

Research Progress on the Development of Transgenic Rice for Salt Tolerance

Airong Li^{1,2*}, Qingkun Li², Ping Zhang², Xianping Tang², Shuming Zeng³

¹Graduate School, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing

²Jiaxiang Agricultural Bureau, Shandong Province, Jiaxiang

³Jining Institute, Shandong Academy of Agricultural Science, Jining

Email: *Liairong2006@163.com

Received: Nov. 16th, 2012; revised: Nov. 20th, 2012; accepted: Dec. 13th, 2012

Abstract: Salinity is one of the main factors which affect the growth and development of rice. Therefore, improving the capacity of rice salt-tolerance is urgently needed for its breeding. In this review, the mechanism of salt-tolerance in rice, cloning of salt-tolerance related genes and transformation of these genes into rice were reviewed. The prosperity of transgenic rice with salt resistance was predicted and potential problems existing in this field were discussed, as to support totally comprehension and advice for researchers in this field. It will provide some valuable information for the efficient development of transgenic rice tolerant to salt.

Keywords: Rice; Salt Tolerance; Gene Cloning; Transgenic Study

转基因耐盐水稻研究进展

李爱荣^{1,2*}, 李庆坤², 张平², 唐宪平², 曾淑明³

¹中国农业科学院研究生院, 北京

²山东省嘉祥县农业局, 嘉祥

³山东省农业科学院济宁分院, 济宁

Email: *Liairong2006@163.com

收稿日期: 2012年11月16日; 修改日期: 2012年11月20日; 录用日期: 2012年12月13日

摘要: 胁迫是水稻生长发育的主要逆境之一, 影响水稻产量和品质, 因而提高水稻的耐盐能力是水稻育种工作急需解决的关键问题。本文对水稻耐盐分子机理、耐盐相关新基因的定位和克隆, 以及耐盐转基因水稻培育等几方面的研究进行了综述, 并对该领域的前景进行了展望和讨论, 以期为水稻抗盐转基因改良提供参考。

关键词: 水稻; 耐盐; 基因克隆; 转基因研究

1. 引言

盐胁迫是全球范围内影响作物产量的最严重的非生物胁迫之一, 例如在我国约有 5.54 亿亩盐渍化土地, 几乎占全国可耕地的 25%。在可耕地面积不能增加而人口不断增长的情况下, 如何解决土地盐渍化的

问题显得尤为重要。开发利用盐碱地, 提高盐渍化土地上的作物产量, 对我国的农业发展有着及其重要的现实意义。而利用土地改良工程如大量淡水来改良盐碱地成本太高, 在水资源越来越宝贵的将来其可行性更小。显然, 提高作物的耐盐性, 培育出适合在盐渍化土地上生长的植物品种是有效利用盐渍化土地的主要方法。

*通讯作者。

作为植物分子生物学研究主要的模式植物,水稻是世界三大主要粮食作物之一,全球约 50%的人口以水稻为主食。在我国水稻属第二大粮食作物,产量占世界稻米总产的 1/3。但近年来由于各种逆境因素的影响,严重制约了水稻的高产、稳产。虽然近年来利用传统育种方法使水稻耐盐碱性有了一定改良,然而进展相对缓慢,至今尚未培育出真正的耐盐品种,常规选育方法难以解决上述难题。转基因技术可以打破物种之间的生殖隔离障碍,实现优良基因在物种间的交流。

因此,通过基因工程育种途径改良提高水稻耐盐性,创新水稻耐盐新种质,是解决这一农业问题最经济有效的途径。外源基因的转入不但可以改良水稻的耐盐性,也丰富了水稻基因资源,弥补了常规育种方法的不足,为水稻耐盐育种开辟了新的道路。本文综述了水稻耐盐基因的克隆、水稻耐盐 QTL 的定位,耐盐转基因水稻培育等方面的最新研究结果,对耐盐转基因水稻培育具有一定参考价值。

