

耐盐转基因植物研究进展

刘晓蕊^{1,2}, 尚丽霞², 蔡勤安², 于志晶^{2*}, 马瑞^{2*}

(1. 吉林师范大学生命科学学院, 吉林 四平 136000; 2. 吉林省农业科学院农业生物技术研究所/吉林省农业生物技术重点实验室, 长春 130033)

摘要: 随着人口数量不断增加, 可利用耕地面积逐年减少, 土壤盐渍化日趋严重, 作物种植范围不断缩小, 土壤盐碱化已成为影响农作物产量提升的一个主要限制因素。本文综述了植物耐盐机理研究、耐盐相关基因克隆及其在基因工程中的应用等方面的最新研究进展, 并对耐盐转基因植物应用前景进行了展望, 为耐盐转基因植物育种提供参考依据。

关键词: 植物; 耐盐; 基因工程; 研究进展

中图分类号: Q943.2; S184

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)04-0027-07

Research Progress of Salt Tolerant Transgenic Plants

LIU Xiaorui^{1,2}, SHANG Lixia², CAI Qin'an², YU Zhijing^{2*}, MA Rui^{2*}

(1. School of Life Science, Jilin Normal University, Siping 136000; 2. Institute of Agricultural Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences / Jilin Provincial Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Changchun 130033, China)

Abstract: With the continuous increase of population, the available arable land area is decreasing year by year, soil salinization is becoming more and more serious, the range of crop planting is shrinking, and soil salinization has become a major limiting factor affecting the increase of crop yield. In this paper, the latest advances in the research on the mechanism of plant salt tolerance, the cloning of salt-related genes and their applications in genetic engineering were reviewed, and the application prospect of salt tolerant transgenic plants was also prospected in order to provide reference for the breeding of salt tolerance transgenic plants.

Key words: Plant; Salt tolerant; Genetic engineering; Research progress

盐胁迫作为影响植物生长的主要非生物胁迫因素之一, 会严重影响植株的生长发育, 降低农作物的产量^[1]。我国人口数量多, 人均可利用耕地面积相对较少, 其中盐碱地面积约 0.4 亿 hm^2 ^[2]。近年来, 由于全球气候变化和人类活动等原因, 盐碱地面积呈现不断增加的趋势, 土壤盐渍化问题更加严重, 从而进一步促使农作物种植范围不断缩小, 产量下降, 直接影响国家粮食安全及农民收入。因此提高植物的耐盐性, 培育抗盐碱的植物新品种是利用盐碱地的一种有效措施。在长

期进化过程中, 植物为了适应环境, 通过改变自身生理结构和调控自身生化反应增强对外界逆境的适应能力^[3]。现代生物技术的迅速发展为定向改进植物优良性状提供了可靠的技术支持。转基因技术通过将外源基因导入到植物中获得稳定遗传的转基因植株, 打破了物种间的界限, 使植物育种进程突飞猛进^[4]。目前, 科研人员已经从天然耐盐的植物和微生物中克隆出一批耐盐相关基因^[5], 利用基因工程手段把耐盐相关基因转入植株中获得了一些耐盐转基因植物。通过研究这些耐盐基因如何提高植物的耐盐性及在植物生长过程中的表达产物从而进一步阐明植物的耐盐机理^[6]。

1 植物耐盐机制

1.1 渗透调节

盐会使植物细胞失水, 诱发渗透胁迫。植物通过渗透调节物质的积累和转运来调节细胞内外渗透压, 保证细胞内外渗透平衡, 避免细胞受到

收稿日期: 2019-12-05

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08004002-009)

作者简介: 刘晓蕊(1993-), 女, 在读硕士, 主要从事植物生物技术研究。

通讯作者: 于志晶, 女, 硕士, 副研究员, E-mail: yuzhijing0001@163.com

马瑞, 男, 博士, 研究员, E-mail: ruimaa@126.com

胁迫损伤^[7]。这些调节物质包括脯氨酸、甜菜碱、糖醇等可溶性有机物质^[8-11]；其中，脯氨酸是最常见的用以衡量抗旱指标的物质之一，且适用于大部分植物^[12]；甜菜碱为无毒的植物体内渗透调节物质，与植物的抗逆性关系密切，在渗透胁迫下，植物体内部的甜菜碱醛脱氢酶(BADH)以及胆碱单氧化酶(CMO)的活性均会显著升高，在高等植物中，这两种酶的作用会使胆碱氧化为甜菜碱^[13]；糖醇的种类很多，在植物中积累会具有协同或累加效应，可更好地提高植物抗旱、耐盐等抗性^[14]。这些调节物质在正常条件下含量较少，一旦植物遭受盐胁迫，渗透物质的合成过程被激活导致其含量增多，从而维持细胞的渗透平衡，这是植物抗逆的重要调控方式之一。

1.2 离子调节

土壤中盐分若不断累积，则会形成以某种或某些离子为主成分的环境，从而对植物产生离子毒害作用，当毒害作用发生时，植物抵御离子胁迫的方式有两种：一种是避盐，一种是耐盐，植物通过这两种抵御方式能够在逆境下将过多毒害离子泵出细胞，从而维持植物细胞离子平衡。参与渗透调节的无机离子主要有 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- ^[15]。植物在遭受盐胁迫时，通过 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白将 Na^+ 转运到液泡中，降低细胞质的 Na^+ 浓度，从而避免细胞由于渗透压高引起失水影响其正常生理功能。很多盐生植物的液泡能将进入细胞的无机离子吸收储存^[16]，避免细胞质受到无机离子的伤害。

