

## 过量表达星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 提高拟南芥的耐盐性

程玉祥\*

东北林业大学园林学院, 哈尔滨 150040

**摘要:** 将星星草中分离的质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因 *PtSOS<sub>1</sub>* (GenBank 登录号 EF440291) 构建到 pGWB<sub>2</sub> 植物表达载体上, 转化拟南芥, 获得抗卡那霉素的抗性植株。PCR 和 Northern 检测表明, *PtSOS<sub>1</sub>* 已整合到拟南芥基因组中并过量表达。耐盐性实验表明, *PtSOS<sub>1</sub>* 过量表达提高了拟南芥植株的耐盐性。盐分测定表明, 盐胁迫下 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因植株中  $\text{Na}^+$  积累低于野生型的,  $\text{K}^+$  含量则高于野生型的, 转基因植株中  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比值高于野生型。

**关键词:** 星星草; *PtSOS<sub>1</sub>*; 转基因拟南芥; 盐胁迫

## Overexpression of the *PtSOS<sub>1</sub>* from *Puccinellia tenuiflora* Enhanced Salt Tolerance of *Arabidopsis*

CHENG Yu-Xiang\*

College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** The cDNAs of *PtSOS<sub>1</sub>* (GenBank accession No. EF440291), a plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene isolated from *Puccinellia tenuiflora*, were constructed into plant expression vector pGWB<sub>2</sub>. *Arabidopsis thaliana* wild-type (WT) plants were transformed with *Agrobacterium tumefaciens* containing the resultant vectors, and kanamycin-resistant plants were obtained. PCR analysis showed that *PtSOS<sub>1</sub>* was integrated in the genome of *Arabidopsis*. Northern analysis indicated that transgenic plants over-expressed the *PtSOS<sub>1</sub>* in the transcript level. Salt stress assay showed that *PtSOS<sub>1</sub>*-overexpression enhanced salt tolerance of *Arabidopsis* transgenic plants. It was implied by salt contents measure analysis that, compared with WT plants,  $\text{Na}^+$  accumulation was remarkably lower in transgenic plants under salt stress, the  $\text{K}^+$  level was obviously higher, and  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  ratio was also distinctly higher.

**Key words:** *Puccinellia tenuiflora*; *PtSOS<sub>1</sub>*; transgenic *Arabidopsis*; salt stress

植物细胞内  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  的动态平衡不仅关系到细胞代谢, 也是植物耐盐的依据之一 (Tester 和 Davenport 2003; Volkov 和 Amtmann 2006; Chen 等 2007; Munns 和 Tester 2008)。要维持盐逆境下细胞内合适的  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比值, 需要阻止  $\text{Na}^+$  过度积累。 $\text{Na}^+$  区隔化和  $\text{Na}^+$  外排是植物降低细胞内  $\text{Na}^+$  浓度的主要方式, 这一生理功能由  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白完成 (Niu 等 1995)。植物中  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白根据其亚细胞分布不同, 分为液泡型和质膜型两类。 $\text{Na}^+$  区隔化是由位于液泡膜上的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白利用液泡膜上  $\text{H}^+-\text{ATPase}$  和  $\text{H}^+-$  焦磷酸酶 ( $\text{H}^+-\text{PPase}$ ) 建立跨膜质子电势差作为驱动力, 将  $\text{Na}^+$  区隔化入液泡。质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白则参与  $\text{Na}^+$  的外排 (Blumwald 2000; Shi 等 2002; Shabala 等 2005), 遗传学和生化学证据表明: 拟南芥盐过度敏感基因 (*AtSOS<sub>1</sub>*) 是一个质膜定位的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白编码基因, 该基因能恢复其突变体 (*sos1*) 盐过度

敏感表型; 酵母突变体互补实验证实质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白控制  $\text{Na}^+$  外排; 转基因过量表达质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白降低细胞内  $\text{Na}^+$  的积累 (Wu 等 1996; Zhu 等 1998; Shi 等 2000, 2002, 2003; Qiu 等 2002)。最近有人报道, 水稻和小麦中的质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白也行使类似的功能 (Martinez-Atienza 等 2007; Xu 等 2008)。

然而, 盐生植物的质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白功能的报道较少。我们从盐碱地植被恢复先锋物种星星草中克隆了质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因 *PtSOS<sub>1</sub>* (程玉祥 2008)。本文将 *PtSOS<sub>1</sub>* 导入到拟南芥, 获得过量表达的转基因植株, 并分析了盐胁迫

