

植物耐盐机制研究进展

郝治安, 吕有军

(安阳工学院, 河南 安阳 455000)

摘要:从器官、组织、细胞、分子等水平对植物耐盐机理的研究现状进行了综述。植物在组织器官水平的耐盐机制是:通过泌盐机构和排钠机制降低植物体内尤其是地上部分的盐分浓度以减轻盐离子的毒害作用。植物在细胞分子水平的耐盐机制是:细胞内盐离子的区隔化作用、无机或有机渗透调节以及活性氧清除机制。

关键词:植物;耐盐;器官;细胞;分子;机制

中图分类号:S476⁺.7 文献标识码:A 文章编号:1004-3268(2004)11-0030-04

目前,世界上有4亿~9亿 hm^2 的土地受盐渍化的影响,我国就有2600万 hm^2 ,其中耕地约600万 hm^2 ,土地盐渍化已成为影响作物生长发育及高产优质的一个重要因素。随着工业的不断发展,世界范围内可耕地数量日益减少,同时土地盐渍化不断加剧,因此,研究植物耐盐胁迫机制,从而寻找提高植物耐盐性的途径和方法,对进一步加强盐渍土的治理和综合开发利用意义重大。

虽然植物在高盐条件下会受到伤害,但根据叶武威^[1]等研究,在较低浓度的盐分(0.2% NaCl以下)条件下有利于棉花萌发、出苗。NaCl对棉花种子发芽势的作用表现为“S”型曲线,在0.1%~0.2%对发芽势起显著的促进作用,NaCl能极显著的提高棉花种子的发芽率,随着NaCl浓度提高,NaCl的抑制作用随之增强。植物在盐胁迫下主要表现为生长发育滞缓,叶子发黄甚至干枯,代谢受到抑制,严重时整株植物死亡。近年来,人们从组织、器官、细胞及分子等不同的角度对植物的耐盐性进行了深入广泛的研究,取得了一系列的成果。笔者现就国内外植物耐盐的机制研究现状进行综述。

1 植物在组织器官水平上的耐盐机制

植物体内离子平衡对植物进行正常的生命活动具有极其重要的意义。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体内的离子排出体外,以维持体内离子平衡,避免产生毒害作用。通过盐腺将 Na^+ 排出体外,是高植物降低体内 Na^+ 浓度的一种方式。盐腺是一些盐生植物在叶等气生部位的表面形成的一种泌盐结构^[2]。陆静梅等^[3]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出形成的盐腺,其头部由一个膨大的泡状圆球形细胞构成,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团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。

降低地上部分盐分浓度是植物耐盐的重要机理之一,在这方面的研究也较为一致。有人认为,植物体内存在着明显的排钠机制,目前认为,植物的排钠机制主要涉及以下过程^[4]:①植物体不将 Na^+ 吸入根细胞内,即使进入细胞也通过 Na^+/H^+

收稿日期:2004-04-10

作者简介:郝治安(1951-),男,河南长垣人,高级讲师,主要从事遗传育种教学工作。

泵再排出, 内皮层细胞内的 Na^+ 也同样被排出, 这可能与植物的细胞质膜组成有关; ②植物体将吸收的 Na^+ 贮存于根茎基部, 从而阻止 Na^+ 向叶片运输; ③植物体将吸收的 Na^+ 在向木质部运输过程中, 被木质部或韧皮部传递细胞吸收, 并分泌到韧皮部中再运回根中, 最后分泌到环境中, 亦即植物通过脉内再循环把 Na^+ 再运到体外; ④在 NaCl 胁迫下, 植物吸收的 Na^+ 向地上部特别是向叶片和果实的运输选择性降低, 而 K^+ 运输选择性增加。通过这些机制, 可以有效降低植物体内尤其是地上部分的 Na^+ 浓度, 提高 K^+/Na^+ 比例, 缓解 Na^+ 对植物的伤害。