1.3 活性氧的清除

植物在盐胁迫下会产生大量活性氧，活性氧可以使细胞发生氧化，此时会产生某些毒性物质，如丙二醛(MDA)^[17]，这些毒性物质致使细胞器发生损伤，破坏植株的生物功能。植物为了抵御活性氧对细胞的破坏，形成了较为完善的抗盐分氧化防御系统。该系统由清除活性氧的酶系和抗氧化物质两部分组成。抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等，抗氧化物质有抗坏血酸、类黄酮、谷胱甘肽(GSH)、胡萝卜素等^[18]。它们共同作用清除活性氧，抵御盐胁迫对细胞的损伤，提高植物的耐盐性。

2 耐盐基因

2.1 植物离子通道蛋白基因

包括NHX(Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因)、CAX($\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 反向转运蛋白基因)、HKT(Na^+/K^+ 转运蛋白基因)等。

植物体内NHX转运蛋白定位在液泡膜或质膜上。在盐胁迫条件下，大多数植物NHX基因会大量表达，主要包括 Na^+/H^+ 、 K^+/H^+ 逆向转运蛋白^[19]。 Na^+/H^+ 、 K^+/H^+ 逆向转运蛋白参与植物细胞内 Na^+/H^+ 、 K^+/H^+ 的转运，进而调节细胞内pH值。转运离子所需的能量由液泡膜上的质子泵提供^[20]。 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在外界环境中 Na^+ 浓度上升时，高效将细胞质和液泡中的 Na^+ 移除到细胞外，降低植物细胞 Na^+ 浓度^[21]，避免植物在盐胁迫下失水过多影响其正常生长发育。植物 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白首先在大麦中被发现^[22]。在盐生植物中，有些以 Na^+ 作为主要渗透调节剂^[23]，有的则以 K^+ 作为渗透调节剂^[24]。组织中 Na^+ 、 K^+ 比例对植物抗盐具有重要影响。*ZmNCl*编码一个 Na^+ 选择性的离子转运蛋白ZmHKT1，它通过减少木质部导管中 Na^+ 浓度来抑制 Na^+ 由根往地上部的运输，从而促进玉米抗盐。玉米抗盐QTL基因*ZmNCl/ZmHKT1*的克隆和功能解析为玉米抗盐性改良提供了理论支撑和筛选靶点^[25]。植物中NHX蛋白可以减少 Na^+ 进入胞质中，避免植物细胞在盐胁迫下受到离子毒害^[1]。近年来，一些参与大豆 Na^+/K^+ 转运的基因被陆续发现，包括*GmNHX1*^[26]、*GmNHX2*^[27]、*GmNHX3*^[28]、*GmHKT1;4*^[29]、*GmHKT6;2*^[30]、*GmCAX1*^[31]、*GmCHX1*^[32]、*GmSALT3*^[33]等，这些基因在提高大豆耐盐性中起着重要作用^[34]。

CAXs家族在细胞受到盐胁迫时，会将细胞内的 Ca^{2+} 转运到细胞外，降低细胞内 Ca^{2+} 浓度。钙离子通道通过多种途径参与非生物胁迫^[35]，转运蛋白CAX1位于液泡膜，通过细胞内外 H^+ 浓度差利用ATP把 Ca^{2+} 泵入到液泡膜，从而降低细胞质中 Ca^{2+} 浓度。研究表明，CAX1对于调节植物细胞内外 Ca^{2+} 浓度，响应盐胁迫有重要作用^[36]。

在盐胁迫条件下， K^+ 在植物液泡中会大量积累。 K^+/H^+ 逆向转运蛋白会调节植物液泡和胞质间的 K^+ 浓度，维持细胞内的离子平衡，调节胞内pH值^[37]。HKT家族中最早发现的是小麦中的TaHKT2;1，在高盐胁迫下，TaHKT2;1单向转运 Na^+ ^[38]。

2.2 植物信号转导基因

包括蛋白激酶类基因*OsCDPK7*^[39]、*OsMAPK4*^[40]、*AtGSKI*^[41]、*NPKI*^[42]、*STRKI*^[43]、*SRK2C*^[44]、*IPK*^[45]以及其他参与信号感应和转导的基因*CBLI*^[46]、*GF14*^[47]、*ERA1*^[48]、*SOS*^[49]等。

在磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)信号通路的研究中，潘晓雪等^[50]以水稻为研究对象，将盐

芥中 *TsIPK2* 基因导入到水稻中。在盐胁迫下,转基因水稻的发芽率、MDA 和脯氨酸含量, SOD、过氧化物酶(POD)和 CAT 活性均显著高于野生型水稻。说明 *TsIPK2* 基因增强了水稻的渗透调节能力,从而提高了水稻的耐盐性。

