

综述 Reviews

植物盐腺泌盐研究进展

袁芳, 冷冰莹, 王宝山*

山东师范大学生命科学学院逆境植物重点实验室, 济南250014

摘要: 盐腺是泌盐盐生植物的重要表皮结构, 可将植物体内积累的过多离子直接排出体外而避免盐害。上个世纪90年代以前主要从盐腺超微结构和生理学方面研究泌盐机理, 近期的研究发现了大量与盐腺泌盐相关的结构和控制泌盐的关键基因, 揭示了盐腺泌盐的可能机制。本文重点论述近年来有关盐腺的结构、盐腺分泌的生理及分子机制方面的进展, 并对将来盐腺泌盐研究的几个问题提出了看法。

关键词: 盐腺; 盐腺泌盐; 盐腺结构; 基因; 泌盐机理

Research Progress in Salt Secretion of Salt Glands in Plants

YUAN Fang, LENG Bing-Ying, WANG Bao-Shan*

Key Laboratory of Plant Stress Research, College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

Abstract: Salt gland is an important epidermal structure of recreto-halophyte, which can directly exclude excessive ions out of plants in order to avoid salt stress. Salt-tolerance mechanism was studied mainly from the two aspects before 1990s: salt gland ultrastructure and physiology. Recent studies revealed the structures of salt glands involved in salt secretion and the key genes participating in salt secretion. The mechanism of salt secretion may be explained. In this review, we discussed the progress in the study of salt gland structure, and the physiology and molecular mechanisms of salt secretion. Future prospects related to salt secretion are proposed.

Key words: salt gland; salt secretion of salt gland; salt gland structure; genes; salt secretion mechanism

在盐渍环境下, 盐生植物进化出一系列抗盐机制来抵抗盐胁迫, 如将离子区域化到液泡中或根茎结合部阻止离子向地上部运输, 或者通过泌盐结构直接排出体外, 从而实现避免或降低各类盐离子毒害的目的。在植物的抗盐机制中, 泌盐盐生植物具有独特的泌盐结构——盐腺或盐囊泡, 将体内积累的过多盐分直接排出体外, 从而避免盐胁迫。这种典型的泌盐结构也是泌盐盐生植物与其他盐生植物以及所有非盐生植物最显著的结构区别。近年来对泌盐盐生植物的研究逐渐增多, 集中于盐腺或盐囊泡的结构和泌盐机理方面, 已对盐腺泌盐的生理及分子机理研究有了一定的进展。本文就泌盐盐生植物盐腺的结构、盐腺分泌的生理及分子机制方面研究进展进行了总结, 并提出了该领域需要解决的问题, 以期使植物盐腺的泌盐机理更深入一个层次。

1 泌盐盐生植物的分类

周三等(2001)综合了大量植物分类学家的观点(Biebl和Kinzel 1965; Lipshitz和Waisel 1974),

统计到全世界的泌盐盐生植物有14科96属370种左右, 主要分为两类: 向盐囊泡泌盐的泌盐盐生植物和利用盐腺向外泌盐的泌盐盐生植物。其中盐腺结构可以将泌盐盐生植物吸收到体内的过多富集的离子直接排出体外, 在最大程度上避免了盐对植物体的伤害, 同时也维持了离子平衡, 从而保证新陈代谢的正常顺利进行。具有盐囊泡的植物主要把盐离子区域化到盐囊泡中, 随着盐囊泡的破裂把盐释放到体外(Ding等2010b)。

具有盐腺的被子植物, 主要见于12个科中, 具体包括双子叶植物: 爵床科(Acanthaceae)、玄参科(Scrophulariaceae)、马鞭草科(Avicenniaceae)、旋

收稿 2015-07-01 修定 2015-08-29

资助 国家科技支撑计划课题(2009BADA7B05)、山东省自然科学基金重点项目(ZR2014CZ002)、教育部博士点基金优先发展领域(20123704130001)、山东省中青年科学家科研奖励基金(BS2015SW027)和山东省高等学校科技计划(J15LE08)。

