

植物抗盐分子机制及作物遗传改良耐盐性的研究进展

吴运荣, 林宏伟, 莫肖蓉*

浙江大学生命科学学院, 植物生理学与生物化学国家重点实验室, 杭州310058

摘要: 盐胁迫是全球农业生产上的一个主要逆境因子。解析耐盐分子机制有助于培育耐盐能力提高的作物新品种。我们综述了植物对盐胁迫的感应及信号传导、主要Na⁺运输体、盐胁迫下的解毒途径以及耐盐途径中涉及到的表观遗传研究。此外,我们还讨论了利用遗传改良手段提高作物耐盐性的研究进展。

关键词: 植物; 盐胁迫; NaCl; 耐盐; 遗传改良

Research Progress in the Mechanism of Plant Salt Tolerance and Genetic Engineering of Salt Resistant Crops

WU Yun-Rong, LIN Hong-Wei, MO Xiao-Rong*

State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: Soil salinity is a major abiotic stress in plant agriculture worldwide. To engineer salinity-tolerant plants, it is crucial to elucidate the molecular mechanisms of salt-tolerance. Here we reviewed stress sensing and signaling components, as well as key Na⁺ transport and detoxification pathways in the plant salinity stress response. In addition, we described current knowledge of epigenetic chromatin modifications in salinity tolerance response. We also discussed progress in genetic engineering salt tolerance of crops.

Key words: plant; salt stress; NaCl; salinity tolerance; engineering improvement

土壤盐化已经成为全球农业一个持续加剧的问题。耕地中积累的盐主要来源于海水、盐碱湖或灌溉水中的NaCl。土壤中盐浓度过高一方面会降低植物吸收水分的能力造成渗透胁迫;另一方面,根系吸收大量Na⁺与Cl⁻后造成的离子毒害,不仅抑制光合作用,而且Na⁺过高会抑制植物对必需元素K⁺的吸收,造成离子稳态平衡改变以及代谢失调。盐胁迫还会诱导产生活性氧,影响细胞膜的完整性和各种酶的活性等(Gupta和Huang 2014)。植物通过加强水分吸收与减少水分蒸腾散失而减轻渗透胁迫;通过排出叶内的Na⁺以及将Na⁺分隔到液泡中从而减轻Na⁺胁迫的有害效应(Deinlein等2014)。尽管植物拥有一些耐盐的能力,但盐胁迫仍然造成作物产量显著下降。当今世界耕地面积的20%均受到不同程度的盐害影响(Rhoades和Loveday 1990),通过遗传手段改良作物的耐盐性可以扩大耕地使用面积,提高盐碱地作物的产量,因此研究植物的耐盐机制、开发利用耐盐植物资源,培育耐盐作物、有效利用盐碱地对于全球农业发展及生态环境改善都具有重要意义。

1 盐胁迫的信号传导途径

由于植物对NaCl的一些响应与纯粹的渗透胁迫响应是不同的,这表明植物具备感应渗透胁迫与Na⁺胁迫两套感应系统。到目前为止,植物的高渗透感应器与Na⁺感应器仍不清楚。根据目前的知识认为拟南芥组氨酸激酶受体蛋白HK1是高渗透感应器,因为HK1可以互补酵母渗透感应器突变体*Sln1*的表型(Urao等1999),HK1超表达与丧失功能的突变体表现出干旱及渗透胁迫相关的表型(Tran等2007; Wohlbach等2008)。植物对渗透胁迫呈现出许多生理响应,但在*hkl*突变体中仅有部分的渗透响应发生了改变,而仍有另一些渗透胁迫响应却并未受到影响,因此,在*hkl*突变体中肯定还有其他可以感知渗透胁迫的感应器存在(Kumar等2013)。

Ca²⁺浓度的迅速上升是渗透胁迫响应的一个标志特征,对植物进行NaCl或渗透剂甘露醇处理

收稿 2014-08-25 修定 2014-10-07
资助 浙江省自然科学基金(LY14C020003)。

* 通讯作者(E-mail: xiaorong@zju.edu.cn; Tel: 0571-88206133)。

后的几秒钟, 细胞内 Ca^{2+} 浓度就迅速上升, 而且这一响应发生于多种细胞类型中, 这一现象导致人们猜测高渗透胁迫可能是通过机械门控的 Ca^{2+} 通道来感应的(Kurusu等2013)。其他第二信使如活性氧ROS (reactive oxygen species)也受到盐胁迫与高渗透胁迫的诱导, 并且也与 Ca^{2+} 信号相关(Lao-havisit等2012, 2013)。在 Ca^{2+} 的下游一些激酶可能受到激活, 包括钙依赖的蛋白激酶CDPKs (calcium-dependent protein kinases) (Boudsocq和Sheen 2013)、钙依赖的磷酸酶B类蛋白CBLs (calcineurin B-like proteins)和CBL互作蛋白激酶CIPKs (CBL-interacting protein kinase) (Weinl和Kudla 2008)。这些激酶进一步负责将高渗透胁迫信号传导给下游, 从而使下游组份的蛋白活性和基因转录发生相应的改变。此外, 有些下游转录因子可以被 Ca^{2+} /钙调素所直接激活, 例如, 结合钙调素的转录激活因子CAMTAs (calmodulin-binding transcription acti-

vators)、结合GT元件的转录因子GTLs (GT element-binding-like proteins)以及MYBs转录因子(Pandey等2013; Weng等2012; Yoo等2005)。尽管 Ca^{2+} 浓度的迅速上升是渗透胁迫响应的一个标志特征, 植物体内可能还存在着一个不依赖于 Ca^{2+} 浓度的渗透感应机制。对渗透感应器与 Na^+ 感应器的遗传学鉴定将有助于揭示盐胁迫的早期感应机制。

在盐胁迫的早期感应机制下游, 转录因子发挥着重要作用。有多组核心转录因子的基因表达呈现出盐胁迫响应, 包括基本亮氨酸拉链bZIP (basic leucine zipper)、WRKY、AP2 (Apetala2)、NAC家族、bHLH (basic helix-loop-helix)、MYB和C2H2锌指基因(Deinlein等2014; Gupta和Hunag 2014)。这些转录因子进一步调控下游各种基因的表达最终影响了植物的耐盐性(图1)。下游受盐胁迫诱导的基因涉及不同功能, 主要包括与离子运输与离子稳态平衡有关的基因如SOS基因、*NHX1*、