在盐超敏感(salt overly sensitive, SOS)信号途径的研究中,Zhu 等^[51]以拟南芥为研究对象,通过遗传突变的分析手段,获得 5 组 SOS 突变体,获得了 5 个耐盐基因(*SOS1*、*SOS2*、*SOS3*、*SOS4* 和 *SOS5*)。 *SOS1* 基因指导 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的合成,与植物耐盐性的提高有直接关系^[52]。 *SOS2* 与 *SOS3* 相互调节起作用, *SOS2* 编码植物 Ca^{2+} 信号感受蛋白, *SOS2* 基因在 *SOS3* 基因的下游起作用。 *SOS3* 基因编码的 EF 手型 Ca^{2+} 感受器是 Ca^{2+} 的类似物,可与 *SOS2* 蛋白结合,使 *SOS2* 活性增强。 *SOS4* 基因是一种新型植物耐盐基因, *SOS4* 突变体对盐的超敏性是由于控制吡哆醛激酶的基因突变所致,表明 *SOS4* 可催化吡哆醛-5-磷酸的生物合成^[53]。 *SOS4* 也可调节 *SOS1* 的活性^[54]。 *SOS5* 主要通过促进细胞壁的发育来提高植物的耐盐性^[55]。在拟南芥中分别转入 *SOS1*、*SOS3*,过表达 *SOS1* 和 *SOS3* 在增加植物耐盐性方面作用相似^[56]。

植物体内的受体激酶(RLKs)在非生物胁迫应答过程中发挥重要作用。 Umezawa 等^[44]筛选出一个可提高水稻耐盐性的基因 *STRK1*。其转基因株系在正常条件下与野生水稻无明显差别,但在高盐渗透条件下,却能明显提高水稻耐盐性。进一步探究了该基因提高水稻耐盐性的分子机制, CatC 在 Tyr-210 上磷酸化,被 *STRK1* 激活。与野生型植株相比,过表达 *STRK1* 的植株过氧化氢酶活性较高, H_2O_2 的积累较低,过氧化氢酶活性显著提高,从而将过量有害的物质分解,降低高盐渗透造成的伤害。

2.3 植物渗透物质合成基因

渗透调节是植物用来抵御盐胁迫的方式之一。通过操纵植物中相关渗透调节物质如氨基酸、糖醇、甜菜碱、黄酮类化合物、多胺类等,植物通过积累渗透调节物质来维持细胞内物质浓度平衡保证其正常的生理功能。参与脯氨酸、甜菜碱、糖醇、黄酮类化合物等渗透保护物质合成代谢相关基因有 *P5CS*^[57]、*P5CR*^[58]、*mtlD/gutD*^[59]、*CMO/BADH*^[60]、*SacB*^[61]、*TPSI*^[62]、*SPDS*^[63]、*CHS*^[64]、*otsBA*^[65]等。

2.3.1 脯氨酸合成基因

脯氨酸是植物中重要调节物质之一,植物在受到盐胁迫时会大量积累,进而调节植物渗透

压。在细胞中合成脯氨酸的途径有两种,鸟氨酸途径和谷氨酸途径^[66]。脯氨酸合成涉及两个重要的酶:吡咯啉-5-羧酸合成酶(*P5CS*)^[57]和吡咯啉-5-羧酸还原酶(*P5CR*)^[58]。在盐胁迫下 *P5CR* 转录水平会升高 5 倍^[67]。 Kishor 等^[68]将 *P5CS* 基因导入烟草,发现转基因植株脯氨酸含量明显提高,在盐胁迫下生长状况优于对照组^[69]。

2.3.2 糖醇合成基因

糖醇作为相容性溶质在植物处于盐胁迫下发挥重要作用^[70]。糖醇主要包括山梨醇、甘露醇、麦芽糖醇和木糖醇等。1-磷酸甘露醇脱氢酶是甘露醇代谢的关键酶^[71],王慧中等^[59]将 1-磷酸甘露醇脱氢酶(*mtlD*)基因,6-磷酸山梨醇脱氢酶(*gutD*)基因整合到水稻基因组中,转基因水稻中甘露醇和山梨醇的含量明显高于对照组,水稻的耐盐性明显提高。

2.3.3 甜菜碱合成基因

甜菜碱是植物响应盐胁迫的一种季胺类渗透物质。它能调节细胞内外渗透压,在植物渗透调节过程中起重要作用^[72]。

甜菜碱是乙酰胆碱经 *CMO* 和 *BADH* 催化形成。在盐胁迫下, *CMO* 与 *BADH* 的活性与甜菜碱含量呈正相关^[73]。将胆碱氧化酶基因 *codA* 转入水稻中,发现水稻中甜菜碱含量增多,对盐的耐受性增强。将 *BADH* 转入胡萝卜^[74]中,转基因胡萝卜对盐的耐受性显著提高。

将甜菜碱合成相关基因 *BvM14-CMO* 和 *BvM14-BADH* 导入甜菜 M14 品系中,在盐胁迫下,两者的表达量均显著上调^[60]。

2.3.4 黄酮类化合物合成基因

在盐碱、干旱等胁迫下,黄酮类化合物会大量积累。查耳酮合成酶(*CHS*)是黄酮类化合物生物合成途径中的关键酶, *CHS* 基因过量表达会增加类黄酮含量,从而增强植物抗逆性^[64]。参与黄酮类代谢合成有关基因有 *CHS1* 和 *CHS2*^[75]、*CHS3*^[64]、*CHI*^[76]、*F3'H*^[77]、*DFRI*^[78]、*ANS*^[79]等。