* 通讯作者(E-mail: bswang@sdu.edu.cn; Tel: 0531-86180197)。

花科(Convolvulaceae)、瓣鳞花科(Frankeniaceae)、柽柳科(Tamaricaceae)、白花丹科(Plumbagenaceae)、紫金牛科(Myrsinaceae)、报春花科(Primulaceae)、红树科(Rhizophoraceae)、海桑科(Sonneratiaceae); 以及单子叶植物: 禾本科(Poaceae) (Flowers等2010; 周三等2001)。不同科的泌盐盐生植物的盐腺结构差异较大, 如白花丹科补血草属(*Limonium*)植物的盐腺具有16个细胞的结构(Yuan等2015; Ziegler和Lüttge 1967), 而柽柳科植物的盐腺具有8个细胞结构(Bosabalidis和Thomson 1984; Thomson和Platt-Aloia 1985), 红树科泌盐盐生植物的盐腺则以多细胞为主(Drennan等1987; Tan等2013), 禾本科植物的盐腺属于双细胞结构(Semenova等2010)。

2 盐腺的结构和功能研究

2.1 盐腺的基本结构

国内外研究学者在20世纪90年代之前, 对于盐腺的形态解剖结构的研究较多, 对盐腺的基本结构已进行了大量的工作, 主要采用了传统的透射电镜观察来进行(Bosabalidis和Thomson 1984; Shimony和Fahn 1968; Wiehe和Breckle 1990)。根据组成细胞数量的不同将盐腺分为双细胞盐腺和多细胞盐腺。

双细胞盐腺主要存在于单子叶植物中, 以禾本科植物为主, 根据盐腺是否下陷于表皮和有否分泌功能, 将双细胞盐腺分为三大类(Semenova等2010; 赵可夫等2013): (1)盐腺具有较强分泌功能并下陷于表皮, 如大米草和盐草属植物的盐腺; (2)盐腺具有很弱的分泌功能并凸出于表皮, 如格兰马草属(*Bouteloua*)、黍属(*Panicum*)等; (3)盐腺的功能和生长形态介于以上两类之间, 如弯穗草属(*Dinebra*)、龙爪茅属(*Dactyloctenium*)等(袁芳2014)。

大部分双子叶泌盐盐生植物具有多细胞盐腺, 尽管不同物种中多细胞盐腺的组成及结构不尽相同, 但是普遍具有外覆角质层、胞间连丝密集、线粒体发达、无叶绿体和中央大液泡的发育、富含小囊泡等共同特点(Tan等2010, 2013; Thomson和Platt-Aloia 1985; 丁烽2010; 王宝山2010)。

与单子叶禾本科泌盐盐生植物的研究相比, 目前对双子叶泌盐盐生植物的多细胞盐腺的结构研究较多, 主要以柽柳属(*Tamarix*)和补血草属(*Limonium*)的植物为代表, 从上世纪60年代开始就

对柽柳属盐腺进行了较详细研究(Shimony和Fahn 1968; Thomson和Liu 1967; Thomson和Platt-Aloia 1985), 其盐腺由8个细胞组成, 内层有2个收集细胞, 具有大液泡, 外层6个分泌细胞, 具有浓缩的细胞质, 分泌细胞和收集细胞之间存在大量的胞间连丝, 分泌细胞中存在大量的线粒体和细胞壁的突起, 而且腺体中存在大量的小囊泡(Thomson和Liu 1967), 这些结构决定了柽柳属盐腺的较强的分泌作用。

补血草属盐腺结构的研究同样追溯到上世纪60年代, 以Ziegler和Lüttge (1967)为代表, 在盐腺细胞中同样发现存在大量的胞间连丝和小囊泡现象, 这与盐腺的分泌功能密切相关。对补血草属植物盐腺结构的研究, 目前进展较为显著的集中于国内(陆静梅等1995; 倪细炉等2012; 辛莎莎等2011)。综合采用石蜡切片和超薄切片技术, 对补血草属盐腺的结构研究发现, 具有典型的泌盐孔结构, 并确定了由16个细胞组成。最近Yuan等(2015)对二色补血草(*Limonium bicolor*)第一片真叶发育的不同时期进行了界定, 并对不同时期的盐腺各细胞进行了超微结构的观察, 发现盐腺细胞中富含小囊泡和发达的线粒体, 在盐腺细胞之间和盐腺与叶肉细胞之间分布有大量的胞间连丝。另外, 在二色补血草中发现盐腺外的4个分泌孔, 提供了盐离子外排的通道(冯中涛2015)。