2. 水稻耐盐机理

盐胁迫对植物细胞的伤害,一般分为渗透伤害和离子伤害。当植物处于高盐环境时,一方面,由于水势提高,植物对外界的水分吸收受到抑制,导致植物生长受到抑制,渗透胁迫还造成一些超氧阴离子含量增加,对细胞膜造成伤害,即盐胁迫的渗透效应;另一方面,土壤中的 NaCl 浓度提高后,钠离子在植物细胞中大量积累,进一步导致植物的生长延缓,钠离子的积累造成 Ca^{2+} 、 K^+ 等离子的吸收受抑制,造成植物细胞中电解质紊乱,这是盐胁迫的离子效应^[1]。水稻在盐胁迫时的应答主要表现为:渗透调节,维护膜系统的稳定性,大分子蛋白的积累等。

2.1. 渗透调节

盐胁迫可以造成生理干旱,在盐分胁迫下水稻进行渗透调节的方式可以通过 3 个途径来达到:水分减少,细胞体积变小,溶质增加。研究发现,在高盐条件下,水稻在细胞质中开始积累一些小分子量的代谢物,如脯氨酸、甜菜碱、糖醇等。这些物质通过维持细胞内高的渗透压,有利于水稻在高盐环境中吸收水分,从而提高了抗逆性。作为渗透调节物质的有机小分子物质,必须具备以下几点特征:易溶于水,相对

分子质量小,在生理 pH 内必须不携带净电荷,不会对细胞膜产生伤害,能迅速生成并大量积累等等^[2,3]。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,它们可以提高细胞内的水势(提高还是降低?),提高作物的吸水能力,但它们本身不会对植物细胞造成伤害,是水稻耐盐的重要原因。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,与水稻的抗逆性关系密切。

2.2. 细胞膜保护

在盐胁迫条件下,细胞质膜首先受到盐离子胁迫影响而产生胁迫,导致水稻的细胞质膜受到损伤。细胞内的酶促反应和电子传递过程,以及一些低分子有机物的自动氧化反应,都会产生活性氧,但它们很快能被细胞内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX1)、过氧化物酶(GPX)等保护酶所清除,以达到一种生理平衡。APX、CAT 和 SOD 是植物体内的保护酶系统,它们相互协调、共同协作,清除膜脂过氧化作用中的活性氧,最终达到保护膜结构的作用^[4]。

2.3. 离子调节

水稻细胞应对盐胁迫的另一种调节的方式是吸收和积累无机盐离子,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。水稻以主动吸收的方式从周围的介质中吸收无机离子,主要有 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 等^[5]。盐离子进入细胞后,大部分积累在液泡中,进行离子区隔化作用。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^[6]。

3. 水稻耐盐基因的克隆与转化

3.1. 渗透调节相关基因

植物在盐胁迫下,细胞会合成脯氨酸、甜菜碱、

果糖、蔗糖、多胺等一些水溶性物质。以降低细胞的渗透势,保护酶和细胞膜结构。它们具有较强的亲水力,可以代替蛋白质、蛋白复合物或膜表面的水。这一类的合成基因在作物抗逆育种中非常具有实用价值。脯氨酸是分布最广的水溶性渗透调节剂,P5CS(2-氢吡咯-5-羧酸合成酶)基因编码一个 γ -谷氨酰激酶(γ -GK),催化从谷氨酸合成脯氨酸的最初两步反应,水稻中的两个脯氨酸合成相关基因P5CS1和P5CS2,在愈伤组织培养中,愈伤组织在250 mM NaCl的诱导下,两个基因都会大量表达,而在细胞悬浮液中,诱导不明显,说明脯氨酸合成途径需要不同细胞之间的信号交流^[7]。Anoop^[8]等成功地把P5CS基因转入水稻中,并发现转基因水稻植株表现为较好的根生长和较高的生物量。最近的研究表明,转入P5CS基因的籼稻品种脯氨酸含量提高了2~6倍,转基因水稻可以在200 mM NaCl处理下存活4周,甚至可以开花并收获种子,而未转基因的对照最多存活10天^[9]。

