

A Summary of Research Progress on Drought-Resistant of *Hippophae rhamnoides*

Gechang Liu, Anning Wang, Jiabao Feng, Yuling Li*, Guiquan Zhao

College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding Hebei
Email: ^{*}liugc2016@126.com, ^{*}liyuling0425@126.com

Received: Jun. 22nd, 2018; accepted: Jul. 10th, 2018; published: Jul. 17th, 2018

Abstract

Hippophae rhamnoides, a deciduous shrub or dungarunga, has comprehensive advantages including ecological, economic and social benefits. Nevertheless, due to the water restriction in the natural growth zone of *Hippophae rhamnoides*, the development of industrialization of *Hippophae rhamnoides* is severely limited in actual production. At present, the ways of drought-resistant and the changes of its physiological and biochemical indexes are emphasized in the study of drought-resistant mechanism of *Hippophae rhamnoides*. However, the researches on the molecular mechanisms and genes of drought-resistant of *Hippophae rhamnoides* have not yet been involved. Therefore, the two aspects of drought-resistant of *Hippophae rhamnoides* had been discussed in this review, one of which was the drought-resistant research method, the other part was the impact of drought stress on its growth and development, physiological and biochemical, drought-resistant genes, etc. At the same time, the research on the drought-resistant gene was also expected to provide the basis for further study on the drought-resistant mechanism of *Hippophae rhamnoides*.

Keywords

Drought Stress, *Hippophae rhamnoides*, Physiology Response, Gene

沙棘抗旱研究进展

刘歌畅, 王安宁, 冯家宝, 李玉灵*, 赵桂全

河北农业大学林学院, 河北 保定
Email: ^{*}liugc2016@126.com, ^{*}liyuling0425@126.com

收稿日期: 2018年6月22日; 录用日期: 2018年7月10日; 发布日期: 2018年7月17日

^{*}通讯作者。

摘要

沙棘(*Hippophae rhamnoides*)属于灌木或小乔木,是集生态经济社会效益于一身的树种。在实际生产中,由于沙棘自然生长区水分制约,导致沙棘产业化发展严重受到限制。前人对沙棘抗旱的研究主要集中在抗旱途径及生理生化指标等方面,有关沙棘抗旱性分子机制和在沙棘中挖掘抗旱基因的研究为空白。因此本文从抗旱研究方法和干旱胁迫对沙棘生长发育、生理生化、抗旱基因等进行综述,并对挖掘沙棘抗旱基因研究进行了展望,为深入沙棘抗旱研究提供依据。

关键词

干旱胁迫, 沙棘, 生理生化, 基因

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

沙棘隶属于胡颓子科沙棘属落叶性灌木,其果实中含有丰富的营养活性物质,被用于医药、食品、航天、轻工等领域,具有很高的开发利用价值,同时又具有抗风沙、耐寒耐旱等优质特性,可用于改善生态、社会环境,防治荒漠化,是集生态经济社会效益于一身的树种。沙棘集中分布在我国河北、陕西、山西、青海、甘肃等地区。在实际生产中,沙棘的人工栽植区和天然分布区受到当地缺水环境的制约,造成果实产率低,成活率不高甚至死亡等现象,所以说,干旱缺水是造成沙棘发展的关键性因素,因此,本文针对水分胁迫下沙棘的生长变化、生理生化指标、抗旱机制等进行综述,在前人研究的基础上对筛选沙棘抗旱基因进行展望,旨在为沙棘的抗旱研究机制提供参考价值。

2. 植物抗旱研究方法

2.1. 大田实验法

此研究方法主要是在自然干旱区域进行,由于天然降水量少或自然控制浇水条件,造成实验干旱胁迫,因此可达到测定植株在干旱胁迫下生理生化指标的研究目的。但是如果让大田土壤持水量稳定在固定的数值上,工程难度大[1]。

2.2. 控制土壤含水量法(盆栽)

此方法可以分为控水法和缓慢胁迫干旱法,用于植物抗旱性研究体系较成熟。控水法即控制土壤含水量法,一般采用称重法[2],但操作较烦琐;缓慢干旱法是土壤含水量从高到低缓慢降低的过程,植物从正常供水生长状态条件下,随着时间的延长,土壤水分胁迫程度逐步加强,土壤含水量逐步降低的过程,该研究方法与实际大田生产更接近,实施起来较容易,实验设计较简单[3][4]。

2.3. 人工气候室法

此方法应该在控制温湿度、光照、CO₂浓度等指标来模拟人工气候室干旱胁迫,达到干旱胁迫研究的目的,由于人工气候室造价费用高,所以人工气候室法多数用于研究珍惜材料[5]。

