

# 植物耐盐机制的研究进展\*

## MECHANISM OF SALT STRESS TOLERANCE IN PLANTS

孙兰菊 岳国峰 王金霞 周百成

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

高盐环境严重地影响植物的生长和发育,是造成作物减产的主要原因之一。随着世界范围内可耕地日趋减少以及盐碱、干旱状况的日趋严重,研究植物耐盐胁迫的分子机制,从而寻找有效改进植物耐盐性的方法,已经引起人们广泛的关注<sup>[7]</sup>。以往的研究已经发现,盐胁迫会诱发植物体内多种结构和功能的改变,以利于植物适应新环境。近年来,分子生物学、基因工程技术、膜片钳技术、突变体筛选等研究方法的应用,使人们对植物耐盐分子机制有了进一步的了解<sup>[1,2,7]</sup>。这些工作为运用基因工程手段培育耐盐作物品种提供了有用信息。本文主要介绍近几年来在植物耐盐机制方面的研究进展。

### 1 降低离子在胞内的积累

高盐胁迫对植物造成的主要伤害是细胞质中 $\text{Na}^+$ 的大量积累,它会破坏细胞内离子平衡并抑制细胞内生理生化代谢过程。因而降低细胞质 $\text{Na}^+$ 积累是植物提高耐盐性的一条重要途径。植物阻止 $\text{Na}^+$ 积累有以下几种途径:限制根对 $\text{Na}^+$ 吸收和向地上部的运输;将离子多价螯合于液泡中;或通过质膜将离子排出等。

#### 1.1 离子吸收与质膜离子通道

盐胁迫下,植物质膜 $\text{K}^+$ 通道对于 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 的通透性降低,在一定程度上减少了 $\text{Na}^+$ 向胞内转运。Nu等认为,植物细胞提高耐盐性的一个策略就是牺牲

$\text{K}^+$ 的吸收来换取 $\text{Na}^+$ 积累的减少。植物盐适应细胞以及抗盐突变体质膜 $\text{K}^+$ 通道、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 通透性降低很可能是植物细胞对盐胁迫的一种适应机制。Murata等<sup>[15]</sup>通过对盐适应烟草细胞的研究,认为在盐胁迫造成质膜去极化的情况下,质膜外整流 $\text{K}^+$ 离子通道是细胞 $\text{Na}^+$ 和 $\text{K}^+$ 被动运输的主要途径,并且质膜上 $\text{K}^+$ 离子通道活性的改变是烟草细胞盐适应机制的组分之一。郭房庆等对 $\text{K}^+$ 离子通道开放特性的研究发现,盐胁迫下小麦耐盐突变体和野生型 $\text{K}^+$ 离子通道的单通道的电导性基本一致,对 $\text{K}^+$ / $\text{Na}^+$ 的选择性差异也不显著<sup>[4]</sup>。质膜 $\text{K}^+$ 通道通透性降低主要是由于单通道的开放频率的减少引起的。

钙被普遍认为能够缓解盐胁迫对于植物生长和植物细胞的伤害作用。Murata等发现,外源 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的升高使去极化导致的外向整流细胞流(Outward whole-cell current)降低,而内源 $\text{Ca}^{2+}$ 和外源 $\text{Mg}^{2+}$ 浓度的升高则无明显影响<sup>[15]</sup>。并且 $\text{Ca}^{2+}$ 并不影响外整流 $\text{K}^+$ 通道的 $\text{K}^+$ / $\text{Na}^+$ 选择性或单通道传导性,所以认为 $\text{Ca}^{2+}$ 调节 $\text{K}^+$ 通道是由于 $\text{Ca}^{2+}$ 与质膜外表面通道蛋

\* 中国科学院重点项目 KY95-J1-326 号。中国科学院海洋研究所调查研究报告第 4141 号,中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室调查研究报告第 260 号。