盐胁迫下,水稻细胞中会大量积累甜菜碱(GB),以维持细胞内外的渗透平衡,GB含量与植物抗胁迫能力成正比。GB合成途径是由胆碱经由甜菜碱醛生成甜菜碱,需要胆碱单氧化酶(CMO)和甜菜碱醛脱氢酶(BADH)催化。Shirasawa等^[10]用农杆菌将菠菜的CMO转化水稻,发现转基因水稻GB含量增加,耐盐性提高。BADH基因首次从菠菜中克隆,郭岩等^[11]应用基因枪法将盐生植物山菠菜的BADH基因转入粳稻中花8号中,得到的转BADH基因水稻植株耐盐能力显著提高。最近的研究将籼稻中的OsBADH1基因转入粳稻的盐敏感品种,转基因植株中OsBADH1基因的转录水平和OsBADH1蛋白的产量都明显提高,同时转基因水稻积累了大量甜菜碱;转基因水稻在苗期和成熟期都表现出比对照更高的耐盐性,通过转OsBADH1基因,盐胁迫对种子的萌发,植株生长,细胞水势,以及光合色素的含量的影响都有所缓解^[12]。

3.2. Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因

液泡膜 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因的转录调控可能是决定水稻耐盐能力的一个重要因素。Fukada^[13]等首次从水稻中克隆得到了液泡膜 Na^+/H^+ 反向运输蛋白基因,定名为OsNHX1;结果表明OsNHX1基因编码一个 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{H}^+$ 反向转运蛋白,蛋白在细胞内定位于液泡膜。液泡膜上的OsNHX1可以将细胞质中的

Na^+ 运送到液泡中,进行 Na^+ 的区隔化,反向转运蛋白的数量也是决定水稻耐盐性的重要因素。OsNHX1受盐和甘露醇处理诱导表达,高浓度的NaCl和KCl处理都可以提高OsNHX1在水稻根和地上部的转录水平,过量表达OsNHX1可以提高水稻的耐盐性。对OsNHX1基因的启动子和蛋白C末端的研究发现^[14],OsNHX1启动子是受逆境胁迫诱导的启动子,在盐、干旱、ABA胁迫处理下,OsNHX1启动子驱动下的GUS表达活性明显提高;OsNHX1的C末端区域对该转运蛋白的活性有重要的作用,在过表达OsNHX1的转基因拟南芥中,种子萌发率、根长、丙二醛含量和相对含水量的测定结果均显示其胁迫耐受性得到改善,但过表达OsNHX1C末端缺失基因对转基因植株的胁迫耐受性无明显影响。除了OsNHX1之外,邱生平等^[15]从水稻幼苗组织中克隆了一个新的 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因OsNHX2,水稻的两个液泡膜 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因OsNHX1、OsNHX2在盐敏感程度不同的水稻品种中表达有所不同。

许多植物的液泡膜 Na^+/H^+ 反向运输蛋白基因可以提高转基因水稻的耐盐性。Ohta^[16]将盐生植物野滨藜(*Atriplex fera*)的液泡膜 Na^+/H^+ 反向运输蛋白AgNHX1转入水稻过量表达,提高了转基因水稻的耐盐性。王旭达等^[17]克隆耐盐植物獐茅的液泡膜 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因AINHX,转化粳稻日本晴,用NaCl营养液处理5天,转基因水稻可以在含有200 mmol/L NaCl的培养基中生长,而未转基因水稻无法在含盐量超过150 mmol/L NaCl的培养基中生长,说明转基因水稻的耐盐性明显提高。为液泡膜 Na^+/H^+ 反向运输蛋白提供动力的液泡ATP酶(ATPase)基因同样也对提高耐盐能力有贡献,Baisakh等^[18]将一种盐生植物的ATPase基因转入水稻,发现转基因水稻中ABA信号支路中的基因表达增加,转基因植株在盐胁迫下通过关闭叶片气孔保持较高的相对含水量(RWC),通过提高 K^+/Na^+ 比维护离子平衡,避免细胞质遭受 Na^+ 的毒害,此外,盐胁迫下转基因植株叶绿素的含量也比对照高;转基因水稻更耐盐,盐胁迫下的产量也高于对照。

质膜 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因(SOS)最早在拟南芥中发现,水稻中对应拟南芥SOS₁,SOS₂,SOS₃的同源基因是OsSOS1、OsCIPK24和OsCBL4,这3个基因都能恢复对应拟南芥突变体的盐敏感缺陷型;