2.4. 大气干燥处理

该方法是将植物生长控制在一定空气湿度的干旱人工温室内, 或将植物根系直接放置于空气中, 或在植物的叶表面食用干燥剂, 伴随时间延长可引起不同程度的干旱胁迫研究方法[5], 该方法存在不可控因素太多, 研究设计较简单。

2.5. 高渗透处理法

此法一般在实验室内进行, 来达到研究植物干旱胁迫的目的。一般采用蔗糖、聚乙二醇(PEG)、甘露醇等渗透物质来控制干旱程度, 目前应用最广泛的是 PEG-6000 [6] [7] [8], 该方法适用于模式植物中, 在灌乔木中应用较少。

3. 水分胁迫对沙棘生长发育的影响

3.1. 水分胁迫对沙棘生长的影响

干旱胁迫严重影响沙棘的生长状况。干旱胁迫下, 植株地径、株高、根系的生长、叶片的数目、叶面积、树冠结构均受到抑制。李裕冬[9]对中国沙棘进行水分胁迫处理。发现限制水分供应造成中国沙棘的基径和株高生长速率显著的受到抑制, 由于水分胁迫下植株的根部受损影响对水分和养分的吸收。水分胁迫对沙棘的根冠比也有较大的影响, 表现在使根冠比提高[10], 植株在缺水状态优先将有机物转移至根部位, 引起根系积累生物量。植株组织生长取决于细胞数量的增加和体积的增大[11]。一般来说, 细胞分裂比细胞扩散过程对水分胁迫不敏感, 缺水后植株细胞体积减小, 总细胞数量不变[12]。

3.2. 水分胁迫对沙棘形态解剖的影响

沙棘旱生结构发达, 对干旱有极强的适应性[13]。干旱胁迫下, 沙棘叶片、茎和根系解剖形态结构会发生改变。叶片变薄, 栅栏组织增加、海绵组织与栅栏组织的比值降低, 海绵组织与叶厚比值减小; 表皮细胞变小且排列紧致; 气孔变小, 且密度增加[14]。刘瑞香[15]对沙棘的解剖形态进行分析, 发现缺水生长的沙棘叶片海绵组织发达, 叶片变薄, 栅栏组织与海绵组织的比值增加。沙棘在干旱环境下, 一方面通过降低叶片厚度、增加角质层、表皮毛加厚等方式来降低水分的蒸发, 另一方面栅栏组织发育来储备水分来适应干旱胁迫。

4. 水分胁迫对沙棘生理生化特征的影响

4.1. 叶片含水量

叶片含水量可直接反映沙棘体内水分状况, 水分胁迫强烈影响植株的叶片的水分含量。叶片相对含水量(LRWC)是组织含水量与饱和含水量的比值, 是反映植物叶片水分的重要指标。胁迫条件下, LRWC的高低在一定程度上可反应植物叶片的保水能力大小。随着胁迫时间、强度的延长增加, LRWC呈下降趋势, 自由水与束缚水比值减小。裴斌[16]通过对沙棘进行土壤水分胁迫, 表明土壤相对含水量在 48.3% (与土壤相对含水量为 96.2%)时 LRWC 明显下降, 相邻土壤水分梯度 LRWC 差异不明显, 表明 LRWC 对土壤含水量的变化不敏感, 表明沙棘的保水能力较强。

4.2. 质膜过氧化物质

水分胁迫下物质膜过氧化物质的变化表示植物受到了缺水的伤害。干旱胁迫严重影响植物抗氧化酶活性物质[17]。植物缺水时丙二醛(MDA)含量增加显著, 所以 MDA 含量的变化在一定程度上可反映质膜受损程度[18]。裴斌[19]等通过对干旱胁迫下沙棘的质膜过氧化物研究发现, 随土壤水分含量的降低,

