中克隆得到谷胱甘肽酶 *GST/GPX* 基因并转化烟草,增强了转基因植株的耐盐碱能力。Badawi 等^[19]研究发现从拟南芥中克隆得到抗坏血酸过氧化物酶 *AtAPX* 基因并转化烟草,增强了转基因植株的耐盐碱能力。Willekens 等^[20]研究发现转基因植株的 CAT 含量增加,同时转基因植株抗氧化胁迫的能力也明显提高,从而增强了转基因植株的耐盐碱能力。Kirch 等^[21]研究发现转 *AtALDH3* 基因植株的耐盐碱能力得到了提高。

2.3 参与离子平衡相关基因

植物在盐碱胁迫下,能够通过液泡膜上的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白使大量的 Na^+ 进入液泡中储存起来,恢复体内的离子平衡。把编码液泡膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的基因整合到不耐盐碱的植物中去,使其过表达,从而提高植物耐盐碱能力。王子宁等^[22]从小麦中克隆了 2 个 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *TaNHX1* 和 *TaNHX2*, Na^+ 区域化在耐盐碱过程中发挥了重要的作用。Shi 等^[23]用编码液泡膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的基因 *SOS1* 转化拟南芥,该基因作用于液泡膜上,能够提高拟南芥耐盐碱的能力。Hang 等^[24]将 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *AtNHX1* 转到番茄中,转基因植株在盐碱胁迫下仍可正常生长。Gaxiola 等^[25]将 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *AVP1* 导入拟南芥中,增强转基因植株的耐盐碱能力。Laurie 等^[26]将 *HKT1* 基因转入小麦,提高了小麦耐盐碱能力。

2.4 参与水分胁迫相关基因

LEA 蛋白普遍存在于成熟的胚胎中,是一种脱水保护剂,具有较高的亲水性、可溶性。LEA 蛋白在干旱、寒冷、ABA、盐渍和渗透等胁迫中均诱导表达,证明 LEA 蛋白在转基因植株中过表达与水缺乏和盐胁迫耐性均相关。*HVA1* 基因属于第三类 LEA 蛋白。Dure 等^[27]首次在棉花种子发育晚期的胚胎中发现大量积累的 LEA 蛋白。Xu 等^[28]将大麦中的 LEA 蛋白相关基因 *HVA1* 转入水稻中,获得的转基因水稻植株中积累了大量的 LEA 蛋白,并提高了转基因水稻对盐碱的耐受性。祝慧敏^[29]从烟草中克隆得到 *NtLEA1* 基因,使 *NtLEA1* 基因在烟草中过表达,从而提高了转基因烟草植株的耐盐碱能力。

2.5 参与胁迫应答相关的转录调控因子

转录因子是一类能够特异性识别真核生物基因上游启动子区域中的顺式作用元件,并与其发生特异性结合的 DNA 结合蛋白。在盐胁迫下产

生的转录因子可以使耐盐碱相关基因过量表达,增强抵抗盐碱胁迫物质的活性,从而提高农作物对盐碱胁迫的耐受性。目前的研究表明,与盐碱胁迫相关的转录因子主要有 AP2/ERF、MYB、bZIP 等。Liu 等^[30]发现拟南芥中的 *DREB2A* 和 *DREB2B* 两个基因在盐碱胁迫下显著上调表达,产生一种含有 DRE 结构域的转录因子。它可以与盐碱胁迫相关基因 *rd29A* 基因上游启动子中的 DRE 顺式作用元件相结合,诱导该基因上调表达。Dai 等^[31]从水稻中克隆到的 R1R2R3-MYB 转录因子基因 *OsMYB3R-2*,在拟南芥中过量表达后,转基因植株对干旱和盐胁迫的耐受性显著提高。Choi 等^[32]通过酵母杂交鉴定拟南芥 *ABFs* 属于 bZIP 基因家族,受 ABA 和盐胁迫诱导。Tian 等^[33]将马铃薯锌指蛋白基因 *StZFP1* 过表达,并转化烟草,增强了转基因植株的耐盐性。