OsSOS1 负责在水稻植株中将 Na^+ 排出细胞外并进行长途运输, SOS 信号转导系统在水稻的盐胁迫反应中尤为重要, 其调控过程与拟南芥大致相同, 3 个基因的水稻突变体都表现为对盐胁迫极度敏感; 将 3 个基因分别转入酵母细胞都能提高酵母细胞的耐盐性^[19]。

3.3. 功能蛋白和其它相关调控基因

LEA 蛋白称为晚期胚胎发生丰富蛋白基因, 在植物受到盐胁迫后造成脱水的营养组织中会增加表达 LEA 蛋白基因。在胁迫条件下, LEA 蛋白对植物细胞起保护作用。水稻的 LEA 基因是一个大家族, 预计至少有 34 个 LEA 基因存在。耐盐的水稻根部 LEA 蛋白受 ABA 和盐诱导过量表达, 而在盐敏感品种中没有积累, 有实验表明将其它植物的 LEA 蛋白基因转入水稻, 可以提高了转基因水稻的耐盐性^[20]。

很多非生物胁迫会改变细胞内 Ca^{2+} 的水平, 在水稻对很多非生物胁迫的反应中, Ca^{2+} 信号起重要的作用。钙调素(CaM)是真核细胞中主要的受体。水稻体内存在大量的钙调素相似蛋白, 最近发现水稻的一个 OsMSR2(Multi-Stress-Responsive gene 2)基因, 被包括盐胁迫在内的多种胁迫诱导表达; 过表达 OsMSR2 可以提高拟南芥的耐盐性, 调节胁迫或者 ABA 响应基因的表达水平; 表明 OsMSR2 基因参与了 ABA 介导的信号转导支路, 调节水稻对盐胁迫的反应^[21]。钙调素依赖的蛋白激酶(CDPKs)是一种依赖于 Ca^{2+} 参与的和盐胁迫正向调节相关的蛋白因子, 参与了大量植物对环境胁迫的反应。Saijo 等^[22]将加入了 35S 启动子的 OsCDPK7 基因转化水稻, 证明了 OsCDPK7 参与盐胁迫的正调控。Takayuki 等^[23]研究了另一个水稻 Ca^{2+} 依赖的蛋白激酶基因 CPK21, CPK21 基因参与了 ABA 对盐胁迫的反应, 在水稻小穗中表达, 并受 ABA 和盐胁迫的诱导, 转 CPK21 基因的水稻转基因植株比野生型更耐盐。对转 OsCDPK7 基因的水稻耐盐性分析表明: OsCDPK7 基因的组成型表达提高了 T2 代转基因植株的耐盐性, 在不同耐性的转基因植株中 OsCDPK7 基因的表达也有一定的差异; 部分转基因水稻在 200 mmol/L NaCl 培养基中能够萌发; 幼苗期水稻经 400 mmol/L NaCl 浇灌 10 天, 去除胁迫后仍然能恢复正常生长; 而对照在以上情况下均不能萌发和恢复。这些结果表明, 利用 Ca^{2+} 信号转导过程中的调控因子能够提高转基因作物的耐盐性^[24]。

