

第六章 缺水及鹽分對水稻生產之影響

劉麗飛

國立台灣大學農藝系

摘要	88
壹、前言	88
貳、缺水及鹽分對水稻生育的影響	89
參、水稻耐旱與耐鹽的機制	92
肆、水稻耐旱及耐鹽有關的分子記號	95
伍、利用基因轉殖技術增進水稻耐旱及耐鹽能力	95
陸、結語	97
柒、引用文獻	98
英文摘要(ABSTRACT)	103

第六章 缺水及鹽分對水稻生產之影響

劉麗飛

國立台灣大學農藝系

摘 要

影響水稻產量的關鍵大致可歸納於：提高單位面積產量與擴展栽培面積。自綠色革命以來，水稻單位面積產量的變化已逐漸達到平峰，短期內難以突破，而地表仍有大面積土地，具有乾旱與鹽害問題。若能改進水稻耐旱耐鹽能力，則可利用這些土地生產，以增加水稻產量。缺水下水稻植株易表現出葉片捲曲、氣孔關閉等現象，而長期的鹽分處理則會造成 Na 在葉片中累積，抑制光合作用，並加速葉片老化。水稻在生殖生長期對乾旱與鹽分最為敏感，這些逆境均會傷害穗的發育，進而影響到開花與稔實率，降低總產量。水稻各品種耐鹽耐旱能力不同，抵抗這些逆境的機制可歸納為：(一)調整生育時期以逃避乾旱。(二)改變植物體結構，提高用水效率。(三)調節細胞內滲透壓。(四)有效解除離子毒害。這些抗性的機制是透過多基因的作用，並參與複雜的生理反應，故以過去的育種方法所得成果有限。現在可以利用分子生物技術，建立基因輿圖，定位出與耐旱耐鹽有關的量性狀基因座，則可望突破這些限制。近年來也有不少研究，以粒子槍射擊法或農桿菌法等基因轉殖技術，獲得高效率的轉殖水稻。期望能將陸續發現的耐旱耐鹽基因轉入水稻中，以增強水稻的抗逆境能力。

關鍵詞：水稻、缺水、鹽害、滲透壓調節、轉殖水稻。

壹、前言

根據聯合國糧農組織的資料顯示，目前世界人口已將近 56 億，其中約有 27 億以上依賴稻米為主要糧食，由人口成長趨勢來看，在公元 2050 年以後，人口總數可能達到 100 億，食用稻米人口數勢必也會持續增加，因此如何增加稻米的產量是未來將面臨的最大挑戰。

影響產量的因素很多，主要可歸納於兩個方向：提高單位面積產量及擴展栽培面積。回顧 1960 年代發生的綠色革命，

其中水稻是主要改良作物之一，經由育種及栽培技術的改進，大量地施用農藥、肥料、機械化等，非常顯著地提高了水稻單位面積產量，成功地達到增產目的，但是經過三十餘年以來，單位面積產量的變化已逐漸達到平峰的階段，短期內恐怕難有顯著的突破，而且農藥、肥料等的長期施用，卻使土壤、水質等環境惡化，不利於農業的永續經營。反之，如果能夠積極擴展栽培面積，則仍可達到增產的目的。

地球上的土地有限，最適合於農耕的土地幾乎都已經開發，而其他約 5.2%有

乾旱問題，19%有鹽害問題，仍佔有相當大面積，成為作物生產的兩個最大限制因子。水稻方面也不例外，在全世界 1.46 億公頃水稻栽培面積中，卻有一半面積缺乏充足的灌溉，所生產的稻米只能提供全世界稻米產量的四分之一 (Hanson *et al.*, 1990)，因此努力改進水稻耐旱及耐鹽能力，將是擴展水稻栽培面積、提高產量的有效方法。本文係探討水稻在乾旱及鹽分逆境下的生長表現及其抗性機制，並討論如何應用分子生物新技術進行水稻耐旱及耐鹽性之改良。

貳、缺水及鹽分對水稻生育的影響

在田間栽培的環境中，乾旱和鹽分逆境間常發生相互的作用。鹽逆境的影響主要有兩個因子：滲透壓逆境及離子毒害，而乾旱地區除了有滲透壓逆境外，往往因

為抽取地下水灌溉，當水分蒸發後，使鹽分在土壤中累積，同樣產生離子毒害的問題，因此，缺水及鹽逆境對水稻生育的影響在某些方面具有相似性，而水稻也發展出相似的生理機制增加其抗性。

(一) 水稻對缺水的反應

水分是限制作物生產的重要因子，在作物的栽培管理上，常必須考慮作物的需水量，一般的計算方法為：作物需水量 = 水分消耗量 / 乾物產量。

水稻是需水量較高的作物，各品種間有相當大的差異，而且受到環境的影響，在不同光照、溫度、土壤結構、施肥狀態下，水稻的需水量不同。表一是針對不同類群稻在缺水狀況下的需水量，包括較耐旱的陸稻 (upland rice, strong)、較不耐旱的陸稻 (upland rice, weak)、水稻及印度型稻等，分別施以不同程度的缺水處理

Table 1. Varietal differences in water requirement per total dry matter production and per grain yield, and effects of water stresses on the water requirement

Cultivar	Water requirement per total dry matter production (g g ⁻¹)				Water requirement per grain yield (g g ⁻¹)					
	pF			Average	pF			Average		
	1.0	1.4	1.8		1.0	1.4	1.8			
Upland rice (Strong)	Urasan 1	384	356	345	362a	1,261	1,178	1,079	1,173a	
	Sensho	476	361	410	416a	1,347	937	1,288	1,191a	
	Kuni Ichi	509	435	402	449a	1,333	1,160	1,360	1,284a	1,253a
	Hidenshirazu	379	389	383	384a	869	952	2,272	1,364a	
Upland rice (Weak)	Tokyo Shina Mochi	422	418	365	402a	1,335	1,234	1,672	1,414a	
	Akayakan	449	358	352	386a	1,751	1,697	985	1,478a	
	Norin 12	651	401	381	478a	2,102	1,147	1,745	1,665ab	1,604ab
	Norin 21	613	528	335	492a	2,196	1,774	1,608	1,859ab	
Paddy rice	Reimei	359	377	412	383a	806	955	1,104	955a	
	Toyominori	403	373	409	395a	1,334	1,278	1,616	1,409	1,812ab
	Nipponbare	494	383	394	424a	1,673	1,597	1,941	1,737ab	
	Nakate Shinsenbon	497	411	437	448a	1,802	2,353	5,283	3,146bc	
Indica rice	Sankanka	368	456	352	392a	873	1,178	1,230	1,194a	
	Kinandang-puti	404	376	324	368a	1,077	2,032	2,913	2,007ab	2,469b
	Hakkokunen	437	404	340	394a	2,516	2,071	2,933	2,507ab	
	Boushitou	405	413	399	406a	2,585	2,543	7,678	4,269c	
Mean		453b	402a	378a		1,554a	1,506a	2,294b		