2.6 参与胁迫信号转导的蛋白激酶类

蛋白激酶主要是通过激活不同的磷酸化途径,传递外界信号,调控抗逆基因的转录表达,从而降低或消除危害。Hong 等^[34]研究表明,干旱或高盐胁迫处理和低温处理均能使 *RPK1* 的表达显著增强,因此 RPK1 激酶在干旱、高盐及低温引起的水分胁迫的感受和信号传递中起作用。Urao 等^[35]研究表明拟南芥中蛋白激酶 CDPK 的相关基因 *AtCDPK1* 和 *AtCDPK2* 的表达可以诱导耐盐和干旱胁迫。Charrier 等^[36]研究表明拟南芥蛋白激酶基因 *AtGSK1* 在盐和 ABA 胁迫下上调表达。Stafstrom 等^[37]首次在豌豆中克隆出 MAPK 蛋白激酶,与盐胁迫造成的氧化胁迫应答反应有关。Wang 等^[38]将玉米 *ZmCBL4* 基因转入拟南芥,明显提高了转基因植株的耐盐碱能力。Zou 等^[39]从玉米中克隆了一个蛋白激酶基因 *ZmASK1*,该基因在盐和 ABA 胁迫下调控表达。张洪映等^[40]对小麦蛋白激酶基因 *TaPK7* 进行实时定量 RT-PCR 检测,表明 *TaPK7* 参与对高盐、低温等多种胁迫和 ABA 处理的应答反应。

3 水稻耐盐碱基因的遗传转化及应用前景

应用前景

目前,国内外研究人员已经克隆一批耐盐碱基因,并转入水稻,获得耐盐碱转基因水稻新材料,为进一步培育转基因水稻新品种奠定了很好的基础。

Alagarsamy、Anoop、Su 等^[41-43]将合成脯氨酸的

关键酶基因 *P5CS* 转入水稻中,转基因植株的耐盐性显著提高。Supaporn、林秀峰等^[44-45]将甜菜碱醛脱氢酶(*BADH*)基因导入水稻中,盐碱胁迫的耐受性增强。王慧中等^[46]将1-磷酸甘露醇脱氢酶 *mt1D* 基因和6-磷酸山梨醇脱氢酶 *gutD* 基因导入水稻中,转基因植株耐盐性显著提高。Mark、Garg、Jang 等^[47-49]将海藻糖合成酶基因转化水稻,提高了水稻对于干旱胁迫和盐胁迫的耐受性。Chen 等^[50]将嗜盐古菌 *MnSOD* 基因转化水稻中,提高了水稻盐碱胁迫的耐受能力。Shahanaz 等^[51]将 *AeNCED* 基因转入水稻中,显著提高转基因水稻的耐盐能力。李道恒等^[52]将基因 *OsCYP2* 分别转入烟草和水稻中,过表达能够提高烟草和水稻对盐碱胁迫的耐受性。Li、Fukuda 等^[53-54]分别在水稻中过表达 *AtNHX5*、*OsNHX1* 基因,提高了转基因水稻盐碱胁迫的耐受能力。Ohta、张莹等^[55-56]将 *SOS1* 基因转入水稻中,转基因水稻耐盐碱胁迫能力显著提高。李荣田、于志晶等^[57-58]分别将 K^+/Na^+ 转运蛋白基因 *HAL1* 导入水稻中,提高了转基因水稻对盐碱胁迫的耐受性。Dubouzet、Wang、吴慧敏、Tania 等^[59-62]分别将 AP2/EREBP 转录因子相关基因 *OsDREB1A*、*OsDREB1F*、*OsASIE1*、*OsEREBP2* 转化水稻,在转基因水稻中过表达能提高水稻耐盐碱胁迫的能力。Liu 等^[63]将 bZIP 转录因子相关基因 *OsZIP71* 转化水稻,能显著提高转基因水稻的干旱和盐的耐受性。Hironori 等^[64]将 NAC 家族转录因子 *OsNAC5* 转入水稻中,过表达 *OsNAC5* 转基因水稻能够改善盐胁迫能力。Vannini、李敏等^[65-66]分别将 *OsMYB4*、*AtMYB44* 转入水稻中,能显著提高转基因水稻对于干旱、高盐的耐受性。Zeng 等^[67]将 RING-H2 锌指蛋白相关基因 *OsRHP1* 转入水稻中,过表达 *OsRHP1* 基因提高转基因水稻干旱和盐胁迫的耐受能力。Cheng、Hu 等^[68-69]将 *PMA80*、*PMA1959* 和 *OsLEA3* 基因转入水稻,提高了转基因水稻耐水分亏缺和盐胁迫的能力。