DRBE(干旱响应元件结合蛋白)是水稻中参与盐胁迫反应的一大类转录因子。OsDREB1 和 OsDREB2 是同属于 AP2/ERF 家族的转录因子, 是已经鉴定出的水稻中对盐胁迫响应的关键转录因子, 它们都是 ABA 依赖的转录调控网络中主要的调控基因。其中一个 OsDREB1D 基因, 无论是否在胁迫条件下, 在水稻中都检测不到转录本; 酵母单杂交发现这个蛋白可以与干旱响应元件的 C 末端结合, 将 OsDREB1D 基因转入拟南芥后, 可以提高转基因拟南芥的耐盐和耐冷性, 转基因植株对 ABA 也不再敏感, 说明 OsDREB1D 的功能在水稻中可能是冗余的, 为一个特殊的调控机制所调控^[25]。其它转录因子, 如锌指蛋白, 在调控植物生长发育和应对逆境过程中发挥着重要作用。对水稻中一个编码含有 B-box 锌指结构域蛋白的 OsBBX25 基因进行的研究发现, OsBBX25 受盐、干旱和 ABA 诱导表达, 异源表达 OsBBX25 的转基因拟南芥与野生型相比对盐和干旱的耐受性增强, 且盐胁迫条件下转基因植物中 KIN1、RD29A 和 COR15 等基因的表达上调, 这些都是存在于 ABA 耐盐信号转导支路中的基因; 外源施加 ABA 时, 转基因植株的萌发率与野生型之间没有明显差异; 说明 OsBBX25 可能作为转录调控的辅助因子调节胁迫应答相关基因的表达, 进而参与水稻对非生物胁迫的响应^[26]。Huang 等^[27]克隆了 DST(drought and salt tolerance)基因, DST 是抗逆性的负调控因子, 是一个含有 C_2H_2 结构域的锌指蛋白。研究表明水稻 *dst* 突变体抗逆性增强, 而与产量相关的农艺性状并没有明显的改变。它可以调节与 H_2O_2 动态平衡相关的基因, 如过氧化物酶基因的表达, 对气孔闭合进行调控。当 DST 功能缺失时, 叶片气孔关闭, 减少了干旱条件下水分的流失和盐胁迫下 Na^+ 进入植物体内, 最终提高水稻的抗旱耐盐能力。

Xiang 等^[28]研究了水稻 OsbZIP23 基因, 这是水稻亮氨酸拉链转录因子家族成员之一。研究发现过表达 OsbZIP23 的转基因水稻表现出对干旱、盐很强的耐受性, 以及对 ABA 的敏感性。OsbZIP23 突变体对 ABA 敏感性降低, 对盐和干旱胁迫表现出明显的耐受性降低; 而将 OsbZIP23 基因转入互补到突变体中则突变体的缺陷型得到弥补。表明该基因在胁迫耐受的遗传改良方面具有潜在的应用价值。另一种转录因子螺旋-环-螺旋(bHLH)也参与了水稻对盐胁迫的反应。有研究表明来自于野生稻的一个螺旋-环-螺旋转录因子

OrbHLH001 受盐胁迫诱导, 主要在根茎中表达, 过表达该基因能提高转基因拟南芥对盐、冷害的耐受性, 进一步的研究发现这个转录因子与 DREB1 调控支路是相互独立的^[29]。

OsRMC 基因编码一个质外体蛋白, 具有富含半胱氨酸功能域(DUF26)的胞外结构域。Zhang 等^[30]应用 RNAi 技术, 确定了其在转基因水稻盐胁迫应答中的功能, 发现该蛋白在盐胁迫的初期对盐胁迫的应答提高非常明显。与非转基因对照相比, 在转基因水稻中下调 OsRMC 的表达水平能够缓解种子发芽缓慢、生长抑制等情况, 提高了水稻对 NaCl 的耐受性。

3.4. 水稻耐盐 QTL 定位

水稻耐盐性受多个基因控制。研究表明, 耐盐性状属于数量性状, 受多基因控制, 易受环境影响而变异, 广义遗传力的变幅在 2.65%~32.2%之间。除在突变体或转基因植株中发现有单个主基因控制的耐盐性状以外, 近年来, 在水稻耐盐数量性状基因位点(QTL)方面开展了很多研究。

李子银等^[31]利用 ZYQ8/JX17 组合构建的 DH 群体和 RFLP 图谱将 REF1A, SAMDC1 基因分别定位在水稻第 3, 第 4 和第 6 染色体上; 从水稻中克隆了 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶(SAMDC)基因、水稻翻译延伸因子 1A 蛋白(eEF1A)基因家族中的新成员 REF1A。Ren 等^[32]通过用耐盐水稻品种与盐敏感水稻品种构建的 F₂ 群体和分子标记进行耐盐 QTL 的定位分析, 共得到 11 个控制水稻耐盐性状的 QTL; 发现其中有 2 个是遗传效果较大的主效 QTL, 一个是位于第 1 号染色体、控制盐胁迫下 K⁺含量的 SKC1, 它通过增加 K⁺含量而增加耐盐性, 对表型变异的贡献率达到 40.1%, 是一个主效 QTL; 另一个是位于第 7 号染色体、控制 Na⁺含量的 SNC7, 它通过降低 Na⁺含量而减少盐胁迫对水稻造成的伤害。SKC1 基因编码了含 554 个氨基酸的 Na⁺转运蛋白, 参与调解水稻体内的 Na⁺、K⁺离子平衡; SKC1 蛋白能将水稻地上部植株中过量的 Na⁺转运回流到根部, 从而减轻 Na⁺的毒害, 增强水稻的耐盐性^[32]。