收稿日期:2000-03-08;修回日期:2000-11-01

白的某些位点发生特异性的相互作用,调节通道的开关。

### 1.2 离子在细胞内的区域化分布

耐盐性植物把  $\text{Na}^+$  排入液泡,以减少细胞质中  $\text{Na}^+$  浓度,同时液泡中积累的  $\text{Na}^+$  也可以作为一种渗透剂,来克服高盐环境引起的水分胁迫。液泡膜上的 V 型  $\text{H}^+$ -ATPase 和  $\text{H}^+$ -PPase 两种质子泵产生跨膜  $\text{H}^+$  梯度,驱动依赖于跨膜质子驱动力的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向运输系统,将  $\text{Na}^+$  排入液泡。目前已在多种植物细胞中发现,盐胁迫下液泡膜微囊  $\text{H}^+$  转运活力增强<sup>[4,8]</sup>。在盐胁迫下,冰叶叶菊根和叶中液泡膜  $\text{H}^+$ -ATPase 的 3 种亚基转录物水平比对照增加 2 倍<sup>[16]</sup>,这一结果证实了  $\text{H}^+$ -ATPase 在形成跨膜  $\text{H}^+$  梯度中的重要作用。

### 1.3 植物泌盐机制与质膜离子外流

生活在高盐环境中的植物,除了降低根对离子的吸收和阻止离子向地上部的运输外,还利用泌盐结构将已吸收入植物体内的离子排出体外,以维持体内离子浓度低于产生生理毒害的浓度。因而盐生植物在形态上常有泌盐结构,如柃柳、补血草、碱茅属植物的盐腺等。陆静梅等<sup>[6]</sup>对采自山东垦利县黄河入海口的盐碱滩地的野生大豆的盐腺进行了研究,通过电镜观察发现在野生大豆茎和叶表皮外切向壁胞间层处着生有层形成的盐腺,其头部由一个膨大的泡状球形细胞构成,基部由一小柄细胞构成。在叶片上分布的盐腺形成了泌盐孔。野生大豆的泌盐方式为:(1)根毛细胞在盐渍环境中汲取盐离子进入体内;(2)原生质体分泌出盐离子进入液泡;(3)由原生质体分泌形成的角质化层将含盐小液泡包裹成小液泡包;(4)含盐的小液泡包在传递细胞作用下,经过胞间连丝流入盐腺的柄细胞内;(5)柄细胞内的含盐小液泡包经过胞间连丝再进入圆球形的盐腺头细胞中,待盐腺的泌盐孔形成,盐腺向外分泌盐离子或盐腺完全成熟时,整体破碎释盐。幼嫩的野生大豆盐腺靠泌盐孔泌盐,成熟的盐腺靠整体破碎释盐。

除盐腺外,植物还通过质膜  $\text{Na}^+$  外流直接将  $\text{Na}^+$  排出胞外,以减少细胞质中  $\text{Na}^+$  积累。在多种植物根中分离得质膜小囊泡, Wilson 与 Allen 等 1995 年分别发现小囊泡上存在 pH 梯度驱动的  $\text{Na}^+$  外流和  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向运输。对水生植物来说,可以将体内的离子通过质膜  $\text{Na}^+$  外流直接分泌到体外水环境。Kiegle 等<sup>[11]</sup>通过对轮藻耐盐品种和不耐盐品种的对比研究发现,耐盐品种 *Cham longi filia* 在含盐条件下生长时,  $\text{Na}^+$  外流能力大大提高,对 pH 和抑制剂的敏感性也不同,认为可能是由于运输系统的修饰或一个全新系统的启动。

## 2 细胞内代谢物质的积累

### 2.1 脯氨酸

细胞内脯氨酸的积累能够提高植物的耐盐性。在盐胁迫下,脯氨酸可以作为渗透剂、氮源、酶和细胞结构的保护剂。脯氨酸能够防止质膜通透性的变化,对质膜的完整性有保护作用。其机制可能是脯氨酸与膜磷脂及转运蛋白相作用,以稳定其结构<sup>[13]</sup>。