MDA 呈递增趋势。MDA 随着干旱胁迫程度、时间的加深延长持续增加的趋势[20]。

4.3. 渗透调节物质

渗透调节是植物对于干旱胁迫时表现出抗性的一种极其重要的方式。胁迫条件下,植物本身通过渗透调节过程会积累一些渗透调节物质,例如有机酸、脯氨酸、甜菜碱、可溶性糖、可溶性蛋白等保护作用物质。其中,脯氨酸亲水能力强,降低细胞水势,增强植物细胞持水能力,防止细胞脱水[21]。甜菜碱对植物细胞无毒危害,近年来甜菜碱备受学者关注,因为植物在缺水胁迫下积累甜菜碱的植物比积累脯氨酸的植物耐旱性更强[22]。可溶性糖可用来合成其他有机溶质,其为合成溶剂提供能量与碳架,潘亚丽[23]研究表明干旱胁迫下沙棘可溶性糖大量积累,推测原因:胁迫造成的伤害使常利用,因而可溶性糖积累。可溶性蛋白是植物干旱胁迫下参与渗透调节的重要指标之一,侯丽丽[24]通过干旱胁迫下沙棘的生理生化指标变化规律研究,表明可溶性蛋白在整个胁迫过程中表现为先升高后降低在升高的趋势。特别指出的是,渗透调节能力有一定的限度,与周围环境有较大关联。同时,学者 Turner [25]实验得出,在缓慢且长期胁迫状态下渗透调节过程才会进行,一旦胁迫过快,渗透调节能力会减弱甚至消失。

4.4. 保护酶系统

植株为避免自身受到胁迫伤害自身形成一套抗氧化的保护酶系统,在干旱胁迫发生时,植株会分泌超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等保护酶物质避免植物缺水。SOD 是在植物保护酶中的关键酶。SOD 可以催化阴离子自由基(O_2^-)发生歧化反应形成 H_2O_2 和 O_2 , 来消除 O_2^- , 来维持活性氧代谢的平衡。刘瑞香[20]对中国沙棘和俄罗斯大果沙棘品种进行干旱胁迫研究发现,沙棘保护酶活性随干旱胁迫程度的增强而增加,而且抗旱性强的沙棘品种比抗旱性弱的沙棘品种酶活性增幅大。CAT 和 POD 均属保护酶系统中的关键酶,在植物胁迫过程中发挥着不可替代的作用[17],POD 和 CAT 都可以消除细胞内 H_2O_2 , 因而植株可避免 H_2O_2 的毒害。目前,已有大量的研究表明保护酶活性与干旱胁迫之间存在着一定的联系,但由于胁迫程度、时间的不同,许多学者对保护酶系统中酶活性的变化未能得到较一致的结论[26]。

5. 基因工程在沙棘抗旱中的应用

伴随基因工程的日益发展,关于抗旱基因的研究也越来越深入,近年来有关植物水分胁迫相关基因和转抗旱基因相关的报道已取得一定成效[11],但是关于沙棘的抗旱基因表达调控机制目前研究学者较少,需要深入探讨。

植物在干旱胁迫下会诱导相关抗旱基因的表达。目前研究较多的抗旱基因有渗透保护物质生物合成的关键酶基因与编码转录因子的调节基因。渗透保护物质合成关键酶基因目前主要集中在甘露醇、脯氨酸、甜菜碱等生物合成相关基因。与甘露醇的合成先关基因中研究较广泛的是 *mtlD* 基因,该基因已经在模拟植物烟草、拟南芥等植物中显见报道[27] [28],但是在沙棘中是否存在该抗旱基因,需要进行筛选,筛选基因最常用的方法是高通量测序,通过高通量测序筛选差异基因,运用差异基因表达调控与生理指标变化通路相耦合,在分子水平上解释抗旱通路;与脯氨酸合成有关基因关系最为密切的是 *P5CS* 基因,该基因是在 *Mothbean* 中筛选分离出来,是参与脯氨酸合成过程中不可或缺的基因,对中国沙棘 *P5CS* 基因克隆并进行序列测定,明确序列的碱基分配比例[29],中国沙棘体内的 *P5CS* 抗旱基因是否能够成功克隆、是否能够构建载体进行转基因研究,需要进一步研究;在甜菜碱合成过程中关键的基因为 *betA*,将 *betA* 基因导入到烟草、水稻中,可提高烟植株干旱胁迫下的生存能力[30] [31],但关于沙棘中的 *betA* 基因未见报道。转录因子的调节基因即转化调节基因,转录因子也叫作用因子(反式),也称应答元件结合蛋

白,能与 CRT/DRE 元件特异结合[32],从而调控特异基因的表达。目前转录因子的调节基因调控植物的抗旱途径研究通路不明确,因此需要加强研究。与植物抗逆性相关的转录因子有 bZIP、ERKY、NAC、AP2/EREBP 等家族,其中 DREB 转录因子在植物抗逆性研究中有快速发展[33]。李小婷[34]通过对不干旱程度的中国沙棘 DREB 转录因子进行实时荧光定量 PCR,研究发现 DREB 转录因子表达量随干旱胁迫程度的加深而增加,表明 DREB 转录因子可增加沙棘的抗旱性,但是该转录因子与抗旱生理的途径耦合途径文章中未见阐述,且沙棘抗旱其他的转录因子调节基因未见报道,因此关于沙棘转录因子的发掘与研究也是学者们应该关注的重点。