(Adapted from Jodo, 1986)

($pF=1.0, 1.4, 1.8$)，結果顯示，若以生產總乾物重的需水量計算，不同類群稻之間沒有明顯差異，而缺水處理，則會降低需水量；但若以生產稻穀的需水量計算，則不同類群稻間有差異存在，以印度型稻需水量最高，值得注意的是，在這種計算下，缺水處理反而會使需水量增加，可能是因為成熟穀粒減少所導致 (Jodo, 1986)。

此外，水稻各生育期的需水量不同，表二是比較 Matsubayashi *et al.*, (1955) 與 Kato *et al.*, (1965) 的試驗結果，雖然

不太一致，但都顯示在抽穗期前後的需水量最低，在穀粒充實後，需水量反而增加，此可能因為在分蘗後期到抽穗期之間，葉片增加提高乾物重，而穀粒充實後期葉片枯萎，減少乾物重，因而影響需水量。

缺水對水稻生育有嚴重的影響，其影響的程度則決定於 (1) 在那一個生育期缺水，(2) 缺水時間長短，及 (3) 缺水的程度等。圖一是剖析缺水對水稻各生育性狀的影響，可以看出各性狀與最終產量的關係。

Table 2. Water requirements at various growth stages of the rice plant

Growth stage	Matsubayashi <i>et al.</i>	Kato <i>et al.</i>
	(1955)	(1965)
Beginning of tillering	1046 g g ⁻¹	274 g g ⁻¹
Panicle formation	464	326
Beginning of heading	410	264
End of heading	232	329
Early period of grain ripening	315	331
Late period of grain ripening	1081	354

整體而言，在缺水環境下，水稻植株最明顯的表現是葉片捲曲 (leaf rolling)，同時氣孔關閉以減少水分的蒸散，老葉會提早枯萎死亡 (O'Toole and Cruz, 1980)。水稻生殖生長期是對缺水最為敏感的時期，在減數分裂時遭遇乾旱，將影響花粉發育，無法累積澱粉，造成雄不稔 (Namuco and O'Toole, 1986; Sheoran and Saini, 1996)，其後嚴重抑制穗由劍葉抽出 (Cruz and O'Toole, 1984; O'Toole and Namuco, 1983)，由於水稻穗的構造不同於葉片，沒有機動性調節水分蒸散的功能，因此即使穗抽出後，亦容易發生脫水及白化現象 (Ekanayake *et al.*, 1989, 1993)，並抑制花藥開裂，及花粉發芽，減低花粉稔實力 (Ekanayake *et al.*, 1990; O'Toole and Namuco, 1983)，最後導致產

量降低。

(二) 水稻對鹽分的反應

水稻是對鹽分敏感的作物，每一個階段的生長與發育都會受鹽分影響，最敏感的時期是幼苗期和開花期。水稻在幼苗期遭遇 NaCl 時，會抑制地上部及根生長，當 NaCl 濃度達 50mM 時，可導致幼苗死亡 (Yeo *et al.*, 1990)。NaCl 主要抑制種子中澱粉水解酵素 (α -amylase) 活性，使胚乳中澱粉無法分解提供幼苗生長所需，若以 GA₃ (gibberellic acid) 處理，可以減輕對地上部生長的抑制 (Lin and Kao, 1995a)，此外也干擾了幼根中氮素代謝，導致鉍離子累積，抑制根之生長 (Lin and Kao, 1996a)。

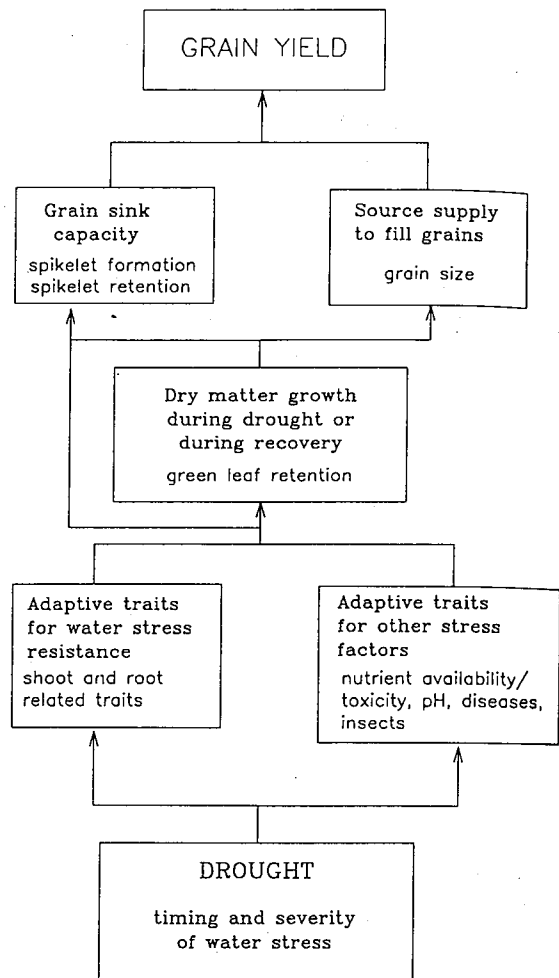


Fig. 1. A flow diagram showing processes of the effect of drought on grain yield, including possible influence of traits associated with drought resistance.
(Adapted from Fukai and Cooper, 1995)

在營養生長期，短時間的鹽分處理對出葉速度、葉長、葉伸展速度、葉片氣體交換等，影響不大，但長時期鹽分處理，則 Na 會在葉片中累積，抑制光合作用，並加速葉片的老化 (Yeo *et al.*, 1990; 1991)。其出現的第一個症狀是細胞膜的通透性改變，造成電解質滲漏，只要經過 7 天的鹽處理，就可以在不同品種間看出其差異性。接著並加速葉綠素及蛋白質的降解，這些變化在老葉中比幼葉明顯 (Lutts *et al.*, 1996)。此外，在高鹽環境下，