2.4 植物转录调控基因

植物在受到逆境胁迫条件下,会启动某些相关基因表达从而增强对逆境的抵御能力。转录因子通过与下游基因启动子上顺式作用元件互作,调控目标基因的表达,引起一系列的应答反应,从而增强植物的抗逆能力^[80]。这类基因包括 AP2/ERF 类转录因子家族基因 *DREB1A/CBF3*^[81]、*DREB1B/CBF1*^[82]、*WXPI*^[83]、*DREB2A*^[84]等。 bZIP 类转录因子家族基因 *ABF2*^[85]、*ABF3/ABF4*^[86]、

AREB1^[87]、*ABP9*^[88]等。MYB/MYC类转录因子家族基因 *MYC2*^[89]、*MYB2*^[90]、*MYB60*^[91]等。锌指蛋白家族基因如 *ZPT2-3*^[92]、*CAZFPI*^[93]等。此外,还有 NAC、WRKY、PHD、ANT、ABRE类转录因子基因家族等。MYB/MYC类转录因子家族基因广泛参与植物的各种应答反应^[94],是植物转录因子中最大的家族。将大豆基因 *GmMYBJ1* 转入拟南芥中,转基因拟南芥的抗旱性和耐盐性均高于对照组^[95]。从水稻中克隆出转录因子基因 *SNAC1*,在盐胁迫下,转基因植物的耐盐性有所提高。张进艳等^[96]研究发现,玉米中 *NAC* 基因的表达量会受到水分胁迫的影响,说明 *NAC* 转录因子参与玉米对干旱胁迫的响应过程。*WRKY* 转录因子在受到盐胁迫时,会启动抗逆相关基因的表达,在 ABA 信号网络中发挥作用,增强植物抗性^[97]。研究表明 *WRKY2*、*WRKY19*、*WRKY25*、*WRKY33* 等基因的表达调控可以提高植物的抗逆性。植物中 *PHD* 家族基因中有部分基因响应盐胁迫,在高盐胁迫下,大豆中 95 个 *PHD* 基因中有 27 个基因响应盐胁迫,其中 *GmPHD14* 基因明显上调,其余 *PHD* 家族基因在 1 h 上调,在 6 h 和 12 h 盐处理后下调^[98]。*DREB* 可以与高盐逆境基因 *rd294* 启动子中的 *DRE* 顺式作用元件 (TACCGACAT) 结合^[99],诱导逆境基因的表达,一个转录因子可以控制多种与抗逆有关的蛋白质合成来提高植物的抗逆性^[100]。*bZIP* 是普遍存在于动植物中的一类转录因子。*bZIP* 类转录因子包括 *ABP9* 过表达可提高拟南芥、水稻、玉米等多种植物的耐盐性^[88],王策等^[101]发现玉米中 *bZIP* 转录因子编码基因 *ZmbZIP81* 的过表达可增强玉米对盐胁迫的耐受性。

3 抗盐基因的应用

我国目前约有盐碱地 15 亿亩,分布在西北、东北、华北及滨海地区在内的多个省区,我国 1/5 水稻种植区受到土壤盐碱化侵害^[102]。我国沿海滩涂资源总面积约 217 万 hm^2 ,其中江苏沿海滩涂总面积就达 68.7 万 hm^2 ,占全国 1/4 以上,是我国东部地区最具潜力、最有价值的土地后备资源,其中绝大部分仍未脱盐甚至还不断遭受盐渍危害^[103]。土壤盐碱化也是导致粮食危机的重要原因之一。培育耐盐碱性强的植物品种,改善盐碱地作物养分管理,均能提高植物耐盐性^[104]。但是利用基因工程手段培育耐盐碱作物是解决盐碱化危害及缓解粮食危机最直接有效的策略。

Punyawaew 等采用分子标记辅助回交法,将水

稻耐盐基因 *Saltol* 导入 KDM1105 品种中,获得 50 多个抗盐水稻新品系,并已在泰国北部高盐地区对携带 *Saltol* 基因的杂交系 BC2F7 进行耐盐性试验^[105]。水稻上已经克隆了很多抗盐的基因并且已经经过转基因验证^[106]。2011 年地震和海啸导致日本大面积的稻田被海水淹没而造成盐污染,但日本当地缺少耐高浓度盐的水稻品种,急需培育耐盐性的水稻新品种。科学家对日本地方水稻品种 Hitomebore 进行 EMS 诱变,从 6 000 株突变体中筛选得到耐盐性的突变体 *hst1*。利用全基因组重测序,结合 BSA 分析方法,找到控制水稻耐盐性的抗性基因 *OsRR22*,利用基因工程把 *OsRR22* 突变就能够快速得到抗盐的水稻新品种^[107]。以中国杂交水稻之父袁隆平为首的科研团队通过杂交等遗传工程研发出了“海水稻”,它是耐盐碱水稻的俗称,目前虽然还不能种植在海水里,却能在盐碱地和滩涂生长。“海水稻”项目如果实现大面积推广种植,能够帮助农户彻底脱贫,也能大大缓解我国的粮食问题。