2 植物在分子细胞水平的耐盐机制

2.1 细胞内盐的区隔化作用

植物在受到盐胁迫时, 往往把盐从细胞质和细胞器中转移出去, 使其集中于液泡中, 这种现象称为盐的区隔化。通过区隔化作用, 一方面使渗透压保持一定梯度, 让水分进入细胞; 另一方面维持细胞质中正常的盐浓度, 避免高浓度盐离子对膜系统的伤害, 保持生物酶的活性, 维持细胞内的离子平衡。盐生植物和较耐盐淡土植物细胞所吸收的 Na^+ 、 Cl^- 主要分布于液泡作为渗压剂^[5]。 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在细胞内盐分区隔化作用中具有关键作用。Apse 等^[4] 证明拟南芥体内的 AtNHX1 编码一个液泡 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白, AtNHX1 过量表达的转基因拟南芥植株液泡膜的 Na^+/H^+ 交换率比野生型植株高的多, 转基因拟南芥植株内 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白活性和 AtNHX1 蛋白质含量的升高是一致的。在 200 mmol/L NaCl 胁迫条件下, 转基因拟南芥植株的生长未受影响, Na^+ 转运活性随着液泡中 Na^+ 浓度的升高而增加, 有力的支持了 Na^+ 的区隔化作用。盐胁迫可以增强拟南芥 AtNHX1 ^[6]、碱蓬^[7] SsNHX1 (碱蓬 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白)、水稻 OsNHX1 ^[29] (水稻 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白) 的表达, 并且这些基因的表达具有组织特异性。 NaCl 胁迫条件下, 拟南芥 AtNHX1 (拟南芥 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白) 在叶中的转录水平比对照高出 4 倍, 而根中的转录水平与对照几乎没有差异^[9]。经 NaCl 处理后, 碱蓬 SsNHX1 在茎中的表达明显高于根中^[7]。这些结果表明植物对 Na^+ 的解毒机制是在根中主要将 Na^+ 排出而在茎叶中主要把

Na^+ 区隔化。同时, 也从另一方面说明植物不同器官在对 Na^+ 的敏感程度上的差异, 叶片对 Na^+ 敏感程度要大于根对 Na^+ 的敏感程度。

2.2 细胞内的渗透调节机制

在盐胁迫下, 由于外界渗透势较低, 植物细胞会发生水分亏缺现象, 即渗透胁迫。植物为了避免这种伤害, 在逆境情况下必须产生一种适应机制, 即在盐胁迫下, 植物细胞内会主动积累一些可溶性溶质来降低胞内渗透势, 以保证逆境条件下水分的正常供应。渗透调节机制分为无机渗透调节和有机渗透调节。

2.2.1 无机渗透调节机制 细胞内离子的区隔化作用也具有一定程度上的渗透调节功能。盐生植物和非盐生植物在以无机离子作为渗透调节物质方面, 其在离子种类上依然相同, 所不同的是在量上的差异^[8]。盐生植物碱蓬、星星草、碱草体内以无机离子 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 作为主要渗透调节物质, 而非盐生植物高粱、芦苇等则主要以 K^+ 和有机渗透调节物质为主^[9]。沈义国、陈受宜^[10] 认为, 由 NaCl 引起的盐胁迫不仅破坏了植物细胞中业已形成的 Na^+ 和 Cl^- 的平衡状态, 而且也影响着 K^+ 和 Ca^{2+} 的胞内分布。大量的膜蛋白($\text{H}^+ - \text{ATPase}$ 类、焦磷酸酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 类、二级转运蛋白及各种通道蛋白)被激活并参与重建膜内外离子平衡。其简略的过程为: Na^+ 通过 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 共转运蛋白等通道大量涌入胞质, $\text{H}^+ - \text{ATPase}$ 、 Na^+/H^+ 反向转运蛋白等被激活, 协调工作以驱动 Na^+ 外排和运入液泡, 最终形成胞外、胞质、液泡三者间的离子平衡。利用蛋白质的生化功能分析和突变体功能互补等方法, 目前已克隆和鉴定了许多参与重建膜内外离子平衡的膜蛋白^[26~28]。