水稻老葉會累積較多 Na 及 Cl，幼葉則會累積較多 K (Khatun and Flowers, 1995; Yeo *et al.*, 1985)，造成這種分佈的機制尚不了解，不過幼葉中 Na 與 Cl 含量低，可以減輕對光合作用的損害，特別是劍葉中光合產物轉運到穀粒累積的過程所受影響較小 (Yeo and Flowers, 1985)，因此鹽分造成產量的減少不是因為穀粒充實度的原因。

鹽分對水稻開花期的影響最為顯著，在 50 mM NaCl 處理下，其中滲透壓的作

用會抑制抽穗 (Cruz and O'Toole, 1984; Ekanayake *et al.*, 1989), 而離子的毒害則會造成穗軸變短、花數減少 (Khan *et al.*, 1992; Singh and Sharma, 1993)、延緩開花、減少開花百分比、降低稔實率及穀粒總產量, 但穀粒重量沒有明顯減少 (Khatun and Flowers, 1995 a, b; Lutts *et al.*, 1995)。進一步分析稔實率降低的原因, 發現在花粉及柱頭上 Na 和 Cl 濃度增加, K 濃度減少, 隨著 Na 和 Cl 濃度的提高,

使花粉及柱頭活力下降, 抑制花粉發芽, 影響花粉稔實力 (Khatun and Flowers, 1995 a, b; Lutts *et al.*, 1995)。表三的結果顯示, 水稻植株經 NaCl 處理後, 不論作為父本或母本, 其雜交稔實率都明顯降低, 因此 NaCl 對花粉及柱頭都有影響, 而且有加成的效果 (Khatun and Flowers, 1995), 此種影響可能是造成產量減少最主要的原因。

Table 3. Frequency of seed set (percentage) in crosses between plants of the rice cultivar IR36 grown at 0, 10 and 25 mol m⁻³ NaCl in artificial sea water

Cross (female×male)	Frequency of seed set/panicle of each cross		Percent seed set comparing to 0×0 combination
0×0	41.5	(9.6)	100
0×10	37.2	(11.0)	89.6
0×25	33.1	(12.5)	80.3
10×0	25.7	(9.8)	62.0
10×10	23.4	(11.3)	56.3
10×25	22.4	(10.2)	54.0
25×0	11.3	(7.6)	28.1
25×10	10.0	(7.5)	23.0

The frequency of seed setting is calculated from an average for 20 panicles. Values within parenthesis are standard deviations.

(Adapted from Khatun and Flowers, 1995)

參、水稻耐旱與耐鹽的機制

水稻品種間對於缺水及鹽分逆境的反應有很大的差別, 藉由不同品種間的比較, 可以得知水稻耐旱與耐鹽的機制, 大致可分為以下幾個方向:

(一) 調整生育時期以逃避乾旱:

水稻對乾旱最敏感的時期是在生殖生長期, 因此調整花期是最有效的方法。例如提早成熟, 能在乾旱來臨之前完成開花結實, 生長期縮短也可以減少水分的利用。相反的策略, 則可以延遲花芽分化, 待乾旱結束後再開花結實 (Blum, 1988;

Fukai and Cooper, 1995)。

(二) 改變植物體結構, 提高用水效率:

根部是負責水分及鹽分吸收最重要的器官, 其型態及生理特性均會影響植株的用水效率及最終的產量 (Ekanayake *et al.*, 1985)。由表四中可以看出印度型稻及日本型稻有不同的根部特性, 這些特性中, 並非全部都與耐旱性有關, 一般認為, 理想的根系必須具備以下的特徵: 根數目較少但粗壯, 可穿過緊密土壤深入土層, 因此導管較粗, 有利於水分吸收及運送 (Yambao *et al.*, 1992), 同時可形成較多較大的分枝根, 增加根長密度 (RLD: root length density) (Fukai and Cooper, 1995;

Ingram *et al.*, 1994; Yu *et al.*, 1995)。在灌水栽培狀況下，耐旱性與 10-30cm 土層中，根的 RLD 呈正相關，但是在旱田栽培下，耐旱性則與根總長(TRL: total root length)呈正相關(Ingram *et al.*, 1994)。此外，具有耐旱根系的植株，其地上部的分蘗數亦較少(Blum and Ritchie, 1984)。

地上部的變化主要是減少葉片面積，以減少水分總蒸散量，因此耐旱品種的地

下部/地上部乾重比值較大，這個比值也可以作為耐旱的指標之一(Blum, 1988; Nguyen *et al.*; 1997)。與其他較耐旱的植物相比，水稻葉表面蠟質(epicuticular wax: EW)較少，因此即使氣孔關閉後，水分仍會由表皮層蒸散。水稻品種間 EW 的變異大，而 EW 高的品種，可以在乾旱下使葉片保持較長時間的膨壓，達到耐旱的效果(Haque *et al.*, 1992; Nguyen *et al.*, 1997)。

Table 4. Root traits shewing genetic variation in rice

Diameter/thickness	}	Japonica>Indica
Water extraction		
Maximum depth		
Deep root-shoot ratio		
Xylem vessel diameter	}	0-10 cm, Indica>Japonica
Root dry weight		
Thick root number	}	below 30 cm, Japonica>Indica
Branching		
Number		
		Indica>Japonica

(Adapted from Ingram *et al.*, 1994)

(三) 調節細胞內滲透壓：

一般植物在缺水或鹽分逆境下，細胞會進行滲透壓調節 (osmotic adjustment: OA)，亦即累積滲透物質，例如各種糖類或糖醇 (mannitol, fructans, trehalose 等)，有機酸、胺基酸或其衍生物 (proline, glycine betaine 等)，可以作為滲透壓保護或調節物質，維持細胞內 (Gupta and Berkowitz, 1987) 及葉綠體內 (Robinson, 1987) 的滲透勢及體積；進一步維持正常的生長及光合作用 (Downton, 1983; Seemann *et al.*, 1986)。關於這方面的探討，近年來有許多相當完整的綜合報告可以參考 (Bohnert and Jensen, 1996; Bray, 1997; Hare *et al.*, 1998; Ingram and Bartels, 1996; Zhu *et al.*, 1997)，這些愈來愈多的研究顯示：OA 是植物抵抗逆境的重要機