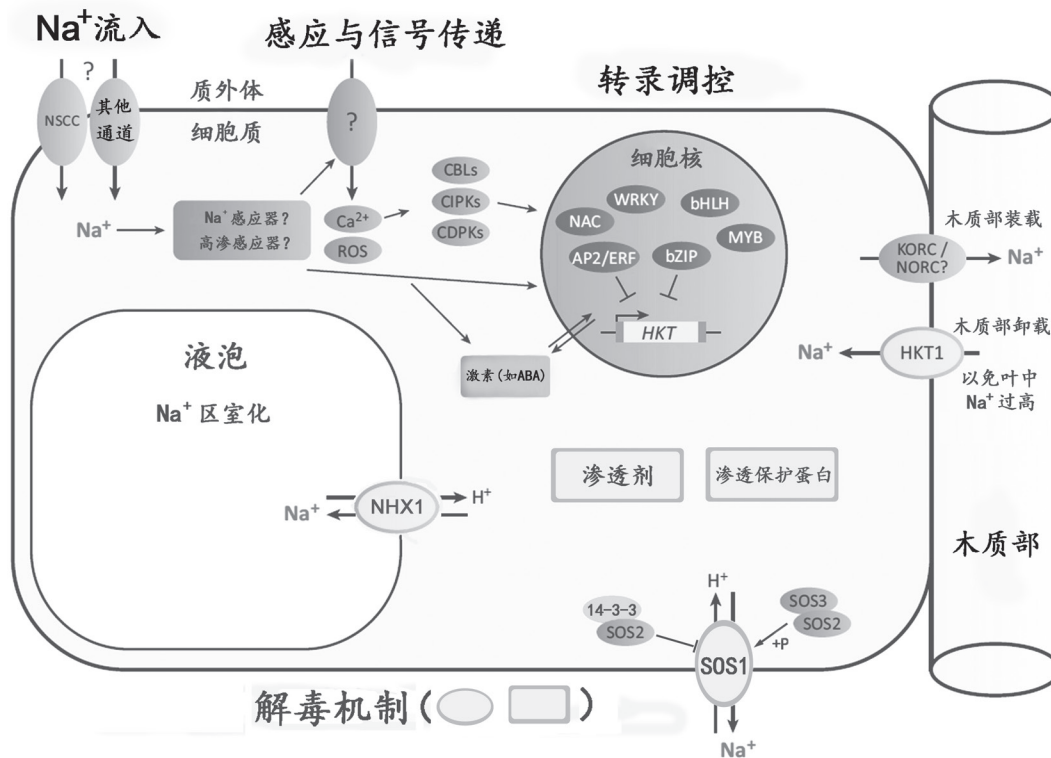


图1 植物根细胞中 Na^+ 运输与盐胁迫响应信号网络

Fig.1 Overview of Na^+ transport system and salt stress response signaling network in plant root cells

根据Deinlein等(2014)文献修改。 Na^+ 流入通道包括NSCCs与其他未知的通道, Na^+ 流入分子机制尚不清楚。盐胁迫的感应与信号传递中, 首先细胞内的 Na^+ 被未知感应器所检测到, 下一步 Ca^{2+} 、ROS和激素信号级联相继被激活。CBLs、CIPKs和CDPKs是 Ca^{2+} 信号途径的一部分。这些信号调控着整个转录组的表达, 激活了细胞内解毒有关的各项基因的表达。带灰边框的浅蓝色图标代表细胞内解除 Na^+ 毒害的机制, 包括NHX、SOS Na^+ 运输机制、渗透保护策略和组织特异性分布的HKT1用于卸载木质部中的 Na^+ 。

H⁺-ATPase; 与衰老相关的基因如*SAG*; 分子伴侣如*HSP*基因; ROS清除相关基因(Gupta和Huang 2014)。

2 Na⁺流入的运输路径

Na⁺通过离子通道与运输载体进入质膜。这些离子通道与运输载体的突变体根中Na⁺的流入直接受到削弱。例如: 可渗透Ca²⁺的非选择性阳离子通道NSCCs (calcium-permeable nonselective cation channels), 包括环式核苷酸门控通道CNGC (cyclic nucleotide-gated channel) (Gobert等2006; Guo等2001)和谷氨酸类受体GLR (glutamate-like receptor) (Tapken和Hollmann 2008), 均可同时渗透Na⁺进入细胞, 因此NSCCs成为Na⁺进入细胞的入口(图1)。此外, 还有一类蛋白, 虽然并不是直接的Na⁺运输通道, 但却在质膜电势维持上起着作用, 从而对Na⁺在体内的积累也有很大的影响。例如植物RCI2 (rare cold inducible 2)家族蛋白与酵母PMP3高度同源, 是一类小分子量疏水蛋白(Medina等2007)。拟南芥RCI2A缺陷突变体的细胞内会累积更多的Na⁺、K⁺, 而超表达植株内则Na⁺、K⁺含量降低, 植株表现出更耐盐害(Mitsuya等2005, 2006)。

在根中不同组织之间的传导运输方面, 内皮层表达的一个阳离子/H⁺反向运输体AtCHX21参与从内皮层细胞到中柱的Na⁺运输(Hall等2006)。根部中柱细胞输出Na⁺后, 被进一步装载入木质部, 然后随木质部蒸腾流传导到植物地上部分。目前认为负责木质部Na⁺装载的运输体可能是外向整流的K⁺通道KORC和NORC (de Boer和Wegner 1997; Wegner和de Boer 1997) (图1)。植物细胞中K⁺的积累可以平衡Na⁺积累的毒害效应, 这说明盐胁迫下的离子稳态平衡需要能够稳定地维持K⁺的获得与分布(Schroeder等1994)。这可以用于解释为何对一个来源于水稻的可渗透Na⁺的K⁺运输载体OsHAK5进行基因超表达后, 可以使烟草悬浮细胞增加耐盐性(Horie等2011)。

3 SOS和NHX在维持细胞质低Na⁺浓度中的作用

在控制细胞质Na⁺维持低浓度中起主要作用两个因子是质膜定位的Na⁺/H⁺反向运输体SOS1 (salt overly sensitive 1) (Qiu等2002; Yamaguchi等2013)和液泡膜定位的Na⁺/H⁺交换器NHX1 (Na⁺/H⁺ exchange 1) (Blumwald和Poole 1985) (图1)。