Takayuki 等^[70]将蛋白激酶 CDPK 相关基因 *OsCPK21* 转入水稻中,*OsCPK21* 基因参与调控 ABA 信号通路及盐胁迫的响应。陈天龙等^[71]将 CBL 家族蛋白相关基因 *HsCBL8* 分别导入拟南芥和水稻中,显著提高了转基因植株的耐盐性。刘金燕等^[72]将水稻 HAK 转运体 *OsHAK α* 和 shaker 家族的 *OsK β* 基因转入水稻中,结果表明这两个基因调节水稻耐盐能力。金英浩等^[73]通过将细胞凋亡抑制基因 *Bcl-2*、*Ced-9*、*PpBI-1* 转入水稻中,过表达 *Bcl-2*、*Ced-9*、*PpBI-1* 转基因水稻诱导 PCD(抑制

细胞程序性死亡)的产生而提高耐盐胁迫的能力。近年来,转基因水稻耐盐碱性的研究已经取得了突破性进展,为利用基因工程技术培育耐盐碱水稻新品种奠定了基础。

转基因水稻耐盐碱性研究已开展了近 20 年,在此期间,虽然研究者建立了成熟的遗传转化体系,并且鉴定和克隆了一大批具有耐盐碱功能的基因,为水稻耐盐碱分子育种提供了丰富的资源。但是在通过基因工程技术培育水稻耐盐碱新品种的过程中仍存在一些问題。目前已经克隆了许多水稻耐盐碱相关基因,但仅有少量基因用于遗传转化,且转入的均是单一基因,极少有相关的多个基因;目前利用基因工程提高水稻的耐盐碱特性,外源基因导入水稻效率受水稻基因型的限制,转化效率低是外源基因导入的主要限制因素;目前已获得一些转基因水稻植株,但植株耐盐性尚不稳定,且外源基因的表达水平不稳定,所以极少能用于大田育种。为了丰富水稻耐盐碱种质资源,培育有价值的新品种,需要同时转入多个基因进行调控,将耐盐碱基因整合到优良的水稻中并稳定遗传。同时还需要将基因工程技术和常规杂交育种相结合。在不久的将来,耐盐碱转基因水稻的研究将会取得更大的进展,提高水稻的耐盐碱能力,培育出具有实用价值的转基因水稻新品种。

参考文献:

- [1] 盖钧镒.作物育种学各论[M].北京:中国农业出版社,1998:8-15.
- [2] 霍华香,张玉烛,屠乃美,等.旱作水稻研究现状与展望[J].中国农业科技导报,2008,10(2):34-42.
- [3] 王昌华,张燕之,郑文静,等.北方旱作水稻研究现状及发展前景[J].北方水稻,2007(6):13-18.
- [4] 费槐林,蔡国海.水稻生产现状与技术对策[M].北京:中国农业出版社,1995:30-45.
- [5] 闵绍楷.水稻育种学[M].北京:中国农业出版社,1996:55-76.
- [6] 崔国贤,沈其荣,崔国清,等.水稻旱作及对旱作环境的适应性研究进展[J].作物研究,2001(3):70-76.
- [7] 杨振玉.北方杂交粳稻发展的思考与展望[J].作物学报,1998,24(6):840-846.
- [8] Delauney A J, Verma D P S. A soybean gene encoding AIP yrroline-s-carboxylate reductase was isolated by functional complementation in Ecoli and is found to be osmoregulated[J]. Mol. Gen. Gend., 1990, 221: 299-305.
- [9] 焦蓉,刘贯山,刘好宝,等.普通烟草抗渗透胁迫基因 *NtP5CS* 的克隆与表达分析[J].中国烟草学报,2012(2):49-57.