制之一。

Lilley and Ludlow 曾分析 61 個水稻品種，發現不同品種間致死滲透勢 (lethal osmotic potential: $\psi_{\pi \text{ lethal}}$) 差異很大 (圖二)，其中 17 個品種耐旱力較差 ($\psi_{\pi \text{ lethal}} > -6$ MPa)，幾乎都是日本型稻。不同品種間 OA 的差距亦很大，由 0.3 到 1.7 MPa (mega pascal)。水稻 OA 的正常範圍在 0.3 - 0.5 MPa，當 MPa 大時，表示有較強的滲透壓調節能力，可促使水分由細胞外進入細胞內，因此使植株較能耐旱。一般而言，印度型稻 OA 較高，耐旱力也較佳，日本型稻的 OA 則較低 (Lilley and Ludlow, 1996)。目前還沒有試驗針對 OA 與水稻穀粒產量間的關係進行分析，不過由少數品種的表現確實可以顯示二者關係密切，例如 IR52 有極低的致死滲透勢，其產量則最高，在各項乾旱處理試驗中的表現亦

最佳 (Garrity and O'Toole, 1994), 日本型稻中則以 IRAT13 為最佳。未來仍迫切需要探討 OA 和產量間的關係, 以了解此一

性狀是否可作為耐旱及耐鹽育種之參考指標 (Fukai and Cooper, 1995)。

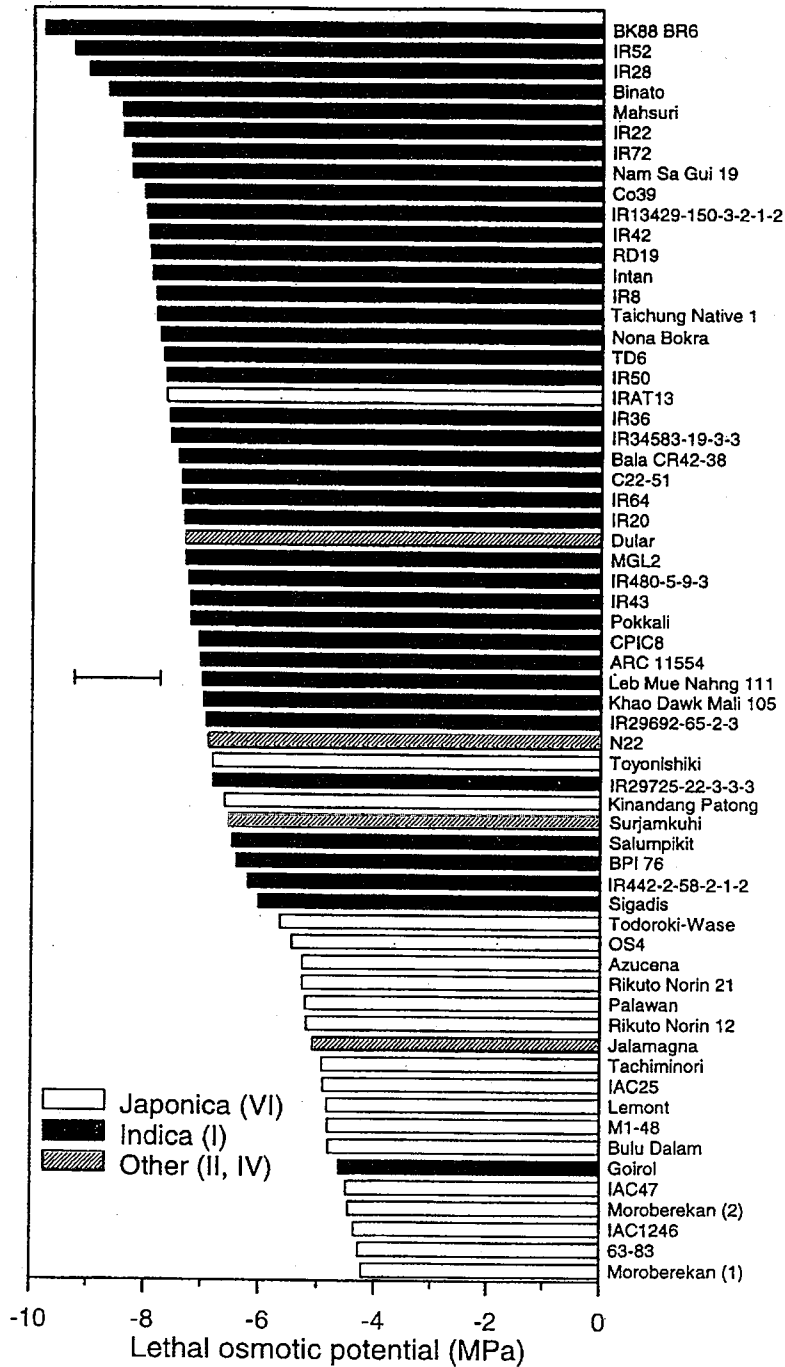


Fig. 2. Range in lethal osmotic potential (MPa) for 61 diverse rice lines. Isozyme grouping for each line is shown. Horizontal bar show LSD ($p=0.05$).

(Adapted from Lilley and Ludlow, 1996.)

水稻究竟累積哪些滲透壓物質提供 OA？目前有關的研究尚不多，比較確定的是，缺水及鹽分均導致水稻葉片中累積 proline (Dingkuhn *et al.*, 1991; Lin and Kao, 1996b; Roy *et al.*, 1992)，但是 proline 與耐旱及耐鹽力的關係仍未完全確定。外加 proline 處理，雖然可以減輕鹽對水稻幼苗生長的抑制，但會更抑制根的生長 (Lin and Kao, 1995b)。另外已知水稻葉片不會累積 glycine betaine，早期認為是因為水稻沒有 choline monooxygenase (CMO) 和 betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) 酵素 (Rathinasabapathi *et al.*, 1993)。但後來發現水稻中是有 BADH 基因的，其蛋白質位於 peroxisome 內，因此可能只是因為缺乏 CMO 基因 (Nakamura *et al.*, 1997)。至於水稻是否會累積其他的滲透壓物質，目前尚沒有相關的報告，甚值得進一步探討。