收稿 2008-09-01 修定 2008-10-28

资助 黑龙江省自然科学基金 (C200518) 和哈尔滨市青年科学研究基金 (2005AFQXJ024)。

\* E-mail: chengyuxiang111@sina.com.cn; Tel: 021-54924142

迫下这种转基因植株的耐盐性及其  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  含量和  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比值。

## 材料与方法

星星草 [*Puccinellia tenuiflora* (Turcz.) Scribn. et Merr.] 的培养和逆境胁迫处理时, 将其种子播于装有蛭石和珍珠岩(1:1)基质的营养钵中, 置于人工气候室中培养。培养条件为: 温度  $24\sim 28^\circ\text{C}$ 、光照强度  $120\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光周期 16 h/8 h、相对湿度 60%。每 5 d 浇 1 次 Hoagland 营养液, 生长至 30 d 时, 幼苗进行  $\text{NaCl}$  胁迫处理, 分别将带幼苗的营养钵浸在  $200\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaCl}$  溶液和蒸馏水(对照)中, 处理 24 h 后收获材料, 液氮速冻后用于总 RNA 分离。

Northern blot 分析时, 用 RNAagents<sup>®</sup> Denaturing Solution (Promega 公司)分离植物总 RNA, 操作按照说明书进行。取  $10\ \mu\text{g}$  总 RNA, 在  $65^\circ\text{C}$  变性 10 min, 经 1.5% 甲醛-琼脂糖变性胶电泳分离后转至 Hybond-N<sup>+</sup> 尼龙膜; 用紫外线照射法交联 RNA 于膜上, 膜用 DIG-*PtSOS<sub>1</sub>* 的 DNA 探针(625 bp)于  $50^\circ\text{C}$  杂交 12 h; 信号用 CDP-Star<sup>™</sup> 试剂(Roche 公司)检测。

构建植物表达载体 pGWB<sub>2</sub>-*PtSOS<sub>1</sub>* 时, 根据星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因 cDNA 序列, 设计引物: 5'-CACCATGGAGGAGGCCGGCTCCAGC-3' 和 5'-TCAGTTGCCCTGCGGCCGTGGTTGG-3'。以本实验室已有的 pMD<sub>18</sub>-T-*PtSOS<sub>1</sub>* 质粒为模板, PCR 扩增 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因阅读框 DNA 片段。PCR 产物回收后连接到载体 pENTR<sup>™</sup>/SD/D TOPO<sup>®</sup> (Invitrogen 公司)上并测序鉴定。用 GATEWAY 系统(Invitrogen 公司)把 pENTR<sup>™</sup>/SD/D TOPO<sup>®</sup> 载体上的 *PtSOS<sub>1</sub>* 片段融合到 pGWB<sub>2</sub> 上。液氮冻融法将 pGWB<sub>2</sub>-*PtSOS<sub>1</sub>* 质粒导入农杆菌 GV3101 中, 用农杆菌介导法对拟南芥遗传转化, 收获的种子在含  $50\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  Kan 的 MS 培养基筛选, 得到的抗性植株用于转基因植株分子鉴定。

分析植物基因组 DNA 的 PCR 时, 以 CTAB 法提取转基因和非转基因拟南芥植株叶片总 DNA 作为模板, 进行 PCR 扩增。引物为: 5'-TCGGAAAA-CAACCTGGTAGCTTCT-3' 和 5'-CAAGCG-GTCCAAAGTTTCAGCT-3', 反应体积为  $50\ \mu\text{L}$ , 反应条件为:  $95^\circ\text{C}$  预变性 3 min;  $95^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $62^\circ\text{C}$

退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 30 个循环;  $72^\circ\text{C}$  延伸 7 min。PCR 产物进行琼脂糖电泳分析。

转基因拟南芥盐胁迫处理分 2 个时期: 子叶期与幼苗期。子叶期的盐处理在 MS 培养基平板上进行, 将纯合转基因种子和对照种子铺于 MS 培养基平板上发芽、生长 5 d 后分别移栽于 MS+ $100\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaCl}$  和 MS+ $150\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaCl}$  的培养基上, 20 d 后观察其生长状况并拍照。幼苗期的盐处理在土壤中进行, MS 培养基平板上生长 5 d 的纯合转基因植株和野生型植株移栽于含营养土的盆中, 生长 14 d 后, 分对照组和盐胁迫组; 对照组不进行盐胁迫, 盐胁迫组植物分别浇 50、100、150 及  $200\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{NaCl}$  盐溶液, 每 2 d 浇 1 次, 共浇 3 次; 之后, 2 组植物继续生长 14 d 后观察、拍照; 此后, 2 组植物生长直至开花、结实, 拍照并观察其生长状况。