高等植物中脯氨酸的合成有谷氨酸和鸟氨酸两种途径。吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)是脯氨酸合成的关键酶。其编码基因 P5CS 可以被盐胁迫、干旱胁迫和脱落酸诱导表达。关于 P5CS 被诱导的机制没有定论。以往的研究认为干旱诱发脯氨酸积累有 3 种途径:脯氨酸合成反馈作用降低、脯氨酸氧化受阻和蛋白合成受阻。Liu 等则认为可能是细胞膨压的降低诱导盐胁迫下细胞内 P5CS 的表达和脯氨酸的积累<sup>[12]</sup>。

### 2.2 甜菜碱

盐胁迫下某些植物体内积累大量的甜菜碱,外源甜菜碱的施加也会缓解植物的盐伤害反应。甜菜碱能够作为渗透剂、酶的保护剂,在一定程度上保护盐胁迫下细胞膜结构的完整性<sup>[13]</sup>。Papageorgiou 等 1995 年报道甜菜碱对类囊体膜也具有稳定作用,并显著提高 PS II 光合放氧的稳定性。侯彩霞等<sup>[5]</sup>报道甜菜碱对不同盐浓度处理引起的 PS II 放氧外周多肽释放具有选择性保护作用,其机理可能是由于甜菜碱易于结合在外周多肽表面,特别是具有较大疏水表面的多肽上结合。当 PS II 膜颗粒受  $\text{NaCl}$  等处理时,甜菜碱的存在缓解了盐对放氧外周多肽结构及对多肽间相互作用的影响。

甜菜碱的合成主要由甜菜碱醛脱氢酶(BADH)和胆碱单加氧酶(CMO)两种酶完成。目前已在多种植物和微生物中克隆到 BADH 基因,并应用于基因工程研究,转基因植物表现出耐盐性的提高<sup>[2]</sup>。关于 BADH 和 CMO 在细胞中的定位,目前尚无定论。Rathinasabapathi 等认为,在藜科植物中, BADH 主要( $\geq 90\%$ )位于叶绿体基质,而 Nakamura 等 1997 年则报道禾本科植物中 BADH 可能主要位于过氧化物酶体,而不是叶绿体中。

甜菜碱的含硫类似物 3-dimethylsulfoniopropionate(DMSP)与甜菜碱一样,盐胁迫下含量提高并且在胞内不同区域之间重新分布,叶绿体中的比例大大提高。DMSP 在体外能与酶协同作用并且具有稳定和保护环境。所以在富 DMSP 的植物中,DMSP 的积累有可能作为提高耐盐能力的一种途径<sup>[18]</sup>。

### 2.3 海藻糖

海藻糖能增加双层脂膜的流动性和酶的稳定性。Garcia 等<sup>[9]</sup>发现盐胁迫下烟草细胞中海藻糖含量提高。低浓度的海藻糖能够降低  $\text{Na}^+$  的积累和盐胁迫导致的生长抑制,但并不减少根对  $\text{Na}^+$  的吸收,在高浓度下能够降低  $\text{NaCl}$  诱导的叶片叶绿素损失,保护根的完整性,促进生长。并且作者认为海藻糖对于水稻的盐适应比脯氨酸更重要。将海藻糖合成基因转入烟草,转基因植株比对照植株失水慢。由于前者体内海藻糖的量很少,所以海藻糖的作用可能是保护细胞免受伤害而不是调节渗透平衡<sup>[10]</sup>。

### 3 植物盐胁迫基因表达

#### 3.1 植物耐盐性 QTL

植物的耐盐性是一种数量性状。目前利用分子连锁图谱定位数量基因座位 (Quantitative trait locus, QTL) 已成为研究数量性状的一条重要途径,被广泛应用于农作物的研究中,但关于植物耐盐性 QTL 的研究还只是刚刚开始。龚继明等<sup>[3]</sup>利用一个加倍单倍体 (DH) 群体及相应的遗传图谱,进行了水稻耐盐基因定位的研究。在 DH 群体中,耐盐性状表现为正态分布,属于典型的数量性状,但 QTL 定位的结果只揭示了一个主效 QTL Std, 位于第 1 染色体的 RG612 和 Cl31 标记之间, 另外还有其他 7 个 QTL 属于微效 QTL。认为可以利用主效 QTL 和微效 QTL 的累加效应通过辅助标记选择得到超亲遗传的耐盐种质资源。