(四) 有效解除離子毒害：

乾旱地區及鹽分地均有離子毒害的問題，主要是 NaCl，若要解除其毒害，不是單一因素能夠達成，而是必須由多方面的因素共同作用，包括 (1) 限制 NaCl 的吸收及運轉：主要是降低 NaCl 通過根細胞膜及細胞間質的速度，並限制其轉運到地上部累積。(2) 有效控制 NaCl 在組織間的分佈，使 NaCl 主要集中在老葉部分，而不傷到幼葉。(3) 組織對 NaCl 的耐性不同，可以忍受不同程度 NaCl 的累積。以上這些特性會決定水稻是否可以耐鹽，同時地上部 Na 及/或 Cl 的累積可以作為耐鹽篩選指標 (Ramani and Kannan, 1986; Yan *et al.*, 1992; Yeo *et al.*, 1986)。

上述的各個抗性機制，在水稻中的表現均非常複雜，不同生育期對缺水及鹽的反應亦不一致，在某一生育期可耐旱或耐鹽，並不意味其他生育期亦有相同耐性，不同品種間更有極大差異，因此各品種仍必須針對每一個生育期分別測試其耐性。

肆、水稻耐旱及耐鹽有關的分子記號

水稻耐旱及耐鹽的性狀都是由多基因控制，所參與的生理反應亦非常複雜，因此過去在耐旱及耐鹽的育種方面成果較為有限。現在由於分子生物學的發展，有許多新的技術，將可突破這些限制。其中一項就是建立與耐旱耐鹽有關的量性狀基因座 (Quantitative trait loci : QTLs)，如果能找出有關的基因，並將基因定位，則將可有利於未來發展 MAS (marker-assisted selection) 育種。

目前水稻已經有很好的分子連鎖圖，平均大約 0.9 cM (centi Morgan) 就有一個標記 (McCouch and Doerge, 1995)，非常適合用來做基因的定位。這幾年研究進展迅速，特別是與耐旱有關的 QTLs，主要是利用 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 定位，所涉及的植株性狀包括根的型態、根穿透力、根生長、葉片氣孔導度及滲透壓調節等(表五)。這些初步的成果相當引人注意。除了水稻以外，其實在其他作物，例如蕃茄、玉米、大麥、高粱等也都有類似的研究，可以互相印證結果的正確性，此外，未來更需要找出這些性狀與抽穗早晚、稔實力、產量等性狀的連鎖關係，以提供育種者利用。

伍、利用基因轉殖技術增進水稻耐旱及耐鹽能力

雖然水稻品種間耐旱與耐鹽能力差異很大，但是用來進行育種的成效不多，少數的試驗則嘗試以生理上的處理來調整水稻耐旱及耐鹽能力。例如在種子發芽時期，外加 putrescine 處理可以減輕 NaCl 對發芽的抑制 (Lin and Kao, 1994)。對於營養生長期中處於鹽逆境下的葉片噴施二元胺 putrescine，亦可以促進植株生長，增加穀粒產量 (Krishnamurthy, 1991)。對葉面噴施細菌 *Klebsiella* sp. 亦有助於在

乾旱下生長，此菌種可產生植物生長調節劑，因此噴施 IAA、Kinetin 與 GA 等植物生長調節劑亦可得到類似的結果 (Razi and Sen, 1996)，不過田間噴施處理極易受到環境的影響，效果並不穩定。

近年來，水稻基因轉殖技術有顯著的進步，不論以粒子槍射擊法 (Christou, 1997) 或農桿菌法 (Chan *et al.*, 1993) 都

可以得到高效率的轉殖水稻再生，同時，分子生物學的發展也使得愈來愈多有用基因被分離出來。其中包括很多受缺水及鹽調控的基因。研究者有相當高度的興趣將這些基因轉殖到水稻中，期望了解是否能藉此增進水稻的耐旱及耐鹽能力。目前已經有報告發表的轉殖基因包括以下幾類 (表六)：

Table 5. Summary of QTLs rated to drought resistance in rice

Trait	No. of QTLs	Effects
Root morphology	18	Root thickness
	16	Root/shoot ratio
	12	Root dry wt per tiller
(Champoux <i>et al.</i> , 1995)		
Root penetration ability	4	No. of deep-penetrating root
	6	Root penetration index
	19	Total root no.
	10	Tiller no.
(Ray <i>et al.</i> , 1996)		
Root growth	1	Root length at 28 days of growth (DAG)
	vary	QTLs at 3,7,14 & 21DAG, QTLs vary with developmental stage.
	1	Root volume
	2	Adventitious root thickness
(Price <i>et al.</i> , 1997)		
Leaf & stomatal conductance	1	Leaf rolling
	2	Stomatal conductance
	2	Rate of stomatal closure
	3	Date of heading
(Price <i>et al.</i> , 1997)		
Osmotic adjustment and dehydration tolerance	1 (major locus)	Osmotic adjustment
	5	Dehydration tolerance
(Lilley <i>et al.</i> , 1996)		

Table 6. Expression of novel genes conferring stress resistance in transgenic rice

Gene	Enzyme/protein	Source	Response	Reference
<i>HVA1</i>	LEA group	Barley	Drought/salt	Xu <i>et al.</i> , 1996
<i>P5CS</i>	Δ -pyrroline-5-carboxylate synthase	Mothbean	Drought/salt	Zhu <i>et al.</i> , 1998
<i>CodA</i>	Choline oxidase	<i>A. globiformis</i>	Drought/salt/temperature	Sakamoto <i>et al.</i> , 1998
<i>ADC</i>	Arginine decarboxylase	Oat	Drought	Capell <i>et al.</i> , 1998

- (1) *HVA1*：是在大麥糊粉層中表現，並受 ABA 誘導的基因，為第三群 LEA (late embryogenesis abundant) 蛋白質，可以保護種子免受缺水傷害，但是確實的功能尚未完全了解。經轉殖到水稻後，在葉片及根部累積，使水稻在 200 mM 高鹽份或缺水情況下，生長優於未轉殖的對照組水稻。
- (2) *P5CS* (Δ -pyrroline-5-carboxylate synthase)：是控制 proline 合成的主要酵素。將 *P5CS* 接到 ABA 調控的基因啟動子後面，得到的轉殖水稻，可在缺水逆境下累積 proline，約為對照植株的 167–252 %。
- (3) *Coda* (choline oxidase)：是控制 glycine betaine 合成的主要酵素。水稻中沒有這個酵素，因此不會合成 glycine betaine。Sakamoto 等人將 *Coda* 基因轉入水稻，並且做了兩種設計，分別將基因產物在葉綠體或細胞質中表現，結果在細胞質中表現者累積較多 glycine betaine，約為葉綠體中表現者之 5 倍，但是後者對於鹽、低溫等逆境所產生之光抑制有較佳的效果。
- (4) *ADC* (arginine decarboxylase)：是多元胺合成過程中第一個反應的酵素，將 arginine 合成二元胺、putrescine。