质膜SOS途径负责将Na⁺输出到细胞外。除了SOS1作为Na⁺/H⁺反向运输体直接负责Na⁺输出外, SOS2与SOS3也是这一途径的主要成员, 担负着对SOS1活性的调节作用。其中SOS2是蛋白激酶(Liu等2000), SOS3是带有4个EF臂的钙结合蛋白(Liu和Zhu 1998)。SOS3钙结合蛋白上的FISL/NAF结构域与SOS2激酶C末端调控结构域发生互动并将SOS2招募到质膜上, 通过依赖于Ca²⁺的方式激活SOS2的激酶活性(Halfter等2000; Albrecht等2001; Guo等2001; Quintero等2002), 接着SOS2-SOS3复合体通过将SOS1 C末端自我抑制结构域处直接磷酸化而激活SOS1的活性(Qiu等2002; Quintero等2002, 2011) (图1)。

与SOS3功能类似的钙结合蛋白SCaBP8 (SOS3-like calcium binding protein 8), 也被称为CBL10 (calcineurin B-like 10), 也负责激活SOS2。SOS3在根中发挥功能, 而SCaBP8则在叶中表达与发挥功能(Kim等2007; Quan等2007)。

SOS2激酶除了可以调控其底物SOS1的活性外, 还可以调控其他运输体的活性, 如调控H⁺/Ca²⁺反向运输体、液泡膜H⁺-ATPase和液泡膜Na⁺/H⁺反向运输体(Cheng等2004; Qiu等2004; Batelli等2007)。

近年来, 又有调控SOS1的新因子被发现, 比如NaCl可诱导磷脂酸与MAPK6 (mitogen-activated protein kinase 6)结合并激活MAPK6的激酶活性, 然后MAPK6进一步将SOS1 C末端自我抑制结构域直接磷酸化而激活SOS1的活性(Yu等2010)。此外, 2个14-3-3蛋白在非盐胁迫下可以与SOS2结合, 抑制SOS2的激酶活性, 从而抑制SOS1的活性; 在盐胁迫下14-3-3蛋白与SOS2之间的结合能力下降, SOS1的功能得到增强(Zhou等2014)。

与SOS途径负责将Na⁺输出到细胞外不同, 大部分NHXs通过将Na⁺运入液泡, 形成区室化分隔, 以降低细胞质中Na⁺的浓度, 从而起到解毒作用。在拟南芥、番茄、水稻中超表达*NHX1*基因均可提高植物的耐盐性(Apse等1999; Zhang和Blumwald 2001)。最近的研究表明, NHX类蛋白对K⁺进入液泡形成区室化分隔中也起着重要作用(Barragan等2012)。番茄中超表达*AtNHX1*后可以增加液泡中的K⁺浓度以及提高根部到叶的K⁺运输(Leidi

等2010), 这有利于提高细胞内 K^+/Na^+ 比例, 从而减轻盐害。另外, 在番茄中 $LeNHX3$ 基因被鉴定为是控制叶中 Na^+ 积累的一个QTL位点(Villalta等2008)。液泡上的NHX反向运输体在渗透调节中发挥重要作用, 而内吞体、高尔基体上存在的NHX反向运输体, 则通过调控细胞器的pH及离子平衡, 以影响内吞体和高尔基体所发挥的一些功能如膜泡运输、蛋白质加工及货物运输, 从而参与抗盐(Yamaguchi等2013; Bassil等2011)。例如, NHX5和NHX6均定位于高尔基体, $nhx5nhx6$ 双突变体对盐害更敏感(Bassil等2011)。

另外, NHX作为 Na^+/H^+ 反向运输体, 液泡中的质子浓度肯定会影响液泡对 Na^+ 的滞留能力, 而维持液泡质子动力势的质子泵有两类, 分别是液泡膜 H^+ -ATPase (V-ATPase)与液泡膜质子-焦磷酸酶 H^+ -PPase AVP1。有趣的是液泡膜 H^+ -ATPase功能缺失并不改变拟南芥的耐盐性(Krebs等2010), 而超表达液泡膜质子-焦磷酸酶 H^+ -PPase AVP1却可以提高液泡内 Na^+ 的滞留而提高植物的耐盐性(Gaxiola等2001; Undurraga等2012)。而反式高尔基体/早期内吞体中 H^+ -ATPase活性下降则可造成盐敏感(Brux等2008)。在大麦中超表达液泡膜质子-焦磷酸酶 $AtAVP1$ 后, 无论是温室还是田间条件下测试, 均可以提高植株的耐盐性(Schilling等2014), 表明在作物中通过增强 H^+ -PPase表达而提高耐盐的潜力已经显现。

4 HKT在根-冠 Na^+ 分配上起着重要作用

植物中介导 Na^+/K^+ 阳离子运输的HKT (histidine kinase transporter)基因存在两个亚型: I型与II型, I型更多地介导 Na^+ 选择性运输, II型则介导 Na^+/K^+ 共运输(Rubio等1995)。拟南芥中唯一的一个HKT基因: $AtHKT1;1$, 编码I型HKT运输体。该基因突变后, 植株在盐害条件下叶中 Na^+ 积累而根中 Na^+ 相应减少, 从而表现出对盐超敏感(Berthomieu等2003; Horie等2006)。拟南芥 $AtHKT1;1$ 及水稻中的同类蛋白OsHKT1;5能够通过介导 Na^+ 进入到木质部周围的薄壁细胞从而将木质部汁液中过多的 Na^+ 除去, 以保护叶片免受 Na^+ 毒害(Ren等2005; Horie等2006; Davenport等2007) (图1)。组织特异性地在根中提高 $AtHKT1;1$ 的表达, 能够增强植株的耐盐性(Møller等2009)。对野生型与 $AtHKT1;1$

突变体的根中柱细胞用膜片钳进行电生理分析证实了 $AtHKT1;1$ 属于被动的 Na^+ 通道(Xue等2011)。此外, $AtHKT1;1$ 介导的木质部中 Na^+ 的去除还能间接地促进 K^+ 装载入木质部维管系统, 从而导致叶中 K^+/Na^+ 比例上升, 这也可以进一步加强对抗 Na^+ 的胁迫(Ren等2005)。对水稻、小麦抗盐的QTL分析得到的主效位点均含有HKT1;5类基因, 该基因编码 Na^+ 选择性的I型HKT运输体, 表明在水稻与小麦中也存在着类似的木质部 Na^+ 卸载机制(Ren等2005; James等2006)。上述结果表明, 木质部薄壁细胞定位的I型HKT运输体对保护光合器官免受盐害非常重要。