#### 3.2 植物耐盐基因及基因产物

盐胁迫下,植物体内多种基因的表达模式发生变化或有新的基因产物出现。盐诱导的基因产物在保护细胞正常的代谢活动和生长发育方面起着重要的作用。这些蛋白主要分为两种<sup>[17]</sup>:(1)功能蛋白,如水通道蛋白、各种渗透剂合成酶、分子伴侣、LEA 蛋白、去毒蛋白等。它们在细胞遭受盐胁迫时,能够直接起到保护大分子和膜结构、合成特殊的代谢物的作用;(2)调节蛋白,包括调节盐胁迫信号传导和基因表达的蛋白,如蛋白激酶、转录因子、PLC 等。

#### 3.3 盐胁迫基因的诱导途径

Shinozaki 等认为,干旱、盐胁迫等水分胁迫诱导基因活化有四条途径<sup>[17]</sup>: 两条依赖 ABA 的信号途径 (I 和 II) 和两条不依赖 ABA 的信号途径 (III 和 IV)。途径 I 中,基因表达除依赖 ABA 外,还需要蛋白因子的生物合成。目前已发现多种转录因子能够对盐胁迫和 ABA 处理产生反应,如 bZIP 转录因子、MYC 一组具有碱性螺旋环螺旋 (Basic helix-helix) 和亮氨酸拉链结构的转录因子、MYB 一组具有色氨酸束结构 (Trp cluster motif) 的转录因子等。这些转录因子被认为在 ABA 诱导的基因调节中起作用。途径 II 中,水分胁迫

诱导的基因表达依赖 ABA,但不需要蛋白质的生物合成。这些基因在其启动子区域含有潜在的 ABA 反应元件 (ABA responsive element, ABAR), 即序列 Py-ACGTGGC, 它在 ABA 调节的基因表达中作为顺式 DNA 作用元件 (Cis-acting DNA element)。途径 III 中,基因表达受干旱和盐诱导,但对冷或 ABA 处理不起反应。这些基因包括编码不同巯基蛋白酶的 rd19 和 rd21, 以及编码 Clp 蛋白酶调节亚基的 erd1。途径 IV 中基因表达受干旱、高盐及低温诱导,不依赖于 ABA,但可以对外源 ABA 起反应。

### 4 植物盐胁迫信号传导

#### 4.1 盐胁迫信号感受

对于植物盐胁迫信号传导级联反应和在这些反应中起作用的信号分子还所知甚少。盐胁迫下植物细胞发生一系列的变化,如膨压、pH、 $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度、细胞骨架张力等,这些变化都有可能作为在分子水平上引发胁迫反应的因素。Mentot 等<sup>[14]</sup>认为细胞膨压降低引起的细胞膜两侧渗透势变化可能是植物盐胁迫反应的主要引发因素。目前对于植物盐胁迫信号受体的认识,是基于酵母的高渗透胁迫感受系统<sup>[17]</sup>。酵母中,高渗条件会激活一个 MAPK (Mitogen-activated protein kinase) 级联途径,诱导激活与甘油合成有关的几种酶。Slm1 p 被认为是一种受体蛋白,在高渗条件下使调节蛋白 Ypd1 和 Ssk1 磷酸化。磷酸化的 Ssk1 激活 Ssk2p 或 Ssk22p, 被激活的 Ssk2p 或 Ssk22p (MAPKKKs) 又通过丝氨酸-苏氨酸磷酸化作用激活 Pbs2p (MAPKKs), Pbs2p 又通过苏氨酸-酪氨酸磷酸化作用激活 Hog1p (MAPK), 从而诱导一系列基因的活化和蛋白质的合成<sup>[19]</sup>。在植物中也可能存在相似的途径。

