

提高作物耐盐性和耐旱性的转基因方法

程明林, 时梦询 (青岛科技大学化工学院, 山东青岛 266042)

摘要 分析作物耐盐、耐旱的反应和机制, 介绍一些耐盐和耐旱的基因, 探讨各种转基因方法的开发和应用, 并提出进一步了解响应盐和干旱危害信号级联的生理和分子机制, 以增强作物的耐受性。

关键词 非生物危害; 干旱; 盐度; 应激反应基因

中图分类号 S188; Q812 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)01-0014-02

Transgenic Methods to Enhance Salt and Drought Tolerance in Crops

CHENG Ming-lin, SHI Meng-xun (College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042)

Abstract The responses and mechanisms of salt and drought tolerance were studied. Some salt and drought tolerant genes were introduced. The development and application of various methods were discussed, and the response of physiological and molecular mechanisms to salt and drought signal cascade were pointed out to increase the tolerance of crops.

Key words Abiotic stress; Drought; Salinity; Stress responsive genes

非生物危害(干旱、盐碱和极端温度等)是作物生产的最大制约因素, 大约 70% 的作物减产是由于非生物危害引起的^[1]。为应对这些危害, 科学家开发了标记辅助育种(MAB)和数量性状位点(QTL)技术^[2]。但是 MAB 技术是昂贵的, 并且对于表型性状的分析效率较低, 而 QTL 分析的准确性令人怀疑。在这种情况下, 转基因方法更具说服力和实用性。转基因的目的是开发可以赋予非生物危害耐受性以及高产量和生物量的转基因作物。通过转基因的稳定整合来完成核基因组的转化或者通过修饰作物载体来实现作物中转基因的表达。笔者探讨了各种转基因方法的开发和应用, 以增强作物对非生物危害的耐受性, 特别是对盐危害和干旱的耐受性。

1 耐盐和耐旱性的背景

盐度和干旱影响植物形态、生理、代谢和基因表达。矿物风化、粉尘、降水和地下水位升高都会导致土地盐碱化, 干旱是由于作物生存所需水量不足导致的^[3]。

1.1 耐盐反应和机制 盐度渗透会导致细胞体内平衡和离子分布的破坏。盐危害下, 作物生长受到了抑制。生长响应的渗透(第一)阶段是由于作物外部的高盐积累, 这降低了作物的进水能力, 进而导致缺水, 其特征在于叶和根生长减慢, 作物气孔闭合^[4]。生长反应的离子(第二)阶段是由盐离子的毒性作用引起的。作物长时间暴露于高盐度会导致非常多的 Na^+ 和 Cl^- 进入细胞质, 盐离子浓度增加破坏了膜结构和细胞器, 改变了光合作用和蒸腾速率, 抑制了酶活性, 并最终导致叶子死亡^[5]。作物耐盐性机制是克服生长抑制, 使作物在高盐条件下茁壮成长。作物维持细胞中低钠浓度的 3 个策略是离子排除, 分隔和渗透保护。离子排除通过离子交换剂(NHX)排除对作物有毒的积聚离子; 离子分隔是通过离子通道将有毒离子(Na^+)分成空泡来增强组织耐受性; 细胞

的渗透调节和渗透保护包括候选基因合成渗透调节物质、水通道蛋白, 增强抗氧化酶活性, 以此降低耐盐危害^[6]。

1.2 耐旱反应和机制 干旱对作物危害的初始反应与盐危害导致的渗透性相一致, 都有普遍的生理缺水。这种渗透压力导致叶片失去膨胀压力而枯萎, 最终完全干燥。膨胀压力下降使气孔闭合, 光合速率被抑制, 因为 CO_2 的供应由 RUBISCO 酶(核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶)限制, 从而抑制无机 CO_2 转化为有机形式, 这是光合作用的第一步。同时, 干旱会使光系统 II 的功能丧失, 导致光合作用的降低^[7] 和 RUBISCO 酶的不稳定。耐旱机制包括冠层阻力和叶面积减少, 这 2 种机制都是通过减少暴露在光下的区域来减少过量的光和辐射的吸收率, 这 2 种机制除了控制气孔关闭之外, 它们还调节土壤干燥期间的作物生长^[8], 并在气孔交换时减少失水和 CO_2 扩散。