尽管近年来已鉴定出大量的水稻耐盐 QTL, 但 QTL 定位的区间较大, 要想应用分子标记辅助选择育种, 还需对这些 QTL 进行精确定位。通过高密度遗传图谱的构建、作图群体的改进、定位统计方法的完

善以及新型分子标记的开发, 将会有更多的目标 QTL 被精细定位。从而更大地促进对复杂性状的基础理论研究及分子设计育种的开展, 解决水稻耐盐育种中的难题。

4. 展望

提高栽培稻的耐盐能力毫无疑问能对世界粮食产量的提高产生巨大影响。栽培稻包括籼稻(*indica*)和粳稻(*japonica*)两个亚种, 籼稻大约占栽培稻的 80%, 然而, 水稻转化品种主要用的是粳稻, 因为粳稻离体培养更容易, 籼稻的转化仍然困难^[33]。今后在水稻的转基因工程技术研究方面, 需要加强籼稻转化技术的创新, 提高籼稻的转化率。

植物对盐胁迫的反应是由多种因素共同调节和控制的, 涉及到生理、生化、细胞等多方面的变化, 各种因素之间的相互作用机理并不完全清楚。因此, 理解耐盐基因的作用机理, 对耐盐基因工程至关重要。转化个别与抗盐抗旱相关的基因, 对水稻耐盐性的提高有限, 难以获得真正意义上的抗性品种。在耐盐基因的研究中, 渗透调节相关基因应该深入研究其表达特性, 生理功能, 结构特点等, 以明确这类基因编码蛋白的精确功能, 理解水稻对盐胁迫反应的分子基础。离子运转相关蛋白基因, 除了研究其结构, 寻找离子转运的关键蛋白载体之外, 还应该寻找能够对此类基因的表达, 蛋白功能进行调控的基因, 因为离子载体蛋白基因的表达量和蛋白转运功能的强弱直接关系到水稻耐盐能力的大小。

对耐盐能力起决定性影响的大多是一些编码转录因子的基因, 它们不但参与了水稻对盐胁迫的反应, 也参与了水稻对大多数生物胁迫和非生物胁迫的反应, 同时在水稻的生长发育过程起着重要作用, 此类基因的突变体往往具有严重的缺陷型。这一类基因的过表达, 不仅仅是提高水稻的耐盐能力, 对其生长发育也有影响。转录因子的转化会影响一系列基因的表达水平, 其调控基因表达的能力也决定了转基因水稻耐盐能力的提高程度。在植物的耐盐信号转导中, 有 ABA 信号和 Ca²⁺信号两种支路, 在此类参与信号转导类基因的转化中, 应该选取在不同信号转导支路的结合点上, 对耐盐起关键调控作用的基因, 深入了解其耐盐调控的信号转导原理; 在提高耐盐性的同时, 对转基因水稻的营养吸收、开花时间、产量也应

有正调控作用。

我国拥有 400 多种盐生植物, 发掘耐盐植物资源, 可以为水稻耐盐转基因育种提供丰富的基因资源。其中与栽培稻亲缘关系最近的普通野生稻是改造水稻的最好材料。野生稻具有较高的耐盐能力, 以及良好的综合抗性。在野生稻中挖掘栽培稻中没有的、驯化过程中丢失的耐盐基因, 进行遗传转化, 对于提高栽培稻的耐盐性具有重大的意义。这需要利用野生稻加强耐盐种质资源的筛选、鉴定及创新, 进行耐盐 QTL 的精细定位, 然后克隆新基因, 验证功能, 再进行遗传转化。尽管转基因水稻的安全性仍具有争议, 但是转基因水稻前景广阔, 将会在未来发挥其巨大作用。相信随着耐盐基因的丰富和利用, 以及转基因技术的发展, 因土壤盐碱化而带来的水稻种植问题甚至整个世界的粮食问题一定能有效克服。