2.2.2 有机渗透调节机制 有机渗透调节物质大致可分为 3 类, 即氨基酸及其衍生物(如甘氨酸甜菜碱、脯氨酸、甘氨酸、 β -丙氨酸、 γ -氨基丁酸、苏氨酸等)、糖类及其衍生物(如山梨糖醇、甘油、甘露糖醇、赤藓糖苷、异赤藓糖苷等)和叔硫酰化合物(如 β -二甲基硫代丙酸), 这些物质被证明是对细胞无毒、对代谢过程无抑制的。

脯氨酸 黄键等^[11] 研究认为, 海滨香豌豆脯氨酸含量随盐胁迫浓度和胁迫时间变化呈现一定的正相关; 可溶性蛋白则呈相对比较稳定的趋势; 而可溶性糖则呈无规则变化。这些结果表明, 在

以上 3 个指标中,脯氨酸对盐胁迫起主要的调节作用。另据赵福庚等^[12]研究发现,盐胁迫条件下激活了大麦幼苗体内脯氨酸合成的鸟氨酸途径,即 Arg(谷氨酸)—Orn(鸟氨酸)—Pro(脯氨酸)途径,该途径的激活对大麦幼苗耐盐性的提高具有重要意义。陈翠霞、于元杰等^[13]利用花粉管通道法将耐盐罗布麻 DNA 导入陆地棉品种鲁棉 6 号从后代中筛选出耐盐变异体山农 011 并进行 RAPD 分析,表明供体罗布麻 DNA 的导入引起受体基因组的变异,盐胁迫下,山农 011 具有较高的渗透调节能力,且其渗透调节能力的提高是以细胞内渗透调节物质脯氨酸的积累为基础。但也有不同报道,孙金月^[14]认为,脯氨酸累积并不代表抗盐能力大小,不能作为抗盐生理指标。总之,在盐胁迫条件下植物体内的脯氨酸合成及含量发生了明显的变化,但关于脯氨酸含量与植物抗盐性关系目前看法还不一致,需作进一步的研究,目前只能将其作为一种辅助指标慎重使用。

甜菜碱 在研究过的众多渗透调节物质中,甜菜碱被认为是最好的渗透调节剂,其生理功能主要有:作为渗透调节物质;参与稳定生物大分子物质的结构与功能;影响离子在细胞内的分布,即细胞内甜菜碱含量的增加可促进 Na^+ 从胞质向液泡流动,提高液泡中 Na^+ 浓度^[15,16]。关于植物体内甜菜碱的合成场所目前有不同的报道, Pan 等^[17]用差速离心法分离细胞各组分,在叶绿体和线粒体中未发现 BADH(甜菜碱脱氢酶),认为 BADH 为一种液泡酶; Hanson A D 等^[18]认为, BADH 定位于叶绿体中,泡液中的 BADH 为其同工酶, BADH 的定位随植物种类的不同而异。总之,甜菜碱作为一种十分有用的细胞可溶性物质,有关转 BADH 基因的报道也比较多,绝大部分报道都证实了转 BADH 基因植株的耐盐性都得到了不同程度的提高^[16]。

糖醇类物质 糖醇类物质广泛分布于细菌、酵母、藻类、动物和高等植物中,近年来,随着转基因技术的应用,人们对这类物质在细胞中的作用已有了比较明确的认识。归纳起来有三方面作用^[13,19]:(1)作为代谢产物;(2)抗氧化剂。最近的研究表明,甘露醇和山梨醇具有清除羟自由基的能力,保护细胞免受羟自由基的损伤。(3)作为细胞渗透调节物质。糖醇作为相容性溶质在渗透调节和渗透保护中起重要作用。王慧中、黄大年

等^[20],通过农杆菌介导法将 1—磷酸甘露醇脱氢酶(mt1D)基因和 6—磷酸山梨醇脱氢酶(gutD)基因同时整合进入水稻基因组并且在转基因水稻中得到表达,分析表明,转基因水稻合成并积累了甘露醇和山梨醇,降低了细胞的渗透势,使其耐盐性得到明显提高。另外,根据刘俊军等^[21]研究,烟草中并不存在 mt1D 基因和 gutD 基因的转录产物,也并没有发现甘露醇的存在。利用农杆菌介导法将大肠杆菌 mt1D 基因转入烟草并获得表达,该基因编码的 1—磷酸甘露醇脱氢酶可以利用 6—磷酸果糖和 NADH(辅酶 I)生成 1—磷酸甘露醇,最终导致甘露醇的合成,但转基因烟草中新合成的甘露醇含量有限,它调节渗透压的能力有限,即使如此,甘露醇的存在亦能明显缓解 Na^+ 对根系的毒害作用,同时能解除 NaCl 对根分化的抑制作用。