2 耐盐性和耐旱性的转基因方法

2.1 信号感知和转录控制的基因 信号感知和转导是作物非生物危害反应的首要事件。分子反应的级联始于危害信号的感知, 其次是细胞质和细胞核信号转导, 为应激反应基因的基因表达提供信号, 这些基因赋予作物耐受性^[9]。转录因子(TF)是具有序列特异性 DNA 结合特性的一类蛋白质, 它们具有激活和抑制基因表达的能力。许多转录因子家族和亚家族被确定涉及作物对抗非生物危害条件的反应, 如高盐度、干旱、热和低温^[10]。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联在作物危害生理学中起重要作用。通过级联的可逆磷酸化感知应激刺激, 从而促使作物对外界环境做出应激反应。MAPK 可调节 TF 的含量^[11], 外界刺激的强弱会导致 TF 含量有所差异, 使得作物耐旱和耐盐的程度不同。盐和 H_2O_2 诱导了一种 Mn^{2+} 依赖受体激酶, 该激酶过度表达后, 作物的抗氧化活性增加, 对盐和干旱的耐受性也增强^[12]。热休克蛋白(Hsps)作为分子伴侣, 可以防止蛋白质的聚集和变性。从 Hsps 分离出的热休克蛋白转录因子(Hsfs)在转基因作物中过度表达可增强热、盐度和氧化危害的耐受性^[13]。

基金项目 国家自然科学基金项目(21576145)。

作者简介 程明林(1992—), 男, 山东滕州人, 硕士研究生, 研究方向: 生物制药。

收稿日期 2017-09-28

2.2 参与 ABA 生物合成和转录控制的基因 脱落酸 (ABA) 在对干旱的适应性反应中起着不可或缺的作用。涉及 ABA 生物合成, 分解代谢和信号传导的基因可用于改善作物的耐旱性。对干旱危害的转录反应分为 ABA 依赖型, ABA 非依赖型, 或二者兼具型。ABA 可以调节由干旱、冷和盐危害诱导的多基因表达。ABA 依赖型转录有 2 种类型: “直接”途径包括顺式作用的 ABA 应答元素 (ABREs), 通过与 TF 结合直接活化, 例如碱基亮氨酸拉链 (bZIP) 型 DNA 结合蛋白^[14]; “间接”ABA 依赖型转录途径涉及其他的顺式作用元素, 例如 MYC 和 MYB。这些元素通过与 ABA 或干旱诱导型 TF 相关蛋白结合来活化^[15]。

2.3 渗透调节和渗透保护基因 为了防止细胞脱水和保护细胞蛋白质, 作物中积累了许多有机化合物, 称为渗透调节物质。渗透调节物质包括脯氨酸、甜菜碱、多元醇、糖醇和可溶性糖。作物中甘氨酸甜菜碱 (GB) 积累可以增强干旱和盐危害的耐受性^[16]。编码吡咯喹-5-羧酸合成酶 (P5CS) 合成 P5C 酶并在转基因烟草中过度表达, 会产生过量游离的脯氨酸并增强耐盐性, 在盐危害下表现出优良的幼苗萌发和生长^[17]。在转基因作物中表达海藻糖生物合成的基因, 作物对盐和干旱的耐受性增加^[18]。甘露醇是与耐盐性相关的主要光合产物。大肠杆菌 *mltD* 基因在转基因小麦作物细胞中过度表达会导致甘露醇合成, 甘露醇得到适度积累, 可以增强作物对水和盐危害的耐受性^[19]。

2.4 抗氧化酶合成的基因 在干旱和盐的危害下, 作物中的细胞 ROS (活性氧簇) 水平升高。高水平的 ROS 对作物的生存是有害的。因此需要抗氧化剂降解这些自由基并将细胞 ROS 维持在无毒水平。不同的酶如过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 作为抗氧化剂可以起到降解 ROS 的作用。超氧化物自由基的分解是由超氧化物歧化酶催化的, 它可作为防止氧气中毒的第一道防线。一种从酵母中分离出并转录入拟南芥的转录因子 YAP1, 使得转基因作物在各种 NaCl 浓度溶液中生长^[20]。过氧化氢酶 (CAT) 参与 H₂O₂ 的清除和光呼吸, 从大肠杆菌中分离过氧化氢酶会使转基因水稻在 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液下表现出正常的生长和发育。