$AtHKT1;1$ 的表达调控机制近年来也得到了研究。虽然, 直接激活 $AtHKT1;1$ 基因表达的转录因子尚未得到鉴定。但发现细胞分裂素通过B型响应调节蛋白ARR1和ARR12负向调控着拟南芥根中 $AtHKT1;1$ 的表达。在盐胁迫响应下, 细胞分裂素含量下降, $AtHKT1;1$ 表达则上升(Mason等2010)。最近有报道表明, 根中 $AtHKT1;1$ 的表达还受到转录因子ABI4 (ABA insensitive 4)的负调控(Shkolnik-Inbar等2013)。ABI4功能缺失突变体内, $AtHKT1;1$ 基因表达提高了, 同时冠部 Na^+ 含量下降了, 突变体表现出耐盐性提高, 相反ABI4超表达植株则对盐超敏感(Shkolnik-Inbar等2013)。目前, $AtHKT1;1$ 基因启动子上的一个顺式元件得到了鉴定, 该顺式元件是位于起始密码子上游3.9 kb处的一个重复序列, 当T-DNA插入此处会造成 $AtHKT1;1$ 基因表达的大幅下降, 该顺式元件被认为是调控 $AtHKT1;1$ 基因表达的一个增强子元件(Baek等2011)。此外, $AtrbohF$ 基因编码NADPH氧化酶, 催化ROS的形成。该基因在根的中柱鞘与维管薄壁细胞中表达, 在突变体的维管组织中受盐诱导的ROS积累现象会消失, 造成木质部汁液中 Na^+ 浓度上升, 冠部 Na^+ 超积累(Jiang等2012), 因此ROS信号可能可以增强 $AtHKT1;1$ 介导的木质部汁液中 Na^+ 的卸载, 从而保护叶子免受盐害, 不过这一模型仍需更多证据。以上结果表明在盐胁迫下 $AtHKT1;1$ 的表达通过各种顺式、反式元件介导而受到复杂的信号网络所调控。

5 耐盐相关的表观遗传研究

DNA序列未发生改变, 但DNA上的甲基化或

染色体组蛋白修饰发生改变的表现遗传, 在植物对各种逆境胁迫的适应性上发挥着作用(Baek等2011; Zhu 2008)。实际上人们早就已经认识到植物对环境的响应可以在有丝分裂中被稳定地保持下来, 最著名的例子是春化作用诱导的表现遗传修饰可以在有丝分裂中被保持下来。对逆境的适应也可以在体细胞传代中被保持下来(Binzel等1985)。一些研究表明, 盐胁迫发生时, 当代植株中有染色体修饰在参与抗盐响应。在苗期阶段用轻微盐胁迫锻炼处理后培养于正常条件下的拟南芥表现出高渗引发(priming), 在后期不存在盐胁迫的生长阶段, 锻炼后植株与对照之间没有可见的表型差异, 再用盐胁迫处理后, 发现锻炼过的植株体内HKT1的诱导表达要高于对照组, Na^+ 积累较低, 表现出更抗盐。用ChIP-seq对全基因组4种染色体修饰进行分析表明, 在盐胁迫锻炼后H3K27me3的修饰分布有了改变(Sani等2013)。另一研究报道, *AtHKT1;1*基因启动子上位于起始密码子上游2.6 kb, 正好是一个推测的小RNA结合位点处, 存在着DNA的高度甲基化修饰, 在甲基化修饰突变体中, 该处的甲基化修饰丧失后, *AtHKT1;1*基因表达下降, 植株表现出对盐害超敏感(Baek等2011)。Song等(2012)报道, 盐胁迫处理可以影响大豆4个转录因子的启动子以及编码区域的DNA甲基化状态, 表明这些基因的表现遗传修饰可以增强植物的耐盐性。此外, 水稻中也报道过盐胁迫下表现遗传修饰的响应(Karan等2012; Wang等2011)。值得注意的是, 迄今的抗盐胁迫研究尚未明确显示出耐盐相关的染色体修饰能从上一代遗传给下一代。

6 渗透剂的重要性

有机渗透剂例如脯氨酸、甘氨酸甜菜碱、糖醇、多胺和LEA (late embryogenesis abundant, 晚期胚胎发生富集蛋白)家族成员蛋白, 在维持植物细胞渗透势, 防止盐害效应上起着重要作用(Deinlein等2014) (图1)。高盐条件下的代谢重新安排以及渗透剂水平的调控网络对于植物耐盐性是很重要的。盐胁迫可以促进脯氨酸的合成, 拟南芥编码脯氨酸合成的一个关键基因敲除后会造成突变体内脯氨酸含量的下降, 并表现对盐害超敏感(Székely等2008)。很多年来, 脯氨酸的作用一直被认为是在渗透调节中起着重要作用, 不过也有另

外一些功能被陆续提出, 比如作为活性氧清除剂、氧化还原反应的缓冲剂、分子伴侣和维持盐胁迫下蛋白及膜结构的稳定性(Verbruggen和Hermans 2008)。许多植物能够合成甘氨酸甜菜碱以平衡盐害下细胞内的渗透势。有证据表明甘氨酸甜菜碱可以参与盐胁迫下对主要酶类以及细胞膜结构进行保护(Guinn等2011)。尽管甘氨酸甜菜碱被报道在维持ROS清除的酶活性的保持上起着重要作用(Chen和Murata 2011), 但并未有证据表明它能直接作为ROS清除剂。LEA蛋白主要由亲水性氨基酸组成, 因此具有较高水合能力, 可能通过结合水分或替代水分子保护细胞免受胁迫的伤害。盐胁迫下, LEA蛋白大量积累, 在拟南芥中超表达LEA基因后, 植株抗盐性增强(Dalal等2009)。