测定  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  含量时, 对盆栽 4 周的野生型和过表达拟南芥植物进行盐胁迫处理, 方法如上所述, 盐胁迫后继续生长 10 d。取植物材料, 用去离子水洗 3 次, 于  $80^\circ\text{C}$  烘干至恒重。取研磨成粉末的材料  $0.1\ \text{g}$ , 加入  $4\ \text{mL}$  的  $4\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HCl}$ , 于  $37^\circ\text{C}$  下浸提 12 h,  $12\ 000\times g$  离心 15 min, 取上清液稀释, 用于  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  含量测定。测定方法按文献(Peng 等 2004)所述。

## 实验结果

### 1 盐诱导下的星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 转录

$\text{NaCl}$  盐胁迫下星星草叶和根中 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因转录水平均明显升高(图 1)。用 Gelpro 密度分析软件

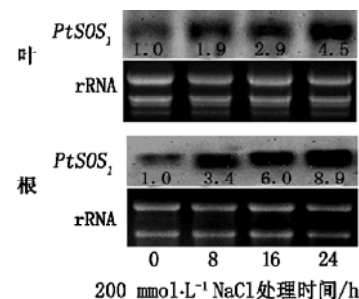


图 1 盐胁迫下星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 的 mRNA 表达

Fig.1 The mRNA level of *PtSOS<sub>1</sub>* from *Puccinellia tenuiflora* under salt stress

Northern blot 检测 *PtSOS<sub>1</sub>* 的 mRNA 量, 杂交信号用 Gelpro 密度分析软件定量, 0 h 处理的杂交信号作为 1.0, 其他泳道信号分别与其相比。

分析表明: *PtSOS<sub>1</sub>*的mRNA量随着盐胁迫时间的延长逐渐递增, 在盐胁迫24 h时, 根中 *PtSOS<sub>1</sub>* 的mRNA量比未胁迫的升高约8.9倍, 在叶中也增加约4.5倍。这些结果表明星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因表达受到盐胁迫诱导响应, 暗示 *PtSOS<sub>1</sub>* 参与了星星草的抗盐生理活动。

## 2 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因拟南芥的鉴定及其转录表达

用农杆菌介导法转化拟南芥, 共获得25个独立转化株系。PCR检测6个转基因株系植株, 结果表明6个转基因植株均扩增出与目的片段大小一致的产物, 而非转基因植株(野生型)则没有扩增出目的片段(图2-a)。扩增的PCR产物回收后经DNA测序证明为 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因序列的一部分(资料未列出), 这表明外源基因 *PtSOS<sub>1</sub>* 已整合到转化的拟南芥基因组中。

6个转基因株系植株的Northern blot分析表明, 转基因植株中外源基因 *PtSOS<sub>1</sub>* 的mRNA表达量均呈现高丰度水平(图2-b)。但在不同转基因株系中 *PtSOS<sub>1</sub>* 表达量有所不同, TP4 中表达量最高, TP13 次之。TP4 和 TP13 转基因株系用于抗盐性实验及  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  含量分析。

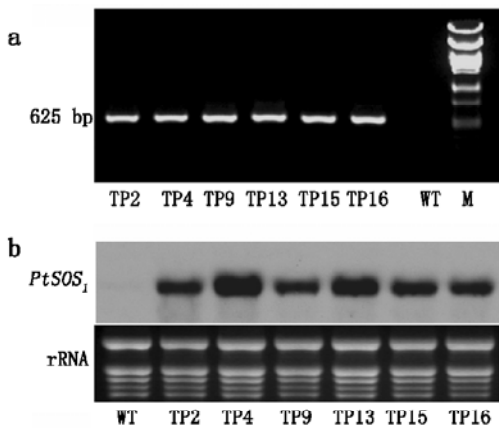


图2 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因拟南芥的分子鉴定

Fig.2 Molecular identification of the *PtSOS<sub>1</sub>* gene in transgenic *Arabidopsis* plants

a: WT 和 TP 基因组 DNA 为模板, PCR 扩增 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因片段。b: Northern blot 检测转基因株系中 *PtSOS<sub>1</sub>* 基因 mRNA 表达。M: DNA 分子量标准; WT 为野生型; TP2、TP4、TP9、TP13、TP15 和 TP16 为 6 个独立的转基因株系。