- [10] 张兆元,陈吉宝,宋佳璘,等.野生大豆*P5CS*基因的克隆及对盐胁迫反应[J].植物遗传资源学报,2014,15(4):844-849.
- [11] Falkenberg P, Storm A R. Purification and characterization of osmoregulatory betaine aldehyde dehydrogenase of *Escherichia coli*[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1990, 1034(3): 253-259.
- [12] 郭北海,张艳敏,李洪杰,等.甜菜碱醛脱氢酶*BADH*基因转化小麦及其表达[J].植物学报,2000,42(3):279-283.
- [13] 王小丽,杜建忠,郝曜山,等.转*BADH*基因玉米植株的获得及其耐盐性分析[J].作物学报,2014,40(11):1973-1979.
- [14] Tarczynski M C, Jensen R G, Bohnet H. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol[J]. *Science*, 1993, 259: 508-511.
- [15] Tao R, Uratsu S L, Dandekar A M, et al. Sorbitol synthesis in transgenic tobacco with apple cDNA encoding NADP dependent sorbitol-6-phosphate dehydrogenase[J]. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36: 525.
- [16] Goddijn O S M, Verwoerd T C, Voogd E, et al. Inhibition of trehalase activity enhance trhalose accumulation in transgenic plants[J].*Plant physiol*, 1997, 113: 181-190.
- [17] 赵风云,郭善利,王增兰,等.耐盐转基因植物研究进展[J].植物生理与分子生物学报,2003,29(3):171-178.
- [18] Roxas V P, Lodhi S A, Garrett D K, et al. Stress tolerance in transgenic tobacco seedlings that overexpress glutathione S-Transferase/Glutathione peroxidase[J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41: 1229-1234.
- [19] Badawi G H, Kawano N, Yamauchi Y, et al. Overexpression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit[J]. *Physiol Plant*, 2004, 121: 231-238.
- [20] Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, et al. Catalase is a sink for H₂O and is indispensable for stress defence in C₃ plants [J]. *EMBO J*, 1997, 16: 4806-4816.
- [21] Kirch H H, Bartels D, Wei Y, et al. The ALDH gene superfamily of Arabidopsis[J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9: 371-377.
- [22] 王子宁,张劲松,郭北海,等.小麦 Na⁺/H⁺反转运蛋白基因的克隆和特性[J].植物学报,2002,44(10):1203-1208.
- [23] Shi H, Lee B H, Wu S J, et al. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in Arabidopsis thaliana[J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 81-85.
- [24] Hang H X, Blumwald E. Transgenic salt tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit[J]. *Nature Biotechnology*, 2001, 19(8): 765-768.
- [25] Gaxiola R A, Li J, Undurraga S, et al. Drought and salt tolerant plants result from overexpression of the AVP H⁺-pump[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2001, 98: 11444-11449.
- [26] Laurie S, Feeney K A, Maathuis F J, et al. A role for *HKT1* in sodium uptake by wheat roots[J]. *Plant J*, 2002, 32: 139-149.
- [27] Dure L III, Greenway S C, Galau G A. Developmental biochemistry of cotton seed embryogenesis and germination. X N. Changing Mrna populations as shown by in vitro and protein synthesis [J]. *Biochem*, 1981,20:4162-4168.
- [28] Xu D, Duan X, Wang B, et al. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, *HVA1*, from barley confers to lernance to water deficit and salt stress in transgenic rice[J]. *Plant Physiology*,1996,110: 249-257.