3 结论与展望

目前用于开发耐盐和耐旱转基因作物的基因工程方法包括改变天然基因的表达水平或掺入渗透剂、离子转运蛋白、转录因子和其他信号分子的外来基因。到目前为止, 虽然不同来源的耐盐和耐旱的大量候选基因已经确定, 但是负责对特定非生物危害的耐受性基因仍不能识别并激活。理想的转基因作物应具有高度调节危害的反应能力, 当不存在危害时不会影响作物的表现。因此, 了解响应盐和干旱危害信号级联的生理和分子机制将有助于操纵作物, 提高农业生

产力。此外, 加强作物对盐渍化和干旱的耐受性是育种者确认为世界人口增长提供粮食的重要目标。

参考文献

- [1] WILD A. Soils, land and food: Managing the land during the twenty-first century [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2003: 785.
- [2] FLOWERS T J, KOYAMA M L, FLOWERS S A, et al. QTL: Their place in engineering tolerance of rice to salinity [J]. *Exp Bot*, 2000, 51 (342): 99 - 106.
- [3] TUBEROSA R, SALVI S. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11 (8): 405 - 412.
- [4] MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress [J]. *Plant Cell Environ*, 2002, 25 (2): 239 - 250.
- [5] GILROY S, SUZUKI N, MILLER G. A tidal wave of signals: Calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling [J]. *Trends Plant Sci*, 2014, 19 (10): 623 - 630.
- [6] ROYCHOUDHURY A, CHAKRABORTY M. Biochemical and molecular basis of varietal difference in plant salt tolerance [J]. *Annu Rev Res Biol*, 2013, 3 (4): 422 - 454.
- [7] NISHIYAMA Y, MURATA N. Revised scheme for the mechanism of photoinhibition and its application to enhance the abiotic stress tolerance of the photosynthetic machinery [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98 (21): 8777 - 8796.
- [8] TARDIEU F, PARENT B, SIMONNEAU T. Control of leaf growth by abscisic acid: Hydraulic or non-hydraulic processes? [J]. *Plant Cell Environ*, 2009, 33 (4): 636 - 647.
- [9] WANG W X, VINOCUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance [J]. *Planta*, 2003, 218 (1): 1 - 14.
- [10] JOSHI R, WANI S H, SINGH B, et al. Transcription factors and plants response to drought stress: Current understanding and future directions [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1029.
- [11] TEIGE M, SCHEIKL E, EULGEM T, et al. The MKK2 pathway mediates salt and stress signaling in *Arabidopsis* [J]. *Mol Cell*, 2004, 15 (1): 141 - 152.
- [12] SAIBO N J M, LOURENÇO T, OLIVEIRA M M. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses [J]. *Ann Bot*, 2009, 103 (4): 609 - 623.
- [13] KIM B M, RHEE J S, JEONG C B, et al. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (*hsp*) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2014, 166 (65): 65 - 74.
- [14] BANERJEE A, ROYCHOUDHURY A. Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress [J]. *Protoplasma*, 2017, 254 (1): 3 - 16.
- [15] ABE H, URAO T, ITO T, et al. *Arabidopsis* AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling [J]. *The plant cell*, 2003, 15 (1): 63 - 78.
- [16] MOHANTY A, KATHURIA H, FERJANI A, et al. Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati 1 harbouring the *codA* gene are highly tolerant to salt stress [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 106 (1): 51 - 57.
- [17] SZABADOS L, SAVOURÉ A. Proline: Amultifunctional amino acid [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15 (2): 89 - 97.
- [18] SAH S K, KAUR G, WANI S H. Metabolic engineering of compatible solute trehalose for abiotic stress tolerance in plants [M] // IQBAL N, NAZAR R, KHAN N A. Osmolytes and plants acclimation to changing environment: Emerging omics technologies. New York: Springer, 2016: 83 - 96.
- [19] ABEBE T, GUENZI A C, MARTIN B, et al. Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity [J]. *Plant Physiol*, 2003, 131 (4): 1748 - 1755.
- [20] ZHAO J Q, GUO S L, CHEN S H, et al. Expression of yeast YAP1 intragenic *Arabidopsis* results in increased salt tolerance [J]. *J Plant Biol*, 2009, 52: 56 - 64.