7 其他耐盐相关的调节因子

了解更多其他盐胁迫响应途径的关键成员, 通过对这些成员的基因操控, 可以获得耐盐增强的转基因植株。最近报道R2R3-MYB类转录因子AtMYB20负调控磷酸酶PP2Cs, 由于PP2Cs是ABA信号途径的负调控因子(Merlot等2001), 作者预测AtMYB20超表达植株可以通过降低PP2Cs的表达从而增强植物耐盐性。实验结果最终表明AtMYB20超表达植株的确显示出更强的耐盐性, AtMYB20表达下降的植株则对盐害超敏感(Cui等2013)。另外, Novillo等(2004)报道, 转录因子CBF2/DREB1C负调控一些逆境响应基因的表达, CBF2/DREB1C缺陷的*cbf2*突变体表现出对盐、冷、干旱等胁迫的抗逆增强。最近鉴定的另一个参与盐胁迫响应的基因是泛素特异性蛋白酶UBP16 (ubiquitin-specific protease 16)。UBP16缺陷的突变体植株叶中积累更高的 Na^+ , 表现出盐害超敏感(Zhou等2012)。这表明UBP16可能是 Na^+ 运输过程的一个重要调控因子。此外, 植物可以通过调节水通道蛋白的活性, 协同微调水分的跨膜运输, 进而维持高渗条件下的水分平衡以抵御盐胁迫。大豆质膜水通道蛋白基因*GmPIPI1;6*超表达后植株耐盐性增强(Zhou等2014)。

8 植物耐盐改良的转基因工程

由于*AtHKT1;1*的表达量是叶中 Na^+ 含量的一个重要决定因子, 因此对*AtHKT1;1*的表达与活性的调控可以作为耐盐改良基因工程的一个重要调

控节点。例如已知拟南芥中*AtHKTI;1*的表达受到基本亮氨酸拉链转录因子*bZIP24*的负调控(Yang等2009),对*bZIP24*的RNA干涉植株则耐盐性提高。除了*AtHKTI;1*可以作为耐盐基因工程的一个重要调控节点外,通过对盐胁迫响应途径中其他关键成员基因的操控,也可以获得耐盐增强的转基因植株,比如本文前面已提到的*NHX1*超表达、*SOS1*超表达、*AtMYB20*超表达、液泡膜质子-焦磷酸酶H⁺-PPase超表达、*LEA*基因超表达等。

盐胁迫诱导产生的活性氧也是高盐造成细胞伤害的一个重要原因。因此很多转基因提高植物耐盐性所采用的策略就是加强ROS清除能力而使植物解毒。例如对谷胱甘肽过氧化物酶、超氧歧化酶、抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶的超表达均有助于抗盐(Zhu 2001)。另外水稻转录因子SERF (salt-responsive ERF1)被鉴定为可以增强盐胁迫下ROS激活的MAP激酶级联反应(Schmidt等2013)。高盐胁迫可以诱导根中*SERF1*的表达,而*SERF1*缺陷的水稻突变体缺乏盐诱导响应。*serf1*突变体叶盐超敏感,而*SERF1*超表达植株则表现抗性增强(Schmidt等2013)。

9 作物非转基因遗传改良育种

转基因作物增强耐盐性是可以预期的,但是以食用为目的的转基因作物的安全性有待长期评估,每一种转基因产品都需要分别鉴定。就目前的情况来说,大众心理上还未能接受食用转基因农产品,因此利用非转基因的遗传改良育种来加强作物的耐盐性是非常实用有效的手段。

目前主要作物的多数栽培品种对盐胁迫是高度或中度敏感的,在盐碱大田中表现较差。幸运的是在大部分作物中,耐盐遗传资源已经得到鉴定,其中大部分抗盐性状种质来自野生种或近野生种。利用QTL分析技术鉴定出这些抗盐性状相关的位点,再结合分子标记辅助选择将之导入栽培品种,是非常有前景的育种手段。目前不同作物中大量的耐盐性状有关的QTL位点已经被报道,但通过分子标记辅助选择将这些基因或QTL信息真正导入栽培品种以提高耐盐性并进行了田间评估的实例则并不多(Ashraf和Foolad 2013)。其中一个例子是澳大利亚CSIRO的Muuns (2012)研究小组最近培育出了高耐盐硬质小麦栽培品种。他们

利用分子标记辅助将来源于小麦祖先近缘种*Triticum monococcum*中的*HKTI;5*基因导入了商品化硬质小麦栽培种*Triticum turgidum* ssp. *durum* var. *Tamaroi*后,该新品种在澳大利亚天然盐碱土壤的大田试验中籽粒产量比对照提高了25%。另一个例子是孟加拉国水稻研究所将之前国际水稻研究所已经鉴定的一个位于水稻第一号染色体上控制离子吸收有关的一个QTL位点Saltol导入到了2个高产的商品化水稻栽培品种‘BR11’和‘BR28’中,在盐碱土上也表现出比对照增产(Ashraf和Foolad 2013)。

近年CRISPR/Cas (clustered regulatory interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins)技术得以迅速发展(Belhaj等2013),在对基因特定区域进行突变修饰后,在转基因后代中可以将引发此次DNA编辑的载体序列完全分离掉,而基因组上已经产生的目的基因的突变则得以维持,以此创建出的遗传改良作物无需担忧转基因序列存在所带来的风险,这一技术必将在作物遗传改良育种中发挥重要作用。

CRISPR/Cas技术加强耐盐需要针对的靶点是已知的耐盐途径负向调控因子。耐盐途径正向调控因子基因超表达造成耐盐性增强的例子很多,但突变或干涉造成耐盐增强的负向调控因子的例子不多。已知的是转录因子CBF2/DREB1C与*bZIP24*。另外,最近Kazama等(2013)利用将大量转录因子融合一个很强的转录抑制子EAR基序后创建的CRES-T (chimeric repressor gene-silencing technology)转基因库,筛选到6个转录因子在融合了转录抑制结构域后表现出耐盐增强,意味着这类耐盐途径负向调控基因可以作为今后CRISPR/Cas的突变靶点,以获得不含转基因序列的遗传改良新品种。

10 总结与展望

在过去十多年中,人们对植物盐胁迫响应和耐盐机制的了解有了迅速的飞跃。能够提高植物耐盐性的相关基因主要涉及Na⁺运输体(如:HKTs、NHXs和SOS1)、活性氧清除剂以及其他调节离子稳态平衡的基因。但是还有许多未知领域有待进一步揭示。例如,盐害的受体与感应机制仍有待阐明。此外,针对前面所述的各种Na⁺相