4 展 望

近年来,随着分子生物学及遗传学的迅速发展,已从不同物种中克隆了上百个与植物耐盐相关的基因。已有研究表明,通过这些基因在植物中过量表达(或抑制表达/基因敲除)可以在一定程度上提高植物的耐盐性。随着功能基因组学及基因组大数据时代的快速推进,更多的与植物抗逆性相关的基因也会被陆续克隆和鉴定。如何更加有效应用这些基因,并将其应用到农作物耐逆转基因研究中,是耐盐转基因研究中的重点内容。植物的耐盐性是一个复杂的数量性状,并非由单个抗性基因决定,而是由多种微效抗性基因共同调节。随着生物技术手段的不断创新,对植物耐盐机制的研究会更加深入,更加透彻。

参考文献:

- [1] 马永平,赵海燕,杨少娟,等.植物耐盐转基因研究进展[J].江苏农业科学,2012,40(7):42-44.
- [2] 赵可夫,李法曾.中国盐生植物[M].北京:科学出版社,1999:36-37.
- [3] 胡兴旺,金杭霞,朱丹华.植物抗旱耐盐机理的研究进展[J].中国农学通报,2015,31(24):137-142.
- [4] 江香梅,黄敏仁,王明麻.植物抗盐碱、耐干旱基因工程研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2001(5):57-62.
- [5] 曲发斌,于明礼,张柱岐,等.盐生植物根际耐盐碱微生物的筛选及其降解特性[J].贵州农业科学,2015(3):121-124.

- [6] 姜奇彦,李丽丽,牛凤娟,等.过表达 *TaLEA1* 和 *TaLEA2* 基因提高转基因拟南芥的耐盐性[J].植物遗传资源学报,2017(3):509-519.
- [7] Nishiyama Y, Yamamoto H, Inaba M, et al. Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery[J].Embo Journal, 2001(20):5587-5594.
- [8] Zsigmond L, Szepesi A, Tari I, et al. Overexpression of the mitochondrial PPR40 gene improves salt tolerance in Arabidopsis[J]. Plant Science, 2012, 182: 87-93.
- [9] Missihoun T D, Schmitz J, Kluz R, et al. Betaine aldehyde dehydrogenase genes from Arabidopsis with different sub-cellular localization affect stress responses[J].Planta, 2011, 233(2): 369-382.
- [10] Ishitani M, Majumder A L, Bornhouser A, et al. Coordinate transcriptional induction of myo -inositol metabolism during environmental stress[J]. The Plant Journal, 1996, 9(4): 537-548.
- [11] Askari H, Edqvist J, Hajheidari M, et al. Effects of salinity levels on proteome of Suaedaegyptiacaleaves[J]. Proteomics, 2006, 6(8): 2542-2554.
- [12] 郭华军.水分胁迫过程中的渗透调节物质及其研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(15):7750-7753.
- [13] 高天鹏,王春燕,徐红伟,等.盐生植物盐芥木甜菜碱醛脱氢酶基因的克隆及表达[J].植物研究,2013,33(3):317-324.
- [14] 詹振楠,纪 婷.探析植物对盐碱胁迫的响应机制[J].种子科技,2019,37(2):113.
- [15] 许祥明,叶和春,李国风.植物抗盐机理的研究进展[J].应用与环境生物学报,2000(4):379-387.
- [16] 徐 壮,王婉瑕,徐 磊,等.水稻磷素吸收与转运分子机制研究进展[J].植物营养与肥料学报,2018,24(5):252-259.
- [17] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. Annu Rev Plant Biol, 2004 (55):373-399.
- [18] Singh N, Bhatla S C, Nitric oxide and iron modulate hemeoxygenase activity as a long distance signaling response to salt stress in sunflower seedling cotyledons[J]. Nitric Oxide, 2016 (53): 54-64.
- [19] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. J. Mol. Evol., 1980(16): 111-120.
- [20] Chun J, Lee J H, Jung Y, et al. EzTaxon: a web-based tool for the identification of pmkaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences[J]. Int. J Syst. Evol. Microbiol., 2007(57): 2259-2261.
- [21] 刘殿昆. NaHCO₃胁迫下怪柳(*T. hispida*)根部差异表达蛋白质的研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2016.
- [22] 王振雄,徐 毅,周培瑾.嗜盐碱古生菌新种的系统分类学研究[J].微生物学报,2000,40(2):115-120.