- [29] 祝慧敏.烟草*NiLEA1*基因的克隆与功能研究[D].重庆:重庆大学,2013.
- [30] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, *DREB1* and *DREB2*, with an DREBP/AP2 DNA -binding domain separate two cellular signal tansduction pathways in drought and low-temperature-responsive gene expression in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 1998, 10:1391 -1406.
- [31] Dai X, Xu Y, Ma Q, et al. Overexpression of an R1R2R3 MYB gene, *OsMYB3R-2*, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic Arabidopsis[J]. *Plant Physiol*, 2007, 143(4): 1739-1751.
- [32] Choi H, Hong J, Ha J, et al. ABFs, a family of ABA-responsive element binding factors[J]. *Biol Chem*, 2000,275(3):1723-1730.
- [33] Tian Z D, Zhang Y, Liu J, et al. Novel potato C2H2 -type zinc-finger protein gene, *StZFPI*, which responds to biotic and abiotic stress, plays a role in salt tolerance[J]. *Plant Biol*, 2010, 12(5): 689-697.
- [34] Hong S W, Jon J H, Kwak J M, et al. Identification of a receptor-like protein kinase rapidly induced by abscisic acid, dehydration, high salt and cold treatments in Arabidopsis thaliana [J]. *Plant Physiol*, 1997, 113(4): 1203-1212.
- [35] Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, et al. Two genes that encode Ca²⁺-dependent protein kinases are induced by drought and high-salt stress in Arabidopsis thaliana[J]. *Mol Gen Genet*, 1994, 244(4):331-340.
- [36] Charrier B, Champion A, Henry Y, et al. Expression profiling of the whole Arabidopsis shaggy-like kinase multigene family by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction[J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(2):577-590.
- [37] Stafstrom J P, Altschuler M, Anderson D H. Molecular cloning and expression of a MAP kinase homologue from pea[J]. *Plant Mol Biol*, 1993, 22: 83-90.
- [38] Wang M, Gu D, Liu T, et al. Over-expression of a putative maize calcineurin B-like protein in Arabidopsis confers salt tolerance[J]. *Plant Mol Biol*, 2007, 65(6): 733-746.
- [39] Zou H W, Wu Z Y, Zhang X H, et al. Cloning and characterization of maize *ZmASK1*, a homologue to shaggy GSK-3-Like gene, involved in plant responses to abiotic stresses[J]. *Acta Agro Sin*, 2008, 34(2):184-191.
- [40] 张洪映,毛新国,景蕊莲,等.小麦*TaPK7*基因的克隆及其在多种胁迫条件下的表达分析[J].麦类作物学报,2008,28(2):177-182.
- [41] Alagarsamy K, Shumugiah K P, Manikandan R. Transgenic indica rice cv. ADT 43 expressing a Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (*P5CS*) gene from *Vigna aconitifolia* demonstrates salt tolerance[J].*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*,2011,107(3): 383-395.
- [42] Anoop N, Gupta A K. Transgenic indica rice cv IR-50 over-expressing *vigna aconitifolia* Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase cDNA shows tolerance to high salt[J]. *J plant Biochem*