此外，有更多基因已經轉殖到菸草、阿拉伯芥等植物中，其中部分基因主要參與滲透壓調節物質之合成，例如 trehalose, mannitol, fructan 等；部份基因參與 Na/K 離子轉運、表皮層腊質合成、及超氧逆境等生理作用，均証實能夠增加植物耐旱耐鹽能力 (Blum *et al.*, 1996; Holmberg and Bulow, 1998)。可以預期的是，這些基因必定也會用來轉殖水稻，對於水稻性狀的改良提供更多的選擇性。

轉殖基因的策略，並非解決耐旱耐鹽問題的萬靈丹，實際上仍有很多問題需要加以深思，並不斷地改進。首先這些轉殖基因在水稻中大量表現後，雖然可以幫助

水稻抵抗乾旱及鹽逆境，但也可能干擾水稻之正常生長，因此現在已經開始改用誘導型啟動子(inducible promoter)，可以控制基因在適當的情況下表現。例如，將基因接在受缺水誘導的啟動子之後，轉殖到水稻中，則在正常生長狀況下基因不會表現，只有遇到缺水逆境時才會大量表現，以盡量避免對水稻的干擾 (Su *et al.*, 1998)。其次，有許多新的設計可以用來控制轉殖基因拷貝數及基因插入水稻染色體組內的位置，並且改進轉殖基因靜默 (gene silencing) 的問題，增加轉殖基因遺傳穩定性等 (Kohli *et al.*, 1998)。由於要改進的植物性狀非常複雜，是由多數基因共同控制，是否可以同時轉殖並調控數個基因的表現，也是非常具有挑戰性的問題。最近已經有報告指出可將 14 個基因同時進行轉殖，結果 85%的轉殖水稻可以有 2 個以上的轉殖基因，17%的轉殖水稻可以有 9 個以上的轉殖基因，相當具有突破性 (Chen *et al.*, 1998)。預期這些新的技術都將成為水稻耐旱耐鹽的育種帶來創新的成果。

陸、結 語

缺水及鹽害是限制水稻栽培的兩個重要因子，對於水稻整個生育期間及各器官組織都有不同的影響，其抗性機制極為複雜，而且牽涉到許多基因作用。過去傳統的育種方式，對於水稻耐旱及耐鹽性的改良效果有限，現在藉由分子生物技術發展，則可以將有關的基因定位，並選殖出來，了解基因的結構與其表現之調控，進一步轉殖到水稻中增強水稻的功能。與其他各種環境逆境的研究相比較，可以發現分子生物技術應用於耐旱及耐鹽性進展最為迅速，主要因為滲透壓調節作用比較容易透過基因操作而改變，並且效果顯著。未來的研究方向則會更擴展到多基因的操作，並嘗試調控更複雜的抗性機制，為水

稻耐旱與耐鹽性改進帶來突破性的發展。

柒、引用文獻

- Aslam, M., R. H. Qureshi and N. Ahmed. 1993. A rapid screening technique for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil* 150: 99-107
- Blum, A., 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Blum, A. and J. T. Ritchie. 1984. Effect of soil surface water content on sorghum root distribution in the soil. *Field Crops Res.* 8: 169-176.
- Blum, A., R. Munns, J. B. Passioura, N. C. Turner, R. E. Sharp, J. S. Boyer, H. T. Nguyen and T. C. Hsiao. 1996. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: how to interpret osmotic relations ?. *Plant Physiol.* 110: 1051-1053.
- Bohnert, H. J. and R. G. Jensen. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotech.* 14: 89-97.
- Bray, E. A. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends in Pl. Sci.* 2: 48-54.
- Capell, T., C. Escobar, H. Liu, D. Burtin, O. Lepri and P. Christou. 1998. Over-expression of the oat arginine decarboxylase cDNA in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) affects normal development patterns in vitro and result in putrescine accumulation in transgenic plants. *Theor. Appl. Genet.* 97: 246-254.
- Champoux, M. C., G. Wang, S. Sarkarung, D. J. Mackill, J. C. O'Toole, N. Huang and S. R. McCough. 1995. Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 90: 969-981.
- Chan, M. T., H. H. Chang, S. L. Ho, W. F. Tong and S. M. Yu. 1993. *Agrobacterium*-mediated production of transgenic rice plants expressing a chimeric α -amylase promoter/ β -glucuronidase gene. *Plant Mol. Biol.* 22: 491-506.
- Chen, L., P. Marmey, N. J. Taylor, J. P. Brizard, C. Espinoza, P. D'Cruz, H. Huet, S. Zhang, A. Kochko, R. N. Beachy and C. M. Fauquet. 1998. Expression and inhibition of multiple transgenes in rice plants. *Nature Biotechnology* 16: 1060-1064.
- Christou, P. 1997. Rice transformation: bombardment. *Plant Mol. Biol.* 35: 197-203.
- Cruz, R. T. and O'Toole J. C. 1984. Dryland rice response to an irrigation gradient at flowering stage. *Agron. J.* 76: 178-187.
- De Datta, S. K., J. A. Malabuyoc and E. L. Aragon. 1988. A field screening technique for evaluating rice germplasm for drought tolerance during the vegetative stage. *Field Crops Res.* 19: 123-134.
- Dingkuhn, M., R. T. Cruz, J. C. O'Toole, N. C. Turner and K. Doerffling. 1991. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficits. III. Accumulation of abscisic acid and proline in relation to leaf water potential and osmotic adjustment. *Field Crops Res.* 27: 103-117.
- Downton, W. J. S. 1983. Osmotic adjustment during water stress protects the photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Plant Sci. Lett.* 30:

- 137-143.
- Ekanayake, I. J., J. C. O'Toole, D. P. Garrity and T. M. Masajo. 1985. Inheritance of root characters and their relations to drought resistance in rice. *Crop Sci.* 25: 927-933.
- Ekanayake, I. J., S. K. De Datta and P. L. Steponkus. 1989. Spikelet sterility and flowering response of rice to water stress at anthesis. *Annals of Botany* 63: 257-264.
- Ekanayake, I. J., S. K. De Datta and P. L. Steponkus. 1993. Effect of water deficit stress on diffusive resistance, transpiration, and spikelet desiccation of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 72: 73-80.
- Ekanayake, I. J., P. L. Steponkus and S. K. De Datta 1990. Sensitivity of pollen to water deficits at anthesis in upland rice. *Crop Sci.* 30: 310-315.
- Fukai, S. and M. Cooper. 1995. Review: Development of drought-resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. *Field Crops Res.* 40: 67-86.
- Garrity, D. P. and J. C. O'Toole. 1994. Screening rice for drought resistance at the reproductive stage. *Field Crops Res.* 39: 99-110.
- Gupta, A. S. and G. A. Berkowitz. 1987. Osmotic adjustment, symplast volume, and nonstomatally mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiol.* 85: 1040-1047.
- Hanson, A. D., W. J. Peacock, L. T. Evans, C. J. Arntzen and G. S. Khush. 1990. Drought resistance in rice. *Nature* 345: 26-27.
- Haque, M. M., D. J. Mackill and K. T. Ingram. 1992. Inheritance of leaf epicuticular wax content in rice. *Crop Sci.* 32: 865-868.
- Hare, P. D., W. A. Cress and J. van Staden. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment* 21: 535-553.
- Holmberg, N. and L. Bulow. 1998. Improving stress tolerance in plants by gene transfer. *Trends in Pl. Sci.* 3: 61-66.
- Ingram, J and D. Bartels. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu. Rev. Pl. Physiol. Pl. Mol. Biol.* 47: 377-403.
- Ingram, K. T., F. D. Bueno, O. S. Namuco, E. B. Yambao and C. A. Beyrouy. 1994. Rice root traits for drought resistance and their genetic variation. p.67-77. In G. J. D. Kirk (ed) *Rice roots: Nutrient and water use*. IRRI, Manila, Philippines.
- Jodo, S. 1986. Eco-physiological studies on crop water relations and stomatal characteristics. *Memoirs College Agri. Ehime Univer.* 31: 1-130. (Japanese)
- Kato, I., Y. Naito, R. Taniguchi and F. Kamota. 1965. Studies on the amount of evapotranspiration of crops. 2. On the amount of transpiration of paddy rice plants grown in paddy field and upland field conditions. *Bull. Tokai-Kinki Nat. Agri. Exp. Sta.* 12: 39-63 (Japanese)
- Khan, H. R., F. Y. Khwaja, A. Tadashi and A. Iajuddin. 1992. Effects of gypsum, Zn and intermittent saline irrigation on the growth, yield and nutrition of rice plants grown in a saline soil. *Soil Science and Plant Nutrition* 38: 421-431.
- Khatun, S. and T. J. Flowers. 1995. Effects of salinity on seed set in rice. *Plant,*

- Cell and Environment 18: 61-67.
- Kohli, A., M. Leech, P. Vain, D. A. Laurie and P. Christou. 1998. Transgene organization in rice engineered through direct DNA transfer supports a two-phase integration mechanism mediated by the establishment of integration hot spots. National Academy of Sciences of USA 95: 7203-7208.
- Krishnamurthy, R. 1991. Amelioration of salinity effect in salt tolerant rice (*Oryza sativa* L.) by foliar application of putrescine. Plant Cell Physiol. 32: 699-703.
- Lilley, J. M. and M. M. Ludlow. 1996. Expression of osmotic adjustment and desiccation tolerance in diverse rice lines. Field Crops Res. 48: 185-197.
- Lilley, J. M., M. M. Ludlow, S. R. McCouch, M. C. Champoux and J. C. O'Toole. 1996. Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. J. Expt. Bot. 47: 1427-1436.
- Lin, C. C. and C. H. Kao. 1994. NaCl stress in rice seedling: effect of exogenous polyamines on seedling growth. Chinese Agron. J. 4: 167-171.
- Lin, C. C. and C. H. Kao. 1995a. NaCl stress in rice seedlings: Starch mobilization and the influence of gibberellic acid on seedling growth. Bot. Bull. Acad. Sin. 36: 169-173.
- Lin, C. C. and C. H. Kao. 1995b. NaCl stress in rice seedlings: effects of L-proline, glycinebetaine, L- and D-asparagine on seedling growth. Biologia Plantarum 37: 305-308.
- Lin, C. C. and C. H. Kao. 1996a. Disturbed ammonium assimilation is associated with growth inhibition of roots in rice seedlings caused by NaCl. Plant Growth Regulation 18: 233-238.
- Lin, C. C. and C. H. Kao. 1996b. Proline accumulation is associated with inhibition of rice seedling root growth caused by NaCl. Plant Sci. 114: 121-128.
- Ludlow, M. M. and R. C. Muchow. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. Adv. Agron. 43: 107-153.
- Lutts, S., J. M. Kinet and J. bouharmont. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal of Experimental Botany 46: 1843-1852.
- Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany 78: 389-398.
- Matsubayashi, M., K. Kaminuma and S. Murakami. 1955. Studies of water economy in crop plants. 1. The relationship between temperature and water economy in oats and upland rice. Proc. Crop Sci. Soc. Japan. 23: 239-240. (Japanese)
- McCouch, S. R. and R. W. Doerge. 1995. QTL mapping in rice. Trends in Genetics 11: 482-487.
- Nakamura, T., S. Yokota, Y. Muramoto, K. Tsutsui, Y. Oguri, K. Fukui and T. Takabe. 1997. Expression of a betaine aldehyde dehydrogenase gene in rice, a glycinebetaine nonaccumulator, and possible localization of its protein in peroxisomes. The Plant Journal 11: 1115-1120.
- Namuco, O. S. and J. C. O'Toole. 1986.