- [23] 刘建新,欧晓彬,王金成.外源HO对盐碱混合胁迫下裸燕麦幼苗生长和抗性生理的影响[J].植物研究,2019,39(2):181-191.
- [24] Mansour M M F, Salama K H A. Cellular basis of salinity tolerance in plants[J]. Environ Exp. Bot., 2004, 52(2):113-122.
- [25] Jiang Zhilei, Song Guangshu, Shan Xiaohui, et al. Association Analysis and Identification of ZmHKT1;5 Variation With Salt-Stress Tolerance[J]. Frontiers in plant science, 2018(9): 1485.
- [26] 王敏娟,侯文胜,王庆钰,等.过表达 *GmNHX1* 基因提高大豆根系的耐盐性[J].大豆科学,2011,30(6):889-894.
- [27] 周国安,关荣霞,李英慧,等.异源表达一个大豆 Na⁺/H⁺逆向转运蛋白基因 *GmNHX2* 提高拟南芥的耐盐性[J].科学通报,2009,54(17):2508-2516.
- [28] 张继星,王晓宇,陈永胜,等.大豆 *GmNHX3* 基因克隆及遗传转化载体的构建[J].吉林大学学报(理学版),2012,50(2):365-370.
- [29] Chen H, Chen X, Gu H P, et al. GmHKT1; 4, a novel soybean gene regulating Na⁺/K⁺ ratio in roots enhances salt tolerance in transgenic plants[J]. Plant Growth Regulation,2014, 73(3): 299-308.
- [30] 陈华涛,陈 新,顾和平,等.大豆 *GmHKT6; 2* 基因的克隆与表达特性分析[J].华北农学报,2012,27(3):1-5.
- [31] Luo G Z, Wang H W, Huang J, et al. A putative plasma membrane cation/proton antiporter from soybean confers salt tolerance in Arabidopsis[J]. Plant Molecular Biology, 2005, 59(5): 809-820.
- [32] Qi X P, Li M W, Xie M, et al. Identification of a novel salt tolerance gene in wild soybean by whole genome sequencing[J]. Nature Communications, 2014(5): 43-49.
- [33] Guan R X, Qu Y, Guo Y, et al. Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in GmSALT3[J]. The Plant Journal, 2014, 80(6): 937-950.
- [34] 田艺心,高凤菊,曹鹏鹏,等.大豆耐盐基因研究进展[J].大豆科学,2018,37(4):629-636.
- [35] Jayakumar B, Pottosin I I, Shabala S, et al. Calcium Efflux Systems in Steess Signaling and Adaptation in Plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2011, 2(12): 85.
- [36] Catala R, Santos E, Alonso J M. Mutations in the Ca²⁺/H⁺ transporter CAX1 increase CBF/DREB1 expression and the cold-acclimation response in Arabidopsis. [J]. Plant Cell, 2003, 15(12): 2940.
- [37] Jiangx Y, Leidi E O, Pardo J M. How do vacuolar NHX exchangers function in plant salt tolerance[J]. Plant Signaling and Behavior, 2010, 5(7): 792-795.
- [38] 王甜甜,郝怀庆,冯 雪,等.植物HKT蛋白耐盐机制研究进展[J].植物学报,2018,53(5):710-725.
- [39] 王 镭,才 华,柏 锡,等.转 *OsCDPK7* 基因水稻的培育与耐盐性分析[J].遗传,2008(8):1051-1055.
- [40] 柏 锡,朱延明,李丽文,等.转 *OsMAPK4* 基因水稻耐盐性分析[J].东北农业大学学报,2009,40(8):53-57.
- [41] Piao H L, Lim J H, Kim S J, et al. Constitutive over-expression of AtGSK1 induces NaCl stress responses in the absence of NaCl stress and results in enhanced NaCl tolerance in Arabidopsis [J]. The Plant Journal, 2001, 27(4): 305-314.
- [42] Shou Huixia, Bordallo Patricia, Wang Kan. Expression of the Nicotiana protein kinase(NPK1) enhanced drought tolerance in transgenic maize[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55