关运输过程, 有哪些是可以综合到一起来提高植物的抗盐能力也仍有待明确。令人振奋的是, 分子标记辅助育种和先进生物技术手段已经显示出可以培育出耐盐能力增强的作物。随着耐盐机制的进一步深入阐明, 抗盐遗传育种必将显示出其更大的贡献。

参考文献

- Albrecht V, Ritz O, Linder S, Harter K, Kudla J (2001). The NAF domain defines a novel protein-protein interaction module conserved in Ca^{2+} -regulated kinases. *EMBO J*, 20: 1051~1063
- Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter in *Arabidopsis*. *Science*, 285: 1256~1258
- Ashraf M, Foolad M (2013). Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breeding*, 132: 10~20
- Baek D, Jiang J, Chung JS, Wang B, Chen J, Xin, Z, Shi H (2011). Regulated *AtHKT1* gene expression by a distal enhancer element and DNA methylation in the promoter plays an important role in salt tolerance. *Plant Cell Physiol*, 52: 149~161
- Barragan V, Leidi EO, Andres Z, Rubio L, De Luca A, Fernandez JA, Cubero B, Pardo JM (2012). Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 1127~1142
- Bassil E, Ohto MA, Esumi T, Tajima H, Zhu Z, Cagnac O, Belmonte M, Peleg Z, Yamaguchi T, Blumwald E (2011). The *Arabidopsis* intracellular Na^+/H^+ antiporters NHX5 and NHX6 are endosome associated and necessary for plant growth and development. *Plant Cell*, 23: 224~239
- Batelli G, Verslues PE, Agius F, Qiu Q, Fujii H, Pan S, Schumaker KS, Grillo S, Zhu JK (2007). SOS2 promotes salt tolerance in part by interacting with the vacuolar H^+ -ATPase and upregulating its transport activity. *Mol Cell Biol*, 27: 7781~7790
- Belhaj K, Chaparro-Garcia A, Kamoun S, Nekrasov V (2013). Plant genome editing made easy: targeted mutagenesis in model and crop plants using the CRISPR/Cas system. *Plant Methods*, 9: 39
- Berthomieu P, Conéjéro G, Nublat A, Brackenbury WJ, Lambert C, Savio C, Uozumi N, Oiki S, Yamada K, Cellier F et al (2003). Functional analysis of *AtHKT1* in *Arabidopsis* shows that Na^+ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO J*, 22: 2004~2014
- Binzel ML, Hasegawa PM, Handa AK, Bressan RA (1985). Adaptation of tobacco cells to NaCl. *Plant Physiol*, 79: 118~125
- Blumwald E, Poole RJ (1985). Na^+/H^+ antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 78: 163~167
- Boudsocq M, Sheen J (2013). CDPKs in immune and stress signaling. *Trends Plant Sci*, 18: 30~40
- Brüx A, Liu TY, Krebs M, Stierhof YD, Lohmann JU, Miersch O, Wasternack C, Schumacher K (2008). Reduced V-ATPase activity in the *trans*-Golgi network causes oxylipin-dependent hypocotyl growth inhibition in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 1088~1100
- Cheng NH, Pittman JK, Zhu JK, Hirschi KD (2004). The protein kinase SOS2 activates the *Arabidopsis* $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter CAX1 to integrate calcium transport and salt tolerance. *J Biol Chem*, 279: 2922~2926
- Chen TH, Murata N (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell Environ*, 34: 1~20
- Cui MH, Yoo KS, Hyoung S, Nguyen HT, Kim YY, Kim HJ, Ok SH, Yoo SD, Shin JS (2013). An *Arabidopsis* R2R3-MYB transcription factor, AtMYB20, negatively regulates type 2C serine/threonine protein phosphatases to enhance salt tolerance. *FEBS Lett*, 587: 1773~1778
- Dalal M, Tayal D, Chinnusamy V, Bansal KC (2009). Abiotic stress and ABA-inducible group 4 *LEA* from *Brassica napus* plays a key role in salt and drought tolerance. *J Biotechnol*, 139: 137~145
- Davenport RJ, Munoz-Mayor A, Jha D, Essah PA, Rus ANA, Tester M (2007). The Na^+ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na^+ from the xylem in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 30: 497~507
- de Boer AH, Wegner LH (1997). Regulatory mechanisms of ion channels in xylem parenchyma cells. *J Exp Bot*, 48: 441~449
- Deinlein U, Stephan AB, Horie T, Luo W, Xu G, Schroeder JI (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends Plant Sci*, 19: 371~379
- Gaxiola RA, Li JS, Undurraga S, Dang LM, Allen GJ, Alper SL, Fink GR (2001). Drought- and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H^+ -pump. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 11444~11449
- Goibert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJ (2006). *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *J Exp Bot*, 57: 791~800
- Guinn EJ, Pegram LM, Capp MW, Pollock MN, Record MT Jr (2011). Quantifying why urea is a protein denaturant, whereas glycine betaine is a protein stabilizer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 16932~16937
- Guo Y, Halfter U, Ishitani M, Zhu JK (2001). Molecular characterization of functional domains in the protein kinase SOS2 that is required for plant salt tolerance. *Plant Cell*, 13: 1383~1400
- Gupta B, Huang B (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *Int J Genomics*, Article ID 701596
- Halfter U, Ishitani M, Zhu JK (2000). The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 3735~3740
- Hall D, Evans AR, Newbury HJ, Pritchard J (2006). Functional analysis of CHX21: a putative sodium transporter in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 57: 1201~1210
- Horie T, Horie R, Chan WY, Leung HY, Schroeder JI (2006). Calcium regulation of sodium hypersensitivities of *sos3* and *athkt1* mutants. *Plant Cell Physiol*, 47: 622~633
- Horie T, Sugawara M, Okada T, Taira K, Kaothien-Nakayama P, Katsuhara M, Shinmyo A, Nakayama H (2011). Rice sodium-insensitive potassium transporter, OsHAK5, confers increased salt