#### 4.2 植物盐胁迫信号传导和 ABA 信号传导途径

Shinozaki 等<sup>[17]</sup>认为,  $\text{Ca}^{2+}$ 、三磷酸肌醇 ( $\text{IP}_3$ ) 和细胞质 pH 可能作为植物细胞盐胁迫的第二信使: 渗透胁迫下细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{IP}_3$  浓度升高。细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  信号传递与细胞膨压调节有关。高渗胁迫下细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,会激活离子转运系统并诱导气孔关闭。而人为升高细胞内  $\text{IP}_3$  浓度,会导致  $\text{Ca}^{2+}$  的激活,所以磷酸肌醇途径可能与  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高有关。

ABA 在植物生长发育,特别是种子成熟和胁迫反应中起着重要的作用。人们通过对有关突变体的研究,来了解 ABA 信号传递途径。目前已得到多种拟南芥 ABA 突变体并对其进行了形态结构和分子水平的研究。abi1 和 abi2 突变体气孔调控异常,ABA 介导的对胁迫在形态学水平上和分子水平上的反应受到抑

制。*abi3* 突变导致胚胎发育过程中多种功能丧失,形成的种子叶绿素不能退化,不耐水分胁迫,各种储存蛋白和 LEA RNA 含量降低。*abi4* 和 *abi5* 突变不影响气孔调节,但抑制 LEA 转录物的积累。Merlot 等认为 ABI3 与 ABI1 和 ABI2 分属不同的信号传递途径<sup>[14]</sup>,两种途径都与种子萌发和休眠有关,但 ABI3 途径可能在胚胎发育中起主要作用,而 ABI1 和 ABI2 途径可能主要在营养组织中起作用,ABI4 和 ABI5 可能属于 ABI3 途径。

## 5 结语

植物耐盐性状是一种典型的数量性状,其分子机制十分复杂,涉及多种基因和大分子的协同作用。目前对植物耐盐的分子机制并不十分清楚,仍有大量的工作等待人们去完成。突变体的筛选、基因工程技术和分子生物学研究方法必将更广泛的应用于这一领域。渗透物生物合成相关基因的克隆与转化、盐胁迫的信号传导途径、盐胁迫下离子通道行为等已成为研究的热点。耐盐突变体的筛选和盐生植物的发现及其基因表达及结构功能的研究,为研究植物耐盐的分子机制提供了有利的途径。随着人们对植物耐盐机制了解的加深,会有更多的耐盐相关基因将被分离,并利用它们培育出更多的高质丰产的耐盐作物品种,应用于农业生产。

## 主要参考文献

- 1 陈善福等.植物学通报,1999,16(5):555~560
- 2 陈受宜等.转基因植物.见:孟广震主编,中国科学院生物技术研究进展.北京:科学出版社,1998.46~55
- 3 龚继明等.科学通报,1998,43(17):1847~1850
- 4 郭房庆等.科学通报,1999,44(5):524~529
- 5 侯彩霞等.中国科学(C辑),1998,28(4):355~361
- 6 陆静梅等.科学通报,1998,43(19):2074~2078
- 7 王宝山等.植物学通报,1997,14(增刊):25~30
- 8 Ballesteros E. et al.. *Physiol. Plant*, 1996, 97: 259~268
- 9 Garcia A. et al.. *Plant Physiol.*, 1997, 115: 159~169
- 10 Holmstrom K. et al.. *Nature*, 1996, 379: 683~684
- 11 Kiegle E. et al.. *Plant Physiol.*, 1996, 111: 1191~1197
- 12 Liu J. et al.. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 591~596
- 13 Mansour M. *Plant Physiol. Biochem.*, 1998, 36(10): 767~772
- 14 Merlot et al.. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 751~757
- 15 Murata Y. et al.. *Plant Cell Physiol.*, 1998, 39(10): 1039~1044
- 16 Rainer L. et al.. *Plant Physiol.*, 1996, 110: 259~265
- 17 Shinozaki K. et al.. *Plant Physiol.*, 1997, 115: 327~334
- 18 Trossat C. et al.. *Plant Physiol.*, 1998, 116: 165~171
- 19 Wurgler Murphy S. et al.. *Trends Biochem. Sci.*, 1997, 22: 172~176

(本文编辑:张培新)