2.3 活性氧清除机制

植物的膜系统主要是由膜脂和膜蛋白组成的。当植物受到盐胁迫时,体内会产生大量的氧自由基,即活性氧,从而引起膜脂的氧化伤害。植物体内存在有抗氧化的过氧化酶系统,当受盐胁迫时,过氧化酶系统活动加强,以清除过多的活性氧^[22]。20 世纪 80 年代后,人们对盐分胁迫下植物体内抗氧化防御系统进行了大量研究,并已确定它由一些能清除活性氧的酶系和抗氧化物质组成,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸(ASA)等,它们协同起作用共同抵抗盐分胁迫诱导的氧化伤害,单一的抗氧化酶不足以防御这种氧化胁迫。在盐分胁迫下,植物体内 SOD 等酶的活性与植物的抗氧化胁迫能力呈正相关,而且在盐分胁迫下,盐生植物与非盐生植物相比,其 SOD、CAT、POD 活性更高,因而更能有效地清除活性氧,阻抑膜脂过氧化^[23]。此外,刘婉等^[24]研究认为,离体小麦叶片在盐胁迫加强条件下,体内抗坏血酸含量下降,用活性氧清除剂处理可明显缓解抗坏血酸含量下降的趋势,且外源抗坏血酸能明显缓解由盐胁迫造成的对细胞膜的伤害,降低 MDA 含量,提高叶绿体的 Hill 反应活力、叶片光合速率和叶片线粒体呼吸速率。Huang^[25]等报道,经高渗锻炼的大豆 Kaoshium 品种幼苗较未受锻炼的幼苗有较多的谷胱甘肽还原酶(GR)、抗坏血酸过氧化物酶(APOX)和脱氢抗坏血酸还原酶(DasAR)活性,

有利于降低膜脂氧化程度,从而减轻盐胁迫伤害。通过以往的研究表明,在盐胁迫条件下,植物体内会产生有害的氧自由基,植物通过 SOD 及其他抗氧化物质等自由基清除系统对于清除氧自由基,保护植物细胞膜结构,提高植物耐盐性有一定作用。

3 结语和展望

根据以往的研究表明,植物的耐盐性状是一个十分复杂的数量性状,其耐盐机制涉及到从植株到器官、组织、生理生化直至分子的各个水平。尽管不同的研究者从各个方面对其进行了大量的研究,但由于其机制十分复杂,到目前为止,植物抗盐机制中的重要问题仍有待解决,如:植物抗盐的关键因子仍旧未能找到;植物耐盐的分子机制并不十分清楚,仍然有大量工作需要去做;虽然有许多植物进行了耐盐基因的转化,但转化植株耐盐性的提高有限,离生产应用仍有一定距离。随着突变体筛选、分子生物学研究技术及基因工程技术在植物耐盐研究上的广泛应用,人们对植物耐盐机制的理解将更为深入,同时,将会有更多的耐盐突变体和耐盐转基因植物被培育出来,最终培育出能够广泛应用于生产的耐盐作物品种,从而推动我国和世界的盐碱地及次生盐碱地的开发利用。

参考文献:

[1] 叶武威, 刘国强, 刘金定, 等. 氯化钠和食用盐对棉花种子萌发的影响[J]. 中国棉花, 1994, 21(3): 14—15.

[2] D A Baker, J L Hall. Solute transport in plant cells and tissues, Longman Scientific and Technical[M]. Essex, 1998. 498—537.

[3] 陆静梅, 刘有良. 中国野生大豆盐腺的发现[J]. 科学通报, 1998, 43(19): 2074—2079.

[4] Apse M P, Aharon G S, Snedden W A, et al. Salt tolerance conferred by overexpression of vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in Arabidopsis[J]. Science, 1999, 285: 1 256—1 258.