- (399): 1013–1019.
- [43] Niu S Q, Li H R, Pare, et al. Induced growth promotion and higher salt tolerance in the halophyte grass *Puccinelliatenuiflora* by beneficial rhizobacteria[J]. *Plant and Soil*, 2016, 407(1–2): 217–230.
- [44] Umezawa Taishi, Yoshida Riichiro, Maruyama Kyonoshin, et al. SRK2C, a SNF1-related protein kinase 2, improves drought tolerance by controlling stress-responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana*. [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(49): 17306–17311.
- [45] 占华东. 植物多磷酸肌醇激酶基因 (*IPK2*) 的功能研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2015.
- [46] Cheong Yong Hwa, Kim Kyung Nam, Pandey Girdhar K, et al. CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(8): 1833–1845.
- [47] 宁坤, 宋鑫, 李慧玉. 柾柳 *GF14* 基因的克隆与表达分析(英文)[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2016, 40(2): 33–40.
- [48] 史金凤, 刘志学, 祝建, 等. siRNA 介导的 *ERA1* 表达下调对拟南芥抗旱性的影响[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(11): 2157–2163.
- [49] 周晓霞, 王兴智. 植物耐盐相关基因: SOS 基因家族研究进展[J]. *遗传*, 2002(2): 190–192.
- [50] 潘晓雪, 胡明瑜, 蒋晓英, 等. 过量表达盐芥 *TsIPK2* 基因增强转基因水稻耐盐性[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019(5): 741–747.
- [51] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol.*, 2002, 53(2): 247–273.
- [52] 吴剑, 宋宝安, 胡德禹, 等. 植物耐盐性的信号转导途径及相关基因研究进展[J]. *山地农业生物学报*, 2011, 30(5): 443–447.
- [53] Shi H, Zhu J K. *SOS4*, a pyridoxal kinase gene, is required for root hair development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2002, 129(2): 585–593.
- [54] Tester M, Davenport R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants[J]. *Annu Bot*, 2003, 91(3): 503–527.
- [55] Shi H, Kin Y S, Guo Y. The *Arabidopsis* *SOS5* locus encodes a putative cell surface adhesion protein and is required for normal cell expansion[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(1): 19–32.
- [56] Yang Q, Chen Z Z, Zhou X F, et al. Overexpression of *SOS*(salt overly sensitive) genes increases salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(1): 22–31.
- [57] Kobra Maghsoudi, Yahya Emam, Ali Niazi, et al. P5CS expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2018, 13(1): 461–471.
- [58] 高银. 植物抗逆机制与基因工程研究进展[J]. *内蒙古农业科技*, 2007(5): 75–78.
- [59] 王慧中, 黄大年, 鲁瑞芳, 等. 转 *m1D/gu1D* 双价基因水稻的耐盐性[J]. *科学通报*, 2000, 45(7): 724–728.
- [60] 吕笑言, 王宇光, 金英. 甜菜 *BvM14-CMO*、*BvM14-BADH* 基因的克隆、盐胁迫表达及生物信息学分析[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2018, 35(1): 83–88.
- [61] 李义良, 苏晓华, 张冰玉, 等. 外源 *SacB* 基因在银腺杂种杨基因组中的表达及抗旱性分析[J]. *北京林业大学学报*, 2007(2): 1–6.
- [62] 项阳, 刘延波, 赵德刚, 等. 转 *TPS1* 基因促进干旱胁迫条件下的花青素积累提高玉米植株抗旱性[J]. *植物生理学报*, 2015, 51(11): 2054–2062.
- [63] 杨金辉, 贺利雄, 蒋万, 等. 低温胁迫下转 *SPDS* 基因马铃薯植株生理指标的变化(英文)[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2015, 16(9): 1857–1859.
- [64] 姜晶, 李晓媛, 王楚, 等. 白桦 *BpCHS3* 转基因植株耐盐性分析[J]. *北京林业大学学报*, 2019, 41(4): 1–7.
- [65] Miller E N, Ingram L O. Sucrose and overexpression of trehalose biosynthetic genes(*otsBA*) increase desiccation tolerance of recombinant *Escherichia coli*. [J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(3): 503.
- [66] Honghong H, Mingqiu D, Jialing Y, et al. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(35): 12987–12992.
- [67] Erbruggen N, Villarroel R, Montagn M V. Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(3): 771–781.
- [68] Kishor P B K, K Hong Z, Miao G H, et al. Overexpression of P5CS increase praline production and confers osmotolerance in transgenic plants[J]. *Plant Physiol*, 1995, 108(4): 1367–1394.
- [69] Yamchi A, Jazii F R, Ghobadi C, et al. Increasing of Tolerance to Osmotic Stresses in Tobacco *Nicotianatabacum* cv. Xanthi through Overexpression of *p5cs* Gene[J]. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 2005, 8(4): 31–40.
- [70] 陈煜, 杨燕凌, 谢小芳, 等. 水稻耐盐相关基因的克隆及转化研究进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(11): 23–27.
- [71] 宗自卫, 杨旭. 转 *BADH* 基因和 *m1D* 基因花生幼苗抗盐性研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(22): 13288–13289.
- [72] Huang J, Hirji R, Adam L, et al. Genetic engineering of glycinebetaine production toward enhancing stress tolerance in plants: metabolic limitation[J]. *Plant Physiol*, 2000, 122(3): 747–756.
- [73] 王奕, 任贤, 于志晶, 等. 玉米耐盐碱转基因研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(7): 3908–3911.
- [74] Kumar S, Dhingra A, Daniell H. Plastid-expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confers enhanced salt tolerance[J]. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2843–2854.
- [75] 米伟, 杨静慧, 程龙, 等. 盐胁迫下转过表达 *HS* 转录因子苜蓿突变体的生理生化变化[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(3): 658–662.
- [76] Yin Y C, Zhang X D, Gao Z Q, et al. The Research Progress of Chalcone Isomerase(CHI) in Plants[J]. *Molecular biotechnology*, 2019, 61(1): 32–52.
- [77] 侯杰, 佟玲, 崔国新, 等. 植物类黄酮 3'-羟化酶(F3'H)