- tolerance in tobacco BY2 cells. *J Biosci Bioeng*, 111: 346~356
- James RA, Davenport RJ, Munns R (2006). Physiological characterization of two genes for Na⁺ exclusion in durum wheat, *Nax1* and *Nax2*. *Plant Physiol*, 142: 1537~1547
- Jiang C, Belfield EJ, Mithani A, Visscher A, Ragoussis J, Mott R, Smith JAC, Harberd NP (2012). ROS-mediated vascular homeostatic control of root-to-shoot soil Na delivery in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 31: 4359~4370
- Karan R, DeLeon T, Biradar H, Subudhi PK (2012). Salt stress induced variation in DNA methylation pattern and its influence on gene expression in contrasting rice genotypes. *PLoS ONE*, 7: e40203
- Kazama D, Itakura M, Kurusu T, Mitsuda N, Ohme-Takagi M, Tada Y (2013). Identification of chimeric repressors that confer salt and osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plants*, 2: 769~785
- Kim BG, Waadt R, Cheong YH, Pandey GK, Dominguez-Solis JR, Schülke S, Lee SC, Kudla J, Luan S (2007). The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 52: 473~484
- Krebs M, Beyhl D, Görlich E, Al-Rasheid KA, Marten I, Stierhof YD, Hedrich R, Schumacher K (2010). *Arabidopsis* V-ATPase activity at the tonoplast is required for efficient nutrient storage but not for sodium accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 3251~3256
- Kumar MN, Jane WN, Verslues PE (2013). Role of the putative osmosensor *Arabidopsis histidine kinase1* in dehydration avoidance and low-water-potential response. *Plant Physiol*, 161: 942~953
- Kurusu T, Kuchitsu K, Nakano M, Nakayama Y, Iida H (2013). Plant mechano sensing and Ca²⁺ transport. *Trends Plant Sci*, 18: 227~233
- Laohavisit A, Shang Z, Rubio L, Cuin TA, Véry AA, Wang A, Mortimer JC, Macpherson N, Coxon KM, Battey NH et al (2012). *Arabidopsis* annexin1 mediates the radicalactivated plasma membrane Ca²⁺- and K⁺-permeable conductance in root cells. *Plant Cell*, 24: 1522~1533
- Laohavisit A, Richards SL, Shabala L, Chen C, Colaço RD, Swarbreck SM, Shaw E, Dark A, Shabala S, Shang Z, Davies JM (2013). Salinity-induced calcium signaling and root adaptation in *Arabidopsis* require the calcium regulatory protein annexin1. *Plant Physiol*, 163: 253~262
- Leidi EO, Barragan V, Rubio L, El-Hamdaoui A, Ruiz MT, Cubero B, Fernandez JA, Bressan RA, Hasegawa PM, Quintero FJ, Pardo JM (2010). The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato. *Plant J*, 61: 495~506
- Liu J, Ishitani M, Halfter U, Kim CS, Zhu JK (2000). The *Arabidopsis thaliana* *SOS2* gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 3730~3734
- Liu J, Zhu JK (1998). A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science*, 280: 1943~1945
- Mason MG, Jha D, Salt DE, Tester M, Hill K, Kieber JJ, Schaller GE (2010). Type-B response regulators ARR1 and ARR12 regulate expression of *AtHKT1;1* and accumulation of sodium in *Arabidopsis* shoots. *Plant J*, 64: 753~763
- Medina J, Ballesteros ML, Salinas J (2007). Phylogenetic and functional analysis of *Arabidopsis RCI2* genes. *J Exp Bot*, 58: 4333~4346
- Merlot S, Gosti F, Guerrier D, Vavasseur A, Giraudat J (2001). The ABI1 and ABI2 protein phosphatases 2C act in a negative feedback regulatory loop of the abscisic acid signalling pathway. *Plant J*, 25: 295~303
- Mitsuya S, Taniguchi M, Miyake H, Takabe T (2005). Disruption of *RCI2A* leads to over-accumulation of Na⁺ and increased salt sensitivity in *Arabidopsis thaliana* plants. *Planta*, 222: 1001~1009
- Mitsuya S, Taniguchi M, Miyake H, Takabe T (2006). Overexpression of *RCI2A* decreases Na⁺ uptake and mitigates salinity-induced damages in *Arabidopsis thaliana* plants. *Physiol Plant*, 128: 95~102
- Møller IS, Gilliam M, Jha D, Mayo GM, Roy SJ, Coates JC, Haseloff J, Tester M (2009). Shoot Na⁺ exclusion and increased salinity tolerance engineered by cell type-specific alteration of Na⁺ transport in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 2163~2178
- Munns R, James RA, Xu B, Athman A, Conn SJ, Jordans C, Byrt CS, Hare RA, Tyerman SD, Tester M et al (2012). Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral transporter gene. *Nat Biotechnol*, 30: 360~364
- Novillo F, Alonso JM, Ecker JR, Salinas J (2004). CBF2/DREB1C is a negative regulator of *CBF1/DREB1B* and *CBF3/DREB1A* expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 3985~3990
- Pandey N, Ranjan A, Pant P, Tripathi RK, Ateek F, Pandey HP, Patre UV, Sawant SV (2013). CAMTA 1 regulates drought responses in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 14: 216
- 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
- Qiu QS, Guo Y, Quintero FJ, Pardo JM, Schumaker KS, Zhu JK (2004). Regulation of vacuolar Na⁺/H⁺ exchange in *Arabidopsis thaliana* by the salt-overly-sensitive (SOS) pathway. *J Biol Chem*, 279: 207~215
- Quan R, Lin H, Mendoza I, Zhang Y, Cao W, Yang Y, Shang M, Chen S, Pardo JM, Guo Y (2007). SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress. *Plant Cell*, 19: 1415~1431
- Quintero FJ, Martinez-Atienza J, Villalta I, Jiang X, Kim WY, Ali Z, Fujii H, Mendoza I, Yun DJ, Zhu JK, Pardo JM (2011). Activation of the plasma membrane Na/H antiporter Salt-Overly-Sensitive 1 (SOS1) by phosphorylation of an auto-inhibitory C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 2611~2616
- Quintero FJ, Ohta M, Shi H, Zhu JK, Pardo JM (2002). Reconstitution in yeast of the *Arabidopsis* SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 9061~9066
- Ren ZH, Gao JP, Li LG, Cai XL, Huang W, Chao DY, Zhu MZ, Wang ZY, Luan S, Lin HX (2005). A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 37: 1141~1146
- Rhoades JD, Loveday J (1990). Salinity in irrigated agriculture. In: Steward BA, Nielsen DR (eds). American Society of Civil Engineers, Irrigation of Agricultural Crops (Monograph 30). Ameri-