## 3 过量表达 *PtSOS<sub>1</sub>* 拟南芥的抗盐性分析

(1)野生型和转基因拟南芥在 MS 培养基的正常条件下生长速度和发育程度没有明显的差异, 但

在  $\text{MS}+150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{NaCl}$  培养基上生长 20 d 后野生型植株显著地小于转基因植株(图 3-a)。野生型叶色紫, 叶片增厚, 明显地受到盐胁迫的毒害, 而转基因拟南芥在盐胁迫条件下生长表现较为正常(图 3-a)。

(2)土壤中生长 14 d 的野生型和转基因植物幼苗经盐胁迫处理后, 植株继续生长 14 d, 我们观察到 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因植株生长速度明显地快于野生型(图 3-b), 这表明野生型植株受到盐毒害的程度明显地大于 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因植株。经过盐胁迫后野生型和转基因植株继续生长至成熟期, 我们观察到转基因植物单株生物量明显地大于野生型(图 3-c)。另外, 在盐胁迫的生长环境下, 尽管转基因植物和野生型的生长大小呈现显著的差异, 但没有改变二者的成熟期(图 3-c)。

## 4 盐胁迫下 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因植物的 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 含量及 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 比值

(1)在未受盐胁迫处理的转基因和野生型拟南芥中,  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  含量均没有显著差异, 在盐胁迫处理后二者中  $\text{Na}^+$  含量均升高, 但转基因植株中  $\text{Na}^+$  积累明显低于野生型, 如 100 和 200  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐胁迫下根和茎的  $\text{Na}^+$  积累有显著差异(图 4)。此外, 与对照相比盐胁迫下转基因和野生型拟南芥的  $\text{K}^+$  均明显地降低, 但转基因植株中  $\text{K}^+$  降低的幅度也明显地小于野生型(图 4)。

(2)  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比值是判断植物具有较强耐盐性的重要依据之一(Tester 和 Davenport 2003; Chen 等 2007)。在盐逆境胁迫下 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因拟南芥的  $\text{Na}^+$  积累明显地低于野生型, 而  $\text{K}^+$  含量明显地高于野生型(图 4)。因而, 在盐逆境条件下转基因植物的  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比值也显著高于野生型(图 5)。

## 讨 论

$\text{Na}^+$  外排是植物降低细胞内  $\text{Na}^+$  过量积累的重要方式之一。一般认为细胞膜上  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白是行使这一功能的(Blumwald 2000)。用酵母为材料的研究已证实膜上  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 SOD2 执行胞内  $\text{Na}^+$  外排功能(Hahnenberger 等 1996), SOD2 过表达拟南芥在盐胁迫下降低细胞内  $\text{Na}^+$  含量, 并显著增强转基因植物的耐盐性(Gao 等 2003)。植物中拟南芥质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因(*AtSOS<sub>1</sub>*)不仅具有  $\text{Na}^+$  的外排, 还控制  $\text{Na}^+$  长距