- Reproductive stage water stress and sterility. I. Effect of stress during meiosis. *Crop Sci.* 26: 317-321.
- Nguyen, H. T., R. C. Babu and A. Blum. 1997. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Sci.* 37: 1426-1434.
- O'Toole, J. C. and R. T. Cruz. 1980. Response of leaf water potential, stomatal resistance, and leaf rolling to water stress. *Plant Physiol.* 65: 428-432.
- Price, A. H. and A. D. Tomos. 1997. Genetic dissection of root growth in rice (*Oryza sativa* L.). II: mapping quantitative trait loci using molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 95: 143-152.
- Quarrie, S. A., D. A. Laurie, J. Zhu, C. Lebreton, A. Semikhodskii, A. Steed, H. Witsenboer and C. Calestani. 1997. QTL analysis to study the association between leaf size and abscisic acid accumulation in droughted rice leaves and comparisons across cereals. *Plant Molecular Biology* 35: 155-165.
- Ramani, S. and S. Kannan. 1986. Absorption and transport of Na and Cl in rice cultivars differing in their tolerance to salinity: An examination of the effects of ammonium and potassium salts. *J. Plant Nutrition* 9: 1153-1156.
- Rathinasabapathi, B., D. A. Gage, D. J. Mackill and A. D. Hanson. 1993. Cultivated and wild rices do not accumulate glycinebetaine due to deficiencies in two biosynthetic steps. *Crop Sci.* 33: 534-538.
- Ray, J. D., L. Yu, S. R. McCouch, M. C. Champoux, G. Wang and H. T. Nguyen. 1996. Mapping quantitative trait loci associated with root penetration ability in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 92: 627-636.
- Razi, S. S. and S. P. Sen. 1996. Amelioration of water stress effects on wetland rice by urea-N, plant growth regulators, and foliar spray of a diazotrophic bacterium *Klebsiella* sp. *Biol. Fertil. Soils.* 23: 454-458.
- Robinson, S. 1987. The role of osmotic adjustment in maintaining chloroplast volume during stress. *Curr. Topics Plant Biochem. Physiol.* 6: 74-87.
- Roy, D., A. Bhunia, N. Basu and S. K. Banerjee. 1992. Effect of NaCl-salinity on metabolism of proline in salt-sensitive and salt-resistance cultivars of rice. *Biol. Plant* 34: 159-162.
- Sakamoto, A., P. Alia, P. Deshniem, H. Hayashi and N. Murata. 1996. Genetic engineering of salt tolerance in rice. *Plant Cell Physiol.* 37: 71.
- Sakamoto, A., Alia and N. Murata. 1998. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold. *Plant Molecular Biology* 38: 1011-1019.
- Seemann, T. R., W. J. S. Downton and J. A. Berry. 1986. Temperature and leaf osmotic potential as factors in the acclimation of photosynthesis to high temperature in desert plants. *Plant Physiol.* 80: 926-930.
- Sheoran, I. S. and H. S. Saini. 1996. Drought-induced male sterility in rice: changes in carbohydrate levels and enzyme activities associated with the inhibition of starch accumulation in pollen. *Sex Plant Report* 9: 161-169.
- Singh, K. N. and D. K. Sharma. 1993. Effect

- of seedling age and nitrogen levels on yield of rice on a sodic soil. *Field Crop Res.* 31: 307-317.
- Su, J., Q. Shen, T. H. D. Ho and R. Wu. 1998. Dehydration-stress-regulated transgene expression in stably transformed rice plants. *Plant Physiol.* 117: 913-922.
- Turner, N. C., J. C. O'Toole, R. T. Cruz, E.B. Yambao, S. Ahmad, O. S. Namuco and M. Dingkhun. 1986. Response of seven diverse rice cultivars to water deficits. II. Osmotic adjustment, leaf elasticity, leaf extension, leaf death, stomatal conductance, and photosynthesis. *Field Crops Res.* 13: 273-286.
- Xu, D., X. Duan, B. Wang, B. Hong, T. H. D. Ho and R. Wu. 1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene HVA 1 from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol.* 110: 249-257.
- Yambao, E. B., K. T. Ingram and J. G. Real. 1992. Root xylem influence on the water relations and drought resistance of rice. *Journal of Experimental Botany* 43: 925-932.
- Yan, X., S. Zheng and Y. Kuang. 1992. Rice genotypes differing in salt tolerance II. Short-term kinetics of NaCl absorption and translocation in intact plants. *Journal of Plant Nutrition* 15: 2667-2678.
- Yeo, A. R. and T. J. Flowers. 1985. The absence of an effect of the Na/Ca ration on NaCl uptake by rice. *New Phytol.* 99: 81-90.
- Yeo, A. R. and T. J. Flowers. 1986. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 161-173.
- Yeo, A. R., K. S. Lee, P. Izard, P. J. Bousier and T. J. Flowers. 1991. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany* 42: 881-889.
- Yeo, A. R., M. E. Yeo, S. A. Flowers and T. J. Flowers. 1990. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance. *Theor. Appl. Genet.* 79: 377-384.
- Yu, L. X., J. D. Ray, J. C. O'Toole and H. T. Nguyen. 1995. Use of wax-petrolatum layers for screening rice root penetration. *Crop Sci.* 35: 684-687.
- Zhu, B., J. Su, M. Chang, D. P. S. Verma, Y. L. Fan and R. Wu. 1998. Overexpression of a Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water- and salt-stress in transgenic rice. *Plant Sci.* 139: 41-48.
- Zhu, J. K., P. M. Hasegawa and R. A. Bressan. 1997. Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Critical Rev. in Pl. Sci.* 16: 253-277.

Chapter 6 Effects of Drought and Salt Stress on Rice Production

Li-Fei Liu

Department of Agronomy, National Taiwan University,
Taipei, Taiwan 106, R.O.C.

ABSTRACT

Drought and salt stress are two major constraints to rice production and yield stability in many regions on earth. In general, rolled leaves and closed stomata were easily found under drought stress. Accumulation of Na, decreasing of photosynthesis and enhancing of senescence were also found when plants were subjected to salt stress. Rice plant is most sensitive to both stress during reproductive stage. Loss of grain set and yield is tightly associated with the failure of panicle to exsert from the flag leaf, the reduced floret number and the lower pollen fertility. Several drought / salt-resistance mechanisms have been identified for rice: (1) drought escape via appropriate phenology, (2) moderated water-use through morphological changes, (3) the capacity for osmotic adjustment, and (4) efficiently devoid the ion toxicity. In the past, the breeding for both stress tolerance was slowly progressed because the complexity and the involvement of multi genes in drought / salt-resistance. However, recent development of molecular linkage markers for root traits and osmotic adjustment as well as transgenic techniques offer new opportunities for drought / salt-resistance breeding.

Key words: Rice, Drought, Salt stress, Osmotic adjustment, Transgenic rice.