6. 问题及展望

对于沙棘抗寒性研究进展而言,现阶段研究沙棘的抗旱性主要集中在生理方面进行抗旱综合指标的评价,而在沙棘抗旱基因方面的研究仍处于起步阶段,在今后研究沙棘的抗旱性应该注意思考一下几点问题。

第一点,关于沙棘抗旱的研究方法,大部分人采用的试验方法是用盆栽称重法控制土壤水分含量来达到干旱研究的目的,由于花盆体积的大小在一定程度上限制沙棘根系的生长发育,因此如何克服该实验干扰需要更深入探讨。第二点,选择合理的抗旱性评价指标,沙棘植株的抗旱性是从形态生长、生理生化指标与微观基因水平等方面综合评价,因此评价植株抗旱性时,应该选择与抗旱有关的多个指标进行量化分析,建立一套创新、综合的评价体系,更加科学的评价沙棘植株的抗旱性。第三点,尽管前人已经获得了部分沙棘干旱响应途径,但水分胁迫下应激反应的完整通路仍未完全明确。今后应该注重响应途径通路的研究。第四点,随着现代分子生物学和生物技术的不断发展,筛选沙棘的抗旱基因已经不是难题,但目前关于沙棘的抗旱基因目前只发现 AQP 基因、P5CS 基因、IPT 基因这三个基因[29] [34] [35],对于这三个抗旱基因只是停留在分子基础的研究,是否能够转入到模拟生物中表达,需要进一步探索,所以,应该加强对沙棘抗旱基因调控方面的研究,同时关于基因工程的基因芯片、数字表达谱、转录组等生物技术也应该尝试应用到沙棘的抗旱研究中。第五点,沙棘抗旱表现性状是多个基因共同控制的结果,其生理生化指标变化过程是各基因以及基因与环境相互作用、共同调节的结果。因此研究沙棘的抗旱基因应研究多个基因,而不是单纯研究一个基因。第六点,关于沙棘抗旱的蛋白质组学研究为空白,应该加强代谢途径中的关键组份功能分析以及明确连接各个响应通路的信号分子,研究蛋白互作模式。第七点,应结合不同环境胁迫因素开展沙棘抗旱研究。由于极端天气与温室效应的出现,干旱往往伴随其他环境胁迫发生[36]。一般认为干旱伴随其他胁迫出现时会严重影响植物的生长发育,影响程度比单一因子伤害相互严重。在实际实验中,不能忽视这种复合胁迫效应,因此今后应加强干旱与其他环境因子复合胁迫效应对沙棘植株生长发育的影响,以完善沙棘的抗旱机制研究。

基金项目

铁矿废弃地植被恢复技术及其效益评价研究(1218003);沙化土地特色干果类经济林高效栽培及产业化技术与示范(2016YFC0500802-07)。

参考文献

- [1] 蒲光兰,袁大刚,胡学华,等.杏树抗旱性研究[J].西北林学院学报,2005,20(3):40-43.
- [2] 陈立松,刘星辉.水分胁迫对荔枝叶片活性氧代谢的影响[J].园艺学报,1998,25(3):241-246.
- [3] 郭连生,田有亮.八种针阔叶幼树清晨叶水势与土壤含水量的关系及其抗旱性研究[J].生态学杂志,1992,11(2):4-9.