- and Biotechnol, 2003, 12 (2): 109–116.
- [43] Su J, Wu R. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis[J]. Plant Sci, 2004, 166: 941–948.
- [44] Supaporn H, Kanyarat S, Masahiro M, et al. Genetic manipulation of Japonica rice using the *OsBADH1* gene from Indica rice to improve salinity tolerance[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 104(1): 79–89.
- [45] 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, 30(5): 33–34, 39.
- [46] 王慧中. 转 *mtlD/gutD* 双价基因水稻的耐盐性[J]. 科学通报, 2000, 45(7): 724–729.
- [47] Mark C F R R, Su H P, Jang W L, et al. Accumulation of trehalose increases soluble sugar contents in rice plants conferring tolerance to drought and salt stress[J]. Plant Biotechnology Reports, 2012, 6 (1): 89–96.
- [48] Garg A K, Kim J K, Owents T G, et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses[J]. PNAS, 2002, 99: 15898–15903.
- [49] Jang I C, Oh S J, Seo J S, et al. 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.
- [50] Z Chen, Y H Pan, L Y An, et al. Heterologous expression of a halophilic archaeon manganese superoxide dismutase enhances salt tolerance in transgenic rice[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2013, 60(3): 359–366.
- [51] Shahanaz S, Veronika T, Chai L H, et al. Molecular cloning of a putative Acanthus ebracteatus-9-cis-epoxycarotenoid deoxygenase(*AeNCED*) and its overexpression in rice[J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2014, 17(4):239–246.
- [52] 李道恒. 抗盐碱基因 *OsCYP2* 转化水稻的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- [53] Meiru L, Xiaojie L, Hongqing L, et al. Overexpression of *AtNHX5* improves tolerance to both salt and water stress in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 107(2): 283–293.
- [54] Fukuda A. 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.
- [55] 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.
- [56] 张莹. 互花米草 *SOS1* 基因和 *HKT1* 基因的克隆及耐盐转基因水稻研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2012.
- [57] 李荣田. *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.
- [58] 于志晶. 酵母 *HAL1* 基因转化水稻及其耐碱性研究[J]. 吉林农业科学, 2014, 39(6): 17–20.
- [59] Dubouzet J G, Sakuma Y, Ito Y, et al. *OsDREB* gene in rice, *Oryza sativa* L, encode transcription activators that function in drought high-salt and coldresponsive expression[J]. Plant J, 2003, 33: 751–763.
- [60] Qiuyun W, Yucheng G, Yaorong W, et al. Overexpression of a rice *OsDREB1F* gene increases salt, drought, and low temperature tolerance in both Arabidopsis and rice[J]. Plant Molecular Biology, 2008, 67(6): 589–602.
- [61] 吴慧敏. 水稻 AP2/EREBP 转录因子基因 *OsASIE1* 抗逆功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [62] Tania S S, Duarte D, Figueiredo, et al. *OsRMC*, a negative regulator of salt stress response in rice, is regulated by two AP2/ERF transcription factors[J]. Plant Molecular Biology, 2013, 82 (4):439–455.
- [63] Citao L, Bigang M, Shujun O, et al. *OsZIP71*, a bZIP transcription factor, confers salinity and drought tolerance in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2014, 84(1): 19–36.
- [64] Hironori T, Kyonoshin M, Satoshi K, et al. The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor *OsNAC5* regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2010, 284(3): 173–183.
- [65] Vannini C, Locatelli F, Bracale M, et al. Over expression of the rice *Osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of Arabidopsis thaliana plants[J]. Plant J, 2004, 37(1): 115–127.
- [66] 李敏. 拟南芥 *AtMYB44* 和 *LWT1* 基因在水稻中的遗传转化及功能验证[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- [67] Deer Z, Pei H, Fangming X, et al. Overexpressing a novel RING-H2 finger protein gene, *OsRHPI*, enhances drought and salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Plant Biology, 2014, 57(6): 357–365.
- [68] 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.
- [69] T Zh Hu. *OsLEA3*, a late embryogenesis abundant protein gene from rice, confers tolerance to water deficit and salt stress to transgenic rice[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2008, 55 (4): 530–537.
- [70] Takayuki A, Makoto H, Hidemitsu N, et al. Functional characterisation of *OsCPK21*, a calcium-dependent protein kinase that confers salt tolerance in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2011, 75(1): 179–191.
- [71] 陈天龙. 青藏高原野生大麦 *HsCBL8* 基因在水稻中的表达及其耐盐性分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [72] 刘金燕. 钾转运相关基因 *OsHAK α* 和 *OsK β* 与水稻耐盐性的关系研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [73] 金英浩. 转 *Bcl-2*、*Ced-9*、*PpBI-1* 基因水稻抗盐性及其抗性机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.

(责任编辑: 范杰英)