此外, 在热带及亚热带海岸潮间带分布有大量的红树林, 部分红树植物同样具有典型的多细胞盐腺结构, 研究较多的是海榄雌属植物(*Avicennia* spp.) (Chen等2010; Drennan等1987; Jyothi-Prakash等2014; Shimony等1973; Tan等2013), 由2~4个收集细胞, 1个柄细胞, 8~12个分泌细胞组成, 同样具有大量的胞间连丝和线粒体的发育。如上所述, 盐腺具有独特的结构特点决定了盐腺较强的泌盐能力。

2.2 盐腺结构与离子分泌的关系

近些年对于盐腺分泌的生理机制有了深入的研究, 盐腺的结构对于离子的分泌能力的影响显著, 一般认为多细胞盐腺的分泌能力强于双细胞盐腺, 下陷于表皮的盐腺(Semenova等2010)分泌能力明显高于凸出表皮的盐腺(Liphschitz和Waisel 1974)。

多细胞盐腺外被厚的角质层,在紫外激发光下具有强烈的自发荧光现象(Tan等2010; Yuan等2013),而且利用角质层将盐腺各组成细胞包裹成了一个整体,使之相对独立于表皮和叶肉细胞,盐腺细胞通过胞间连丝与表皮和叶肉细胞相联系。已经在海榄雌中分离获得了完整的盐腺,在紫外激发光下同样具有荧光,目前推测盐腺外分布的厚厚的角质层有利于将盐离子区隔到盐腺细胞中,有利于泌盐,角质层的存在对于盐腺的分泌作用意义重大。Yuan等(2013)基于盐腺在330~380 nm紫外激发光下具有自发荧光的现象,已经筛选到盐腺发育明显增加和明显减少的突变体。

2.3 盐腺具有较强的分泌能力

目前,对于盐腺泌盐能力的测定,已发展出多种方法:传统的扫盐法和叶片浸泡法准确性较低;X射线光谱测定法非常精确,但是操作难度较大,不适用于常规的实验室操作,不具备普遍性;非损伤微测技术在过去5年的时间里成功解决了盐腺分泌速率测定问题(丁亚男和许越2007),但是仪器昂贵,操作难度大;近几年最新发展的基于超微结构的纳米离子探针测定方法可更加准确地测定离子分布及其含量(Smart等2010),在泌盐盐生植物二色补血草中已有应用(冯中涛2015);Yuan等(2013)和杨剑超(2012)针对盐腺的泌盐特点,利用二色补血草创建了叶圆盘分泌模型,成功测定了盐腺的分泌总量和单个盐腺的分泌速率,在实验室条件下操作简单,准确性较高。

大量实验证明盐腺具有较强的分泌能力。在对盐草属植物盐草(*Distichlis spicata*)盐腺分泌物的观察中发现,32 mg·L⁻¹ NaCl溶液处理离体叶片20~24 h后,叶片表面出现大量的盐结晶(Semenova等2010)。对盖氏虎尾草(*Chloris gayana*)的盐腺进行扫描电子显微镜观察,发现盐腺分泌物主要集中在盐腺泌盐孔处,对盐腺分泌物进行X射线光谱分析鉴定出主要是Na⁺、Cl⁻和K⁺,随着NaCl处理浓度的提高,Na⁺和Cl⁻的分泌量也随之上升(Oi等2013)。杨剑超(2012)和杨剑超等(2012)利用叶圆盘泌盐模型测定了二色补血草盐腺的分泌速率和分泌离子种类,分别在叶圆盘外施加不同的阳离子和阴离子处理,发现盐腺分泌物中的离子组成随外界施加的不同处理而异,而且外施离子的浓

度越高,则盐腺分泌物中对应的离子浓度越高,其分泌速率也越高,所以盐腺分泌的离子种类和分泌速率与外界培养介质中的离子组成和浓度有关。

盐腺的分泌能力对于泌盐盐生植物的抗盐能力意义重大,目前已经有了盐腺发育增加和减少的突变体(Yuan等2013),相信不久的将来,利用盐腺缺失的突变体就可以证实盐腺在泌盐盐生植物抗盐中的关键作用。