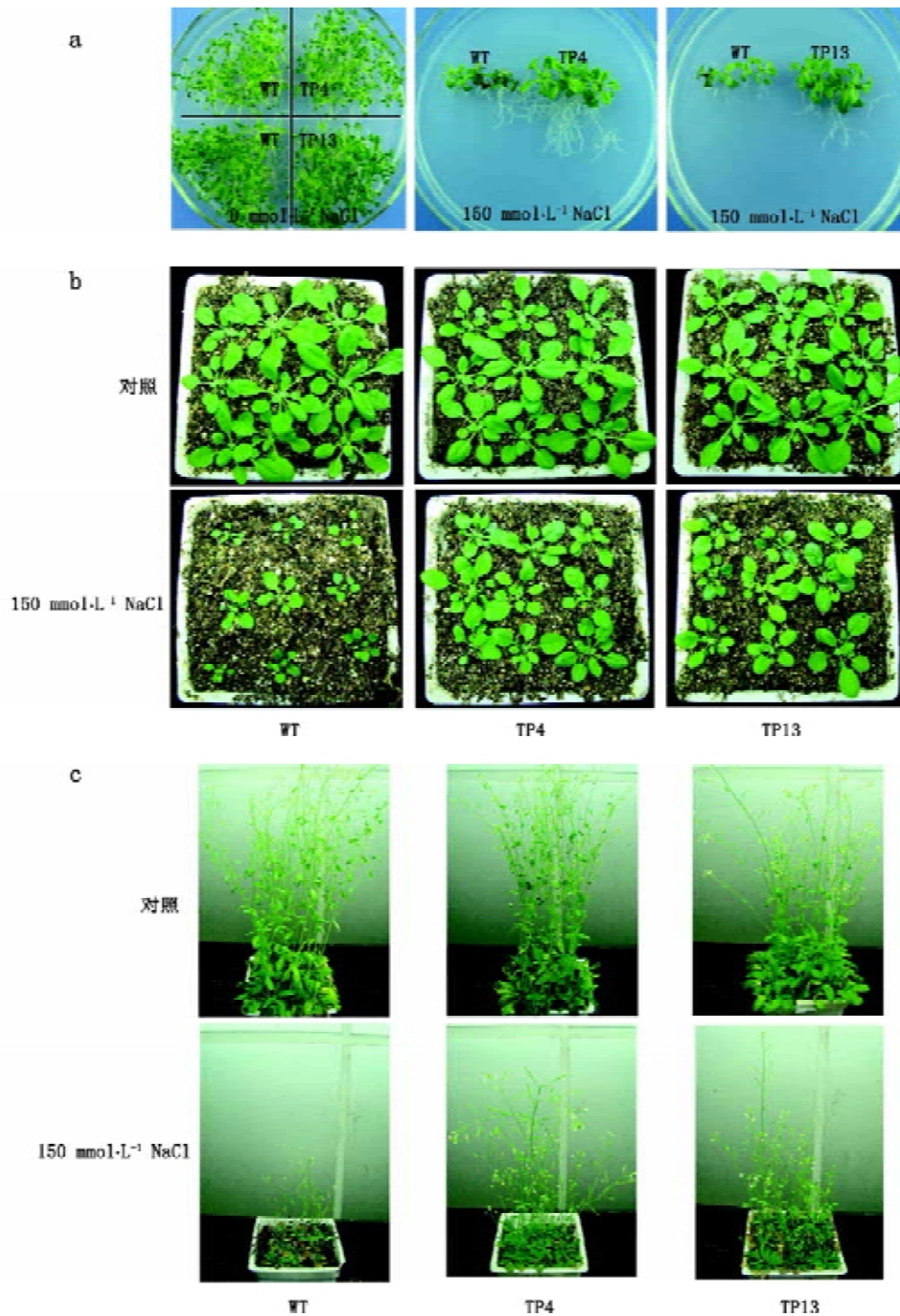


图3 *PtSOS<sub>1</sub>*转基因拟南芥耐盐性分析

Fig.3 Salt tolerance analysis in *PtSOS<sub>1</sub>* transgenic *Arabidopsis* plants

a: MS培养基上转基因幼苗的耐盐性; b: 土壤中生长的转基因幼苗的耐盐性。盆栽14 d的转基因和野生型植物进行盐胁迫处理见“材料与方法”所述,盐处理后植物继续生长14 d,观察、拍照; c: 转基因植物在幼苗期经盐胁迫后生长至成熟期。WT为野生型; TP4和TP13为2个独立的*PtSOS<sub>1</sub>*转基因株系。

离运输(Shi等2002)。本文用Northern杂交方法证明耐盐碱植物星草质膜型Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白基因*PtSOS<sub>1</sub>*受到盐胁迫诱导,*PtSOS<sub>1</sub>*在拟南芥中进

行过量表达后,盐逆境胁迫下的过表达植物比野生型呈现较强的耐盐表型,并且过量表达植物体内Na<sup>+</sup>积累显著低于野生型。这些结果表明*PtSOS<sub>1</sub>*