- 基因的研究进展[J]. 植物生理学报, 2011, 47(7): 641-647.
- [78] 任永兵. 拟南芥 *DFR1* 基因在植物响应环境胁迫中的功能研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- [79] 李 伟. 小麦类黄酮合成途径基因 *TaFLSI* 与 *TaANSI* 的逆境应答机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [80] 薛巨坤, 王 博, 王莲萍, 等. 一个顺式作用元件的载体构建及与一个 MYB 转录因子的互作分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(5): 1519-1524.
- [81] Oh Se Jun, Song Sang I k, Kim Youn Shic, et al. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth[J]. Plant Physiology, 2005, 138(1): 341-351.
- [82] 杨凤萍. 利用抗逆调节转录因子(DREB1B 和 CBF1)基因转化多年生黑麦草提高其抗旱性[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [83] Zhang Ji Yi, Broeckling Corey D, Blancaflor Elison B, et al. Overexpression of WXP1, a putative Medicago truncatula AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. The Plant Journal, 2010, 42(5): 689-707.
- [84] 范俊山, 赵晓雷, 王 奕. 转录因子 *DREB2A*、*DREB1A* 基因研究概况[J]. 农业科技通讯, 2016(2): 139-141.
- [85] Sunmi Kim, Ji Hye Park, Soo Young Kim, et al. ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its overexpression affects multiple stress tolerance[J]. The Plant Journal, 2004, 40(1): 75-87.
- [86] 刘 帅, 朱明鲲, 刘 旭, 等. 拟南芥 *abf3* 和 *abf4* 突变体对 ABA 和盐胁迫响应[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2012, 44(4): 100-104.
- [87] 王 彩. 花生抗旱相关转录因子 *AREB1-2* 基因的功能分析[D]. 济南: 山东农业大学, 2018.
- [88] 张昭杨, 庞军玲, 韩 梅, 等. 转基因 ABP9 玉米株系的耐盐性分析[J]. 生物技术通报, 2019, 35(5): 48-57.
- [89] 沈 乾, 陆 续, 张 凌, 等. 植物中 MYC2 转录因子功能研究进展[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2012, 30(6): 51-57.
- [90] 陈焕新, 关秋玲, 李秋莉. 植物 MYB2 转录因子[J]. 植物生理学通讯, 2008(5): 1034-1038.
- [91] Oh Jeeun, Kwon Yerim, Kim Junhyeok, et al. A dual role for MYB60 in stomatal regulation and root growth of Arabidopsis thaliana under drought stress[J]. Plant Molecular Biology, 2011, 77(1-2): 91-103.
- [92] Sugano Shoji, Kaminaka Hironori, Rybka Zbigniew, et al. Stress-responsive zinc finger gene *ZPT2-3* plays a role in drought tolerance in petunia. [J]. The Plant Journal, 2003, 36(6): 830-841.
- [93] Kim Sang Hee, Hong Jeum Kyu, Lee Sungchul, et al. CAZFP1, Cys2/His2-type zinc-finger transcription factor gene functions as a pathogen-induced early-defense gene in Capsicum annuum. [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 55(6): 883-904.
- [94] 刘 蕾, 杜 海, 唐晓凤, 等. MYB 转录因子在植物抗逆境胁迫中的作用及其分子机理[J]. 遗传, 2008, 30(10): 1265-1271.
- [95] Su L T, Li J W, Liu D Q, et al. A novel MYB transcription factor, GmMYBJ1, from soybean confers drought and cold tolerance in Arabidopsis thaliana [J]. Gene, 2014, 538(1): 46-55.
- [96] 张进艳, 陈 芳, 李 亮, 等. 水分胁迫下 16 个玉米 NAC 转录因子的序列特征和表达分析[J]. 山西农业科学, 2014, 42(4): 307-312.
- [97] 张惠媛, 刘永伟, 杨军峰, 等. 小麦转录因子基因 *TaWRKY33* 的耐盐性分析[J]. 中国农业科学, 2018, 51(24): 4591-4602.
- [98] 杨璐凯, 沈 阳, 才晓溪, 等. 大豆 PHD 家族蛋白的全基因组鉴定及表达特征分析[J]. 作物杂志, 2019(3): 55-65.
- [99] Zhou Y, Liu C, Tang D, et al. The Receptor-like Cytoplasmic Kinase STRK1 Phosphorylates and Activates CatC, thereby Regulating H₂O₂ Homeostasis and Improving Salt Tolerance in Rice [J]. Plant Cell, 2018, 30(5): 1100-1118.
- [100] 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 transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression in Arabidopsis [J]. Plant Cell, 1998, 10(8): 1391-1406.
- [101] 王 策, 杨艳歌, 吕维涛, 等. 玉米 A 亚族 bZIP 转录因子基因 *ZmbZIP81* 的克隆、表达与功能分析[J]. 作物学报, 2014, 40(9): 1549-1556.
- [102] Wang C F, Liu D C, Ma X L, et al. Development and validation of the specific CAPS markers of rice salt tolerant gene SKC1 [J]. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(11): 2437-2440.
- [103] 洪立洲, 刘兴华, 王茂文. 江苏沿海特色盐土农业技术 [M]. 南京: 南京大学出版社, 2015: 1-17.
- [104] 张 磊, 侯云鹏, 王立春. 盐碱胁迫对植物的影响及提高植物耐盐碱性的方法[J]. 东北农业科学, 2018, 43(4): 15-20.
- [105] Bimpong I K, Manneh B, M Sock, et al. Improving salt tolerance of lowland rice cultivar 'Rassi' through marker-aided backcross breeding in West Africa [J]. Plant Science, 2016, 242: 288-299.
- [106] 王晓雪, 杨祥波, 任旭东, 等. 植物耐盐碱基因的克隆及其在水稻中遗传转化研究进展[J]. 东北农业科学, 2016, 41(5): 46-51.
- [107] Takagi H, Tamiru M, Abe A, et al. MutMap accelerates breeding of a salt-tolerant rice cultivar [J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(9): 445-449.

(责任编辑: 刘洪霞)