3 影响盐腺分泌的因素

盐腺分泌的离子全谱已经在很多泌盐盐生植物中获得。综合来说,影响盐腺泌盐的因素可以归纳为6个方面:(1)盐腺的分泌能力因物种不同而有差异。一般情况下,植物盐腺在24 h内可以分泌150 mg流体。红树属(*Rhizophora*)植物的盐腺的分泌速率可以达到90 pEq·s⁻¹·cm⁻² (Atkinson等1967),二色补血草叶片单个盐腺的泌盐速率可达到8 ng·h⁻¹ (袁芳2014);(2)同一植株不同发育时期叶片的分泌能力有所不同,同一叶片的上下表皮的盐腺泌盐能力也有差异;(3)不同植物盐腺对于分泌离子的种类是不同的,但所有植物盐腺都优先分泌Na⁺和Cl⁻,其他分泌的离子多为常见的离子,如K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、NO₃⁻、SO₄²⁻、PO₄³⁻、HCO₃⁻等;(4)盐腺分泌的离子种类和分泌速率与外界培养介质中的离子浓度组成和浓度有关。通常认为,分泌物中的离子浓度随根际离子浓度呈正相关的变化,培养基中Na⁺浓度增大时,分泌物中的Na⁺浓度也随之增大,叶片中Na⁺含量也增大(赵可夫等2013);有研究表明,当培养基中加入非自然界广泛存在且植物非必需的离子时,例如Li⁺、Rb⁺、Cs⁺等,则在盐腺分泌物中也出现Li⁺、Rb⁺、Cs⁺等离子,这说明盐腺对离子的选择性并不严格(Hill 1967);(5)植物激素影响盐腺分泌能力。外施ABA、GA、茉莉酸等激素影响盐腺的分泌(梁雪2015;杨剑超2012),其机制可能与激素的信号调控有关;(6)其他环境因素。外界环境的温度、光照和土壤含水量等对盐腺的分泌同样密切相关,例如,在二色补血草中发现Ca²⁺对盐腺的分泌有促进作用(Ding等2010a)。

4 盐腺泌盐机制

目前关于盐腺泌盐机制的研究正在逐渐展开,对于离子的吸收及运输方式已有了较深入报道。

4.1 盐腺分泌可能与质外体途径和共质体途径有关

植物的离子运输途径主要包括质外体途径和共质体途径(王宝山和赵可夫1997),其中,质外体途径不经过共质体的传输,直接在细胞间隙和细胞壁之间完成离子运输,速度较快;共质体途径则通过细胞之间的逐级传递来进行离子的转运,涉及到跨膜转运蛋白和各种离子通道的参与(王宝山2010)。但是由于凯氏带(casparian strip)的作用,由根毛吸收的离子只能通过共质体途径向地上部分运输。

组成盐腺的细胞间及盐腺和叶肉细胞之间的离子运输是如何进行的呢?可能与两种途径都密切相关。土壤中的 Na^+ 等各种离子,在蒸腾拉力的作用下由根吸收向地上部分运输;由于盐腺复合体外包被厚厚的角质层,离子只能通过共质体途径进入盐腺复合体;进入盐腺复合体的离子存在两种运输方式,一种是通过共质体途径在盐腺各组成细胞之间进行转运,如胞间连丝等;另一种方式可能是通过盐腺基部没有角质层覆盖的渗透区进行质外体运输,离子进入盐腺后从外杯状细胞到内杯状细胞再到分泌细胞,由分泌细胞将盐分分泌到分泌腔中,最后通过分泌孔将离子分泌出体外。已有扫描电子显微镜证据表明盐腺细胞分泌的离子全部覆盖在分泌孔外,推测盐腺的离子分泌方式可能直接通过4个分泌孔排出(冯中涛2015)。

4.2 盐腺分泌的三个经典假说及其验证

上世纪人们对于盐腺的结构组成及超微结构有了初步的认识,在此基础上,展开了大量的生理和细胞学实验,探索盐腺的离子分泌机制,以及盐腺的离子分泌与结构上的关系。关于盐腺泌盐机制有3种经典的观点:分泌作用的渗透机制假设(Arisz等1955)、盐腺的分泌作用是胞饮的相反过程的假设(Thomson 1975)和盐腺的分泌作用类似动物液流运输系统假说(Drennan等1987),分别在盐草(*Distichlis spicata*) (Semenova等2010)、无叶柽柳(*Tamarix aphylla*) (Thomson和Platt-Aloia 1985)和大米草(*Spartina foliosa*) (Levering和Thomson 1971)中得到了初步验证。