参考文献 (References)

- [1] 杨晓华, 彭晓珏, 杨国华, 冯玲玲, 王坤. 李阳生水稻 OsRab7 耐盐功能的初步鉴定及其表达载体的构建[J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(1): 1-6.
- [2] 沈义国, 杜保兴, 张劲松, 陈受宜. 山菠菜胆碱单氧化物酶基因(CMO)的克隆与分析[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 1-6.
- [3] Y. Guo, L. Zhang, G. Xiao, S. Y. Cao, D. M. Gu, W. Z. Tian and S. Y. Chen. Expression of beminine aldehyde dehydrogenase gene and salinity tolerance in rice transgenic plants. Science in China Series C (Life Sciences), 1997, 40(5): 496-501.
- [4] 舒卫国, 陈受宜. 植物在渗透胁迫下的基因表达及信号传递[J]. 生物工程进展, 2000, 20(3): 3-6.
- [5] 郝雷, 赵宝存, 沈银柱, 黄占景. 葛荣朝植物耐盐性及耐盐相关基因的研究进展[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2008, 32(2): 243-248.
- [6] Z. H. Ren, J. P. Gao, L. G. Li, X. L. Cai, W. Huang, D. Y. Chao, M. Z. Zhu, Z. Y. Wang, S. Luan and H. X. Lin. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. Nature Genetics, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [7] I. Somboonwatthanaku, S. Dorling, S. Leung and M. T. McManus. Proline biosynthetic gene expression in tissue cultures of rice in response to saline treatment. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2010, 103(3): 369-376.
- [8] N. Anoop, A. K. Gupta. Transgenic indica rice CV IR-50 over expressing vigna aconitifolia-pyrroline-5-carboxylate synthetase cDNA shows tolerance to high salt. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2003, 12(2): 109-116.
- [9] A. Karthikeyan, S. K. Pandian and M. Ramesh. Transgenic indica rice cv. ADT 43 expressing a $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) gene from *Vigna aconitifolia* demonstrates salt tolerance. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011: 107(3): 383-395.
- [10] K. Shirasawa, T. Takabe, et al. Accumulation of glycinebetaine in rice plant that over express choline monoxygenase from spinach and evaluation of their tolerance to abiotic stress. Annals of Botany, 2006, 98(3): 565-571.
- [11] 郭岩, 张莉, 肖岗. 甜菜碱醛脱氢酶基因在水稻中的表达及转基因植株的耐盐性研究[J]. 中国科学, 1997, 27(2): 151-155.
- [12] S. Hasthanasombut, K. Supaibulwatana, M. Mii and I. Nakamura. Genetic manipulation of japonica rice using the OsBADH1 gene from indica rice to improve salinity tolerance. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 104(1): 79-89.
- [13] A. Fukuda, A. Nakamura and Y. Tanaka. Molecular cloning and expression of the Na^+/H^+ exchanger gene in *Oryza sativa*. Biochimica et Biophysica Acta, 1999, 446(1-2): 149-155.
- [14] 刘琳, 曾幼玲, 张富春. 水稻 NHX1 基因启动子和 C 末端的调控功能研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(7): 1295-1303.
- [15] 邱生平, 周国安, 陆驹飞. 一个新的水稻液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的克隆及表达特征[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(2): 119-124.
- [16] M. Ohta, Y. Hayashi and A. Nakashima. Introduction of a Na^+/H^+ antiporter gene from *Atriplex gmelini* confers salt tolerance to rice. FEBS Letters, 2002, 32(3): 279-282.
- [17] 王旭达, 丰明, 张高华, 王鹤, 李怀梅, 李树英. 獐茅液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 AINHx 转化水稻的耐盐性研究[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(2): 13-17.