- [4] 王传印, 樊庆军, 辛建华. 樱桃砧木的抗旱性研究[J]. 落叶果树, 2005(3): 4-5.
- [5] 梁珺英. 水分胁迫对桑树苗生长及生理生化特性的影响[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [6] Maes, W.H., Achten, W.M.J., Reubens, B., *et al.* (2009) Plant-Water Relationships and Growth Strategies of *Jatropha curcas* L. Seedlings under Different Levels of Drought Stress. *Journal of Arid Environments*, **73**, 877-884. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.04.013>
- [7] 苏佩, 山仑. 玉米芽期和苗期需水阈值研究[J]. 西北植物学报, 1996, 16(1): 34-37.
- [8] 张云贵, 谢永红, 吴学良, 等. PEG 诱导水分胁迫对柑橘幼苗细胞质膜透性及脯氨酸含量的影响[J]. 果树科学, 1995, 12(1): 25-28.
- [9] 李裕冬, 陈娟, 罗艳. 干旱对 2 种沙棘生长和生理特性的影响[J]. 福建林业科技, 2017, 44(3): 10-15.
- [10] 徐刚. 中国沙棘(*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis*)不同种群对干旱胁迫的响应差异与干旱诱导蛋白的分析[D]: [博士学位论文]. 成都: 中国科学院研究生院(成都生物研究所), 2007.
- [11] 胡学华, 肖千文, 蒲光兰, 等. 经济树木抗旱研究进展[J]. 经济林研究, 2004, 22(4): 82-86.
- [12] Hsiao, T.C. (2003) Plant Responses to Water Stress. *Annals of Botany*, **89**, 801-802.
- [13] 胡建忠. 沙棘的生态经济价值及综合开发利用技术[M]. 郑州: 黄河水利出版社, 2000.
- [14] 吴帅. 中国沙棘种源抗旱性综合评价[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京林业大学, 2017.
- [15] 刘瑞香. 沙棘(*Hippophae*)土著种和外来种对干旱胁迫的生态适应性分析[D]: [博士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2005.
- [16] 裴斌. 土壤水分胁迫对沙棘光合生理生化特性的影响[D]: [硕士学位论文]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [17] Wang, H.H., Kang, J., Zeng, F.H., *et al.* (2001) Effect of Nickel High Concentrations on Growth and Activities of Enzymes of Rice Seedlings. *Acta Agronomica Sinica*, **27**, 953-957.
- [18] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [19] 裴斌, 张光灿, 张淑勇, 等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(5): 1386-1396.
- [20] 刘瑞香, 杨劼, 高丽. 中国沙棘和俄罗斯沙棘在不同土壤水分条件下保护酶系统和丙二醛的变化[J]. 华北农学报, 2006, 21(2): 87-90.
- [21] 刘瑞香, 杨劼, 高丽. 中国沙棘和俄罗斯沙棘叶片在不同土壤水分条件下脯氨酸、可溶性糖及内源激素含量的变化[J]. 水土保持学报, 2005, 19(3): 148-151.
- [22] Wyn Jones, R.G. and Betaines, S.R. (1981) The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press, New York, 172-204.
- [23] 潘亚丽. 水分胁迫下不同种源枫杨幼苗生理特性的研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京林业大学, 2009.
- [24] 侯丽丽. 干旱胁迫下沙棘抗旱生理生化指标变化规律研究[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007.
- [25] Turner, N.C. and Jones, M.M. (1980) Turgor Maintenance By osmotic Adjustment: Review and Evaluation. In: Turner, N.C. and Kramer, P.J., Eds., *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, 87-103.
- [26] Fernandez, R.J., Wang, M. and Reynolds, J.F. (2002) Do Morphological Changes Mediate Plant Responses to Water Stress a Steady-State Experiment with Two C4 Grasses. *New Phytologist*, **155**, 79-88. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00438.x>
- [27] Tarczynski, M.C., Jensen, R.G. and Bohnert, H.J. (1993) Stress Protection of Transgenic Tobacco by Production of the Osmolyte Mannitol. *Science*, **259**, 508-510. <https://doi.org/10.1126/science.259.5094.508>
- [28] Thomas, J.C., Sepahi, M., Arendall, B., *et al.* (1995) Enhancement of Seed Germination in High Salinity by Engineering Mannitol Expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment*, **18**, 801-806. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00584.x>
- [29] 马玉花, 冶贵生, 刘宝尧, 等. 青海野生中国沙棘P5CS基因的扩增及序列分析[J]. 西北林学院学报, 2014, 30(5): 88-91.
- [30] Lilius, G., Holmberg, N. and Bulow, L. (1996) Enhanced NaCl Stress Tolerance in Transgenic Tobacco Expressing Bacterial Choline Dehydrogenase. *Biotechnology*, **14**, 177-180.
- [31] Sakamoto, A. and Alia, M.N. (1998) Metabolic Engineering of Rice Leading to Biosynthesis of Glycinebetaine and Tolerance to Salt and Cold. *Plant Molecular Biology*, **38**, 1011-1019. <https://doi.org/10.1023/A:1006095015717>

-
- [32] 李科友, 朱海兰. 植物非生物逆境胁迫 DREB/CBF 转录因子的研究进展[J]. 林业科学, 2011, 47(1): 124-134.
- [33] 张梅. 植物中 DREB 类转录因子抗逆性相关的功能研究[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东师范大学, 2009.
- [34] 李小婷. 中国沙棘克隆生长调节的基因表达机制[D]: [硕士学位论文]. 昆明: 西南林业大学, 2014.
- [35] 马玉花, 冶贵生, 张亚波, 等. 青海野生中国沙棘 AQP 基因的扩增及序列分析[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(6): 90-93.
- [36] Barnabás, B., Jäger, K. and Fehér, A. (2008) The Effect of Drought and Heat Stress on Reproductive Processes in Cereals. *Plant Cell & Environment*, **31**, 11-38.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org