[5] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 752—769.

[6] Quintero F J, Blatt M R, Pardo J M, et al. Functional conservation between yeast and plant endosomal Na⁺/H⁺ antiporter[J]. FEBS Lett, 2000, 47(1): 224—228.

[7] Ma X L, Zhang Q, Stevenson B, et al. Molecular cloning and expression analysis of the Na⁺/H⁺ antiporter[J]. Suaeda Salsa, 2003(1): 35—38.

[8] 赵可夫, 李法曾. 中国盐生植物[M]. 北京: 科学技术出版社, 1999. 48—62.

[9] 张海燕, 赵可夫. 盐分和水分胁迫对盐地碱蓬幼苗渗透

调节效应的研究[J]. 植物学报, 1998, 40(1): 56—57.

[10] 沈义国, 陈受宜. 植物盐胁迫应答的分子机制[J]. 遗传, 2001, 23(4): 365—369.

[11] 黄健, 唐学玺, 付萌, 等. 盐胁迫对海滨香豌豆叶片三种物质含量的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 510—515.

[12] 赵福庚, 孙诚, 刘友良. 盐胁迫激活大麦幼苗脯氨酸合成的鸟氨酸途径[J]. 植物学报, 2001, 43(1): 36—40.

[13] 陈翠霞, 于元杰. 棉花耐盐突变体的 RAPD 分析及抗盐生理研究[J]. 作物学报, 1999, 25(50): 643—646.

[14] 孙金月, 赵玉田. 小麦细胞壁糖蛋白的耐盐性保护作用与机制研究[J]. 中国农业科学, 1997, 30(4): 9—12.

[15] Papageogios G C, Murata N. The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen—evolving photosystem II complex[J]. Photosynth Res, 1995, 44: 243—252.

[16] 侯彩霞, 汤章城. 细胞相溶性物质的生理功能及其作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 1—7.

[17] Pan S M, Moreau R A. Betaine accumulation and betaine aldehyde dehydrogenase in spinach leaves, Plant Physiol[J]. 1981, 67: 1 105—1 107.

[18] Hanson A D, May A M. Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplast[J]. Proc Natl Acad Sci Usa 1985, 82(1): 3 678—3 682.

[19] Loescher W H, Tyson R H, Gout E, et al. Mannitol synthesis in higher plants: evidence for the role and characterization of NADH—dependent mannose—phosphate reductase[J]. Plant Physiol 1992, 98: 1 396—1 402.

[20] 王慧中, 黄大年, 鲁慧芳, 等. 转 mlD/gutD 双价基因水稻的耐盐性[J]. 科学通报, 2000, 45(70): 724—729.

[21] 刘俊军, 彭学贤, 王海云. 转基因烟草的甘露醇合成和耐盐性[J]. 生物工程学报, 1996, 12(2): 206—210.

[22] Bowler C, Slooten L, Larson T J, et al. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants[J]. EMBO J, 1991, 10: 1723—1732.

[23] 赵可夫, 邹琦. 盐分和水分胁迫对盐生和非盐生植物膜脂过氧化作用的效应[J]. 植物学报, 1993, 35(7): 519—522.

[24] 刘婉, 胡文玉. NaCl 胁迫下离体小麦叶片内抗坏血酸与几种生理生化指标变化的关系[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(6): 423—425.

[25] Huang C Y, Liao E C, Roby C, et al. Effects of salt stress on the biosynthesis of lipids in chloroplast membranes of soybean plant[J]. Taiwanis, 1997, 42(1): 63—72.

[26] Johnson K D, Chrispeels M J. Tonoplast—Bound Protein Kinase Phosphorylates Tonoplast Intrinsic Protein[J]. Plant Physiol, 1992, 100(5): 1787—1795.

[27] Wimmers L E. Higher Plant Ca²⁺—ATPase: Primary Structure And Regulation Of mRNA Abundance By Salt[J]. Pro Natl Acad Sci USA, 1992, 89(11): 9 205—9 209.

[28] Fu H—H. AtKUP1: A Dual—Affinity K⁺ Transporter From Arabidosis[J]. Plant Cell, 1998, 10: 63—73.