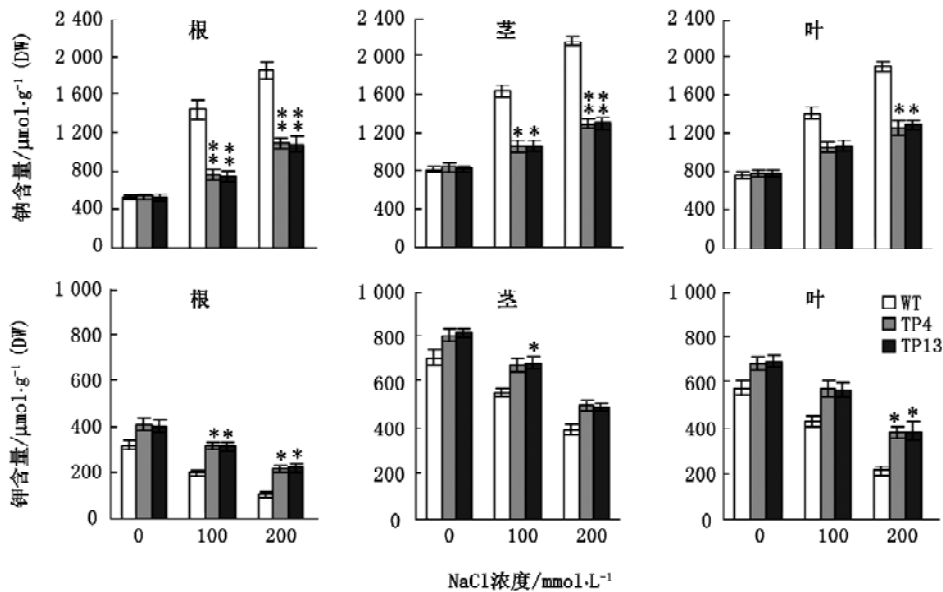


图4 不同浓度盐胁迫处理后 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因拟南芥植物中的 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> 含量

Fig.4 Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> levels of transgenic *Arabidopsis* plants after treated with different concentration of NaCl  
WT 为野生型; TP4 和 TP13 为 2 个独立的转基因株系; \*: P<0.05, \*\*: P<0.01; 数据为 3 个重复的平均值 ±SD。

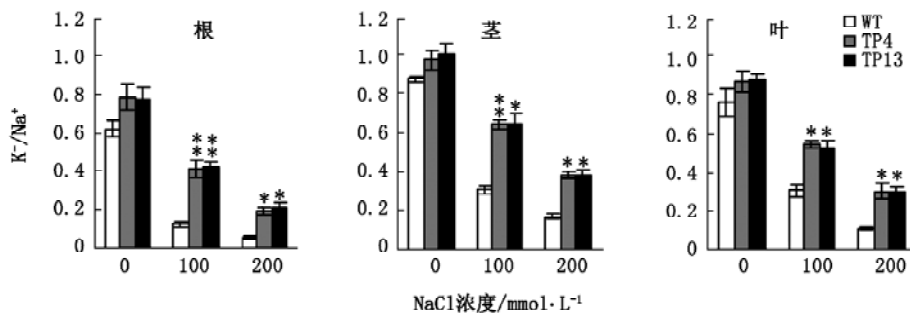


图5 不同浓度盐胁迫处理后 *PtSOS<sub>1</sub>* 转基因拟南芥植物的 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 比值

Fig.5 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio of transgenic *Arabidopsis* plants after treated with different concentration of NaCl  
WT 为野生型; TP4 和 TP13 为 2 个独立的转基因株系; \*: P<0.05, \*\*: P<0.01; 数据为 3 个重复的平均值 ±SD。

在盐逆境胁迫下参与了过量表达植物 Na<sup>+</sup> 的外排。

另外, 尽管在盐逆境胁迫下 *PtSOS<sub>1</sub>* 过量表达植物和野生型二者体内 K<sup>+</sup> 含量均明显降低, 但过量表达植物中 K<sup>+</sup> 含量下降幅度却显著低于野生型。在盐逆境胁迫下 *PtSOS<sub>1</sub>* 过量表达植物 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 比值也显著高于野生型的。事实上, 在盐逆境下生长的很多植物保持较高的 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 值比维持其细胞内较低 Na<sup>+</sup> 更为重要 (Tester 和 Davenport 2003; Huang 等 2008; Byrt 等 2007), 这很可能与植物能否正常吸收 K<sup>+</sup> 相关。Qi 和 Spalding (2004) 认为, 拟南芥在盐逆境下 AtSOS<sub>1</sub> 具有保护质膜上 K<sup>+</sup> 运输子的运输功能。据 Peng 等 (2004) 报道星星草抗盐胁迫能力与