- can Society of Agronomists, 1089~1142
- Rubio F, Gassmann W, Schroeder JI (1995). Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. *Science*, 270: 1660~1663
- Sani E, Herzyk P, Perrella G, Colot V, Amtmann A (2013). Hyperosmotic priming of *Arabidopsis* seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome. *Genome Biol*, 14: R59
- Schilling RK, Marschner P, Shavrukov Y, Berger B, Tester M, Roy SJ, Plett DC (2014). Expression of the *Arabidopsis* vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (*AVP1*) improves the shoot biomass of transgenic barley and increases grain yield in a saline field. *Plant Biotechnol J*, 12: 378~386
- Schmidt R, Mieulet D, Hubberten HM, Obata T, Hoefgen R, Fernie AR, Fisahn J, San Segundo B, Guiderdoni E, Schippers JH, Mueller-Roeber B (2013). Salt-responsive ERF1 regulates reactive oxygen species-dependent signaling during the initial response to salt stress in rice. *Plant Cell*, 25: 2115~2131
- Schroeder JI, Ward JM, Gassmann W (1994). Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying K⁺ channels in higher plants: biophysical implications for K⁺ uptake. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 23: 441~471
- Shkolnik-Inbar D, Adler G, Bar-Zvi D (2013). ABI4 downregulates expression of the sodium transporter *HKT1;1* in *Arabidopsis* roots and affects salt tolerance. *Plant J*, 73: 993~1005
- Song Y, Ji D, Li S, Wang P, Li Q, Xiang F (2012). The dynamic changes of DNA methylation and histone modifications of salt responsive transcription factor genes in soybean. *PLoS ONE*, 7: e41274
- Székely G, Ábrahám E, Cséplő Á, Rigó G, Zsigmond L, Csiszár J, Ayaydin F, Strizhov N, Jásik J, Schmelzer E et al (2008). Duplicated *P5CS* genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant J*, 53: 11~28
- Tapken D, Hollmann M (2008). *Arabidopsis thaliana* glutamate receptor ion channel function demonstrated by ion pore transplantation. *J Mol Biol*, 383: 36~48
- Tran LSP, Urao T, Qin F, Maruyama K, Kakimoto T, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007). Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 20623~20638
- Undurraga SF, Santos MP, Paez-Valencia J, Yang HB, Hepler PK, Facanha AR, Hirschi KD, Gaxiola RA (2012). *Arabidopsis* sodium dependent and independent phenotypes triggered by H⁺-PPase up-regulation are SOS1 dependent. *Plant Sci*, 183: 96~105
- Urao T, Yakubov B, Satoh R, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M, Hirayama T, Shinozaki K (1999). A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell*, 11: 1743~1754
- Verbruggen N, Hermans C (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35: 753~759
- Villalta I, Reina-Sanchez A, Bolarin MC, Cuartero J, Belver A, Venema K, Carbonell EA, Asins MJ (2008). Genetic analysis of Na⁺ and K⁺ concentrations in leaf and stem as physiological components of salt tolerance in tomato. *Theor Appl Genet*, 116: 869~880
- Wang W, Zhao X, Pan Y, Zhu L, Fu B, Li Z (2011). DNA methylation changes detected by methylation-sensitive amplified polymorphism in two contrasting rice genotypes under salt stress. *J Genet Genomics*, 38: 419~424
- Wegner LH, de Boer AH (1997). Properties of two outward-rectifying channels in root xylem parenchyma cells suggest a role in K⁺ homeostasis and long-distance signaling. *Plant Physiol*, 115: 1707~1719
- Weinl S, Kudla J (2008). The CBL-CIPK Ca²⁺-decoding signaling network: function and perspectives. *New Phytol*, 179: 675~686
- Weng H, Yoo CY, Gosney MJ, Hasegawa PM, Mickelbart MV (2012). Poplar GTL1 is a Ca²⁺/calmodulin-binding transcription factor that functions in plant water use efficiency and drought tolerance. *PLoS ONE*, 7: e32925
- Wohlbach DJ, Quirino BF, Sussman MR (2008). Analysis of the *Arabidopsis* histidine kinase ATHK1 reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation. *Plant Cell*, 20: 1101~1117
- Xue S, Yao X, Luo W, Jha D, Tester M, Horie T, Schroeder JI (2011). AtHKT1;1 mediates nernstian sodium channel transport properties in *Arabidopsis* root stelar cells. *PLoS ONE*, 6: e24725
- Yamaguchi T, Hamamoto S, Uozumi N (2013). Sodium transport system in plant cells. *Front Plant Sci*, 4: 410
- Yang O, Popova OV, Süthoff U, Lükling I, Dietz KJ, Gollmack D (2009). The *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factor *AtbZIP24* regulates complex transcriptional networks involved in abiotic stress resistance. *Gene*, 436: 45~55
- Yoo JH, Park CY, Kim JC, Heo WD, Cheong MS, Park HC, Kim MC, Moon BC, Choi MS, Kang YH et al (2005). Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, MYB2, enhances salt tolerance in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 280: 3697~3706
- Yu L, Nie J, Cao C, Jin Y, Yan M, Wang F, Liu J, Xiao Y, Liang Y, Zhang W (2010). Phosphatidic acid mediates salt stress response by regulation of MPK6 in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 188: 762~773
- Zhang HX, Blumwald E (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat Biotechnol*, 19: 765~768
- Zhou H, Lin H, Chen S, Becker K, Yang Y, Zhao J, Kudla J, Schumaker KS, Guo Y (2014). Inhibition of the *Arabidopsis* salt overly sensitive pathway by 14-3-3 proteins. *Plant Cell*, 26: 1166~1182
- Zhou H, Zhao J, Yang Y, Chen C, Liu Y, Jin X, Chen L, Li X, Deng XW, Schumaker KS, Guo Y (2012). UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE16 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by regulating Na⁺/H⁺ antiport activity and serine hydroxymethyltransferase stability. *Plant Cell*, 24: 5106~5122
- Zhou L, Wang C, Liu R, Han Q, Vandeleur RK, Du J, Tyerman S, Shou H (2014). Constitutive overexpression of soybean plasma membrane intrinsic protein GmPIP1;6 confers salt tolerance. *BMC Plant Biol*, 14: 181~193
- Zhu JK (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 6: 66~71
- Zhu JK (2008). Epigenome sequencing comes of age. *Cell*, 133: 395~397