- [18] B. Niranjana, V. R. Mangu, R. Kanniah, S. Prasanta, J. Jaroslav, G. David, V. Cheryl and P. Andy. Enhanced salt stress tolerance of rice plants expressing a vacuolar H^+ -ATPase subunit c1 (SaVHAc1) gene from the halophyte grass *Spartina alterniflora* Loisel. Plant Biotechnology Journal, 2012, 10(4): 453-464.
- [19] H. Elmahi, J. Espartero, M. Aguilar, F. J. Quintero and J. M. Pardo. The SOS system is essential for the salt tolerance of rice. Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology XVII, 2010: 7-31.
- [20] D. Xu, X. Duan, B. Wang, et al. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. Plant Physiology, 1996, 110(1): 249-257.
- [21] G. Y. Xu, P. Rocha, M. L. Wang, M. L. Xu, Y. C. Cui, L. Y. Li, Y. X. Zhu and X. Xia. A novel rice calmodulin-like gene, OsMSR2, enhances drought and salt tolerance and increases ABA sensitivity in Arabidopsis. Planta, 2011, 234(1): 7-59.
- [22] Y. Saijo, N. Kinoshita, K. Ishiyama, et al. A Ca^{2+} dependent protein kinase that endows rice plants with cold- and salt-stress tolerance functions in vascular bundles. Plant and Cell Physiology, 2001, 42(11): 1228-1233.
- [23] A. Takayuki, H. Nagao, K. Shoshi and O. Ryu. CDPK-mediated abiotic stress signaling. Plant Signaling & Behavior, 2012, 7(7): 817-821.
- [24] 王镭, 才华, 柏锡, 李丽文, 李勇, 朱延明. 转 OsCDPK7 基因水稻的培育与耐盐性分析[J]. 遗传, 2008, 30(8): 1051-1055.
- [25] Y. Zhang, C. Chen, X. F. Jin, A. S. Xiong, R. H. Peng, Y. H. Hong, Q. H. Yao and J. M. Chen. Expression of a rice DREB1 gene, OsDREB1D, enhances cold and high-salt tolerance in transgenic Arabidopsis. Biochemistry and Molecular Biology Reports, 2009, 42(8): 486-492.
- [26] 刘焱, 邢立静, 李俊华, 戴绍军. 水稻含有 B-box 锌指结构域的 OsBBX25 蛋白参与植物对非生物胁迫的响应[J]. 植物学报, 2012, 47(4): 366-378.
- [27] X. Y. Huang, D. Y. Chao and J. P. Gao. A previously unknown zinc finger protein, DST, regulates drought and salt tolerance in rice via stomatal aperture control. Genes & Development, 2009, 23(15): 1805-1817.
- [28] Y. Xiang, N. Tang, H. Du, H. Y. Ye and L. Z. Xiong. Characterization of OsZIP23 as a key player of the basic leucine zipper transcription factor family for conferring abscisic acid sensitivity and salinity and drought tolerance in rice. Plant Physiology, 2008, 148(4): 1938-1952.
- [29] F. Li, S. Guo, Y. Zhao, D. Chen, K. Chong and Y. Xu. Overexpression of a homeopeptide repeat-containing bHLH protein gene (OrbHLH001) from Dongxiang wild rice confers freezing and salt tolerance in transgenic Arabidopsis. Plant Cell Reports, 2010, 29: 977-986.
- [30] L. Zhang, L. H. Tian, J. F. Zhao, Y. Sun, C. J. Zhang and Y. Guo. Identification of an apoplastic protein involved in the initial phase of salt stress response in rice root by two-dimensional electrophoresis. Plant Physiology, 2009, 149(2): 916-928.
- [31] 李子银, 张劲松, 陈受宜. 水稻盐胁迫应答基因的克隆、表达

- 及染色体定位[J]. 中国科学, 1999, 29(6): 560-570.
- [32] Z. H. Ren, J. P. Gao, L. G. Li, X. L. Cai, W. Huang, D. Y. Chao, M. Z. Zhu and H. X. Lin. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nature Genetics*, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [33] Y. J. Lin, Q. F. Zhang. Optimizing the tissue culture conditions for high efficiency transformation of *indica* rice. *Plant Cell Reports*, 2005, 23(8): 540-547.