保持细胞内高浓度的钾离子呈正相关。我们认为, 在盐逆境胁迫下星星草 *PtSOS<sub>1</sub>* 也可能与 K<sup>+</sup> 的运输功能相关, 但这种推测需要我们进一步研究来证实。

#### 参考文献

- 程玉祥 (2008). 星星草质膜 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 逆向转运蛋白基因的克隆和特性分析. 植物生理学通讯, 44 (1): 59~64  
Blumwald E (2000). Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr Opin Cell Biol, 12: 431~443  
Byrt CS, Platten JD, Spielmeier W, James RA, Lagudah ES, Dennis ES, Tester M, Munns R (2007). HKT1;5-like cation transporters linked to Na<sup>+</sup> exclusion loci in wheat, *Nax2* and *Kna1*. Plant Physiol, 143: 1918~1928

- Chen ZH, Pottosin II, Cuin TA, Fuglsang AT, Tester M, Jha D, Zepeda-Jazo I, Zhou MX, Palmgren MG, Newman IA et al (2007). Root plasma membrane transporters controlling  $K^+$ / $Na^+$  homeostasis in salt-stressed barley. *Plant Physiol*, 145: 1714~1725
- Gao XH, Ren ZH, Zhao YX, Zhang H (2003). Overexpression of *SOD2* increases salt tolerance of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 133: 1873~1881
- Hahnenberger KM, Jia Z, Young PG (1996). Functional expression of the *Schizosaccharomyces pombe*  $Na^+/H^+$  antiporter gene, *sod2*, in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 5031~5036
- Huang S, Spielmeier W, Lagudah ES, Munns R (2008). Comparative mapping of HKT genes in wheat, barley, and rice, key determinants of  $Na^+$  transport, and salt tolerance. *J Exp Bot*, 59: 927~937
- Martinez-Atienza J, Jiang X, Garciadeblas B, Mendoza I, Zhu JK, Pardo JM, Quintero FJ (2007). Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiol*, 143: 1001~1012
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651~681
- Niu XM, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (1995). Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol*, 109: 735~742
- Peng YH, Zhu YF, Mao YQ, Wang SM, Su WA, Tang ZC (2004). Alkali grass resists salt stress through high  $[K^+]$  and an endodermis barrier to  $Na^+$ . *J Exp Bot*, 55: 939~949
- Qi Z, Spalding EP (2004). Protection of plasma membrane  $K^+$  transport by the salt overly sensitive1  $Na^+-H^+$  antiporter during salinity stress. *Plant Physiol*, 136: 2548~2555
- Qiu QS, Guo Y, Dietrich MA, Schumaker KS, Zhu JK (2002). Regulation of SOS1, a plasma membrane  $Na^+/H^+$  exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 8436~8441
- Shabala L, Cuin TA, Newman I, Shabala S (2005). Salinity-induced ion flux patterns from the excised roots of *Arabidopsis sos* mutants. *Planta*, 222: 1041~1050
- Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu JK (2000). The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative  $Na^+/H^+$  antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 6896~6901
- Shi H, Lee BH, Wu SJ, Zhu JK (2003). Overexpression of a plasma membrane  $Na^+/H^+$  antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Biotech*, 21: 81~85
- Shi H, Quintero FJ, Pardo JM, Zhu JK (2002). The putative plasma membrane  $Na^+/H^+$  antiporter *SOS1* controls long distance  $Na^+$  transport in plants. *Plant Cell*, 14: 465~477
- Tester M, Davenport R (2003).  $Na^+$  tolerance and  $Na^+$  transport in higher plants. *Ann Bot*, 91: 503~527
- Volkov V, Amtmann A (2006). *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, has specific root ion-channel features supporting  $K^+/Na^+$  homeostasis under salinity stress. *Plant J*, 48: 342~353
- Wu SJ, Lei D, Zhu JK (1996). *SOS1*, a genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition. *Plant Cell*, 8: 617~627
- Xu HX, Jiang XY, Zhan KH, Cheng XY, Chen XJ, Pardo JM, Cui DQ (2008). Functional characterization of a wheat plasma membrane  $Na^+/H^+$  antiporter in yeast. *Arch Biochem Biophys*, 473: 8~15
- Zhu JK, Liu J, Xiong L (1998). Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*: evidence for a critical role of potassium nutrition. *Plant Cell*, 10: 1181~1191