盐腺分泌的渗透机制假设,认为盐腺的分泌作用是一个物理过程,由于离子积累导致了渗透

势的增加从而形成周期性的微水滴(Arisz等1955)。对盐草属双细胞盐腺解剖学结构观察发现单子叶植物盐腺确实存在一个阀门结构(Semenova等2010),单子叶植物盐腺分泌与渗透压之间有着更直接的关系,从而对这一假说进行了验证。但是,可以肯定的是盐腺泌盐过程决不是简单物理过程,因为盐腺泌盐具有离子选择性和能量依赖性。

盐腺的分泌作用是胞饮的相反过程的假设,认为盐溶液通过积累在小囊泡中从而将离子运载向细胞外排出,最终小囊泡膜与细胞膜融合,实现分泌过程(Shimony和Fahn 1968; Ziegler和Lüttge 1967)。Thomson和Liu (1967)用 Rb^+ 处理无叶柽柳后,电镜下观察到电子密度集中出现在细胞的囊泡中,为小囊泡作为分泌细胞离子聚集位点提供了更有力的证据。在对二色补血草盐腺超微结构的观察时,同样发现了大量的小囊泡积累和正在与细胞膜融合的现象,同样证实了囊泡运输参与盐腺的泌盐过程(Yuan等2015)。冯中涛(2015)利用囊泡化抑制剂布雷非德菌素A (brefeldin A, BFA)处理二色补血草叶片后,发现细胞中的小囊泡消失、高尔基体解体,导致了二色补血草叶片没有出现泌盐现象。互花米草(*Spartina alterniflora*)盐腺经显微切割后构建转录组发现VAMP基因(vesicle-associated membrane protein)参与盐腺泌盐(刘瑜2011),说明囊泡运输基因直接参与了盐腺的分泌作用。

盐腺的分泌作用类似动物液流运输系统假说,认为盐腺基细胞具有围绕胞外通道的各种分割的膜,这种结构参与盐腺的泌盐过程(Levering和Thomson 1971)。目前利用动物液流系统离子转运的抑制剂乌本苷(ouabain, Na^+ -ATPase抑制剂)和布美他尼(bumetanide, Na^+ - K^+ - Cl^- 共转运体抑制剂)处理二色补血草叶片,出现了泌盐减少的现象(杨剑超2012),表明植物中可能存在与动物相类似的分泌机理。

5 盐腺分泌的分子机理研究

近些年分子生物学的发展使盐腺泌盐的研究同样有了新的进展,同时结合了抑制剂实验和探针标记,在不同物种中发掘到了参与盐腺泌盐的关键基因,逐渐普及的高通量测序技术在泌盐盐生植物中也有了应用,陆续在红砂(*Reaumuria*

trigyna) (Dang等2013)和补血草属植物(Yuan等2015)中进行了转录组测序, 获得了可能参与盐腺分泌的一系列候选基因。

5.1 植物细胞质膜H⁺-ATPase酶参与盐腺泌盐

早期对海榄雌属植物*Avicennia germinans*的研究发现, 利用H⁺-ATPase的抑制剂钒酸盐可以降低盐腺的分泌能力(Balsamo等1995), 用DIDS (4,4'-二异硫氰酸基-2,2'-二苯乙烯磺酸二钠)破坏质膜质子梯度, 能够强烈抑制盐腺的泌盐活动(Dschida等1992)。研究海榄雌(*Avicennia marina*)盐腺复合体组成细胞ATPase, 观察到ATPase分布在分泌细胞细胞质膜, 尤其是收集细胞与柄细胞交界处(Drennan等1987)。最近的研究表明, 对海榄雌的盐腺进行分离和酸性探针定位, 发现海榄雌盐腺的外周角质层呈酸性, 分泌细胞内部尤其是细胞器的周围也是酸性的(Tan等2010), 说明细胞器膜和盐腺内部细胞膜以及角质层偶联的生物膜系统, 在分泌过程中都呈酸性, 盐腺的离子分泌依靠跨膜的电动势。H⁺-ATPase能够水解ATP, 建立跨膜电化学势差, 激活相关的离子通道和转运体。利用实时定量PCR技术检测海榄雌盐腺质膜H⁺-ATPase基因的表达情况, 发现NO处理会增强海榄雌的Na⁺分泌速率, 同时H⁺-ATPase基因的表达量也升高, 第一次从基因水平上验证了H⁺-ATPase参与盐腺的泌盐活动(Chen等2010)。另外, 对二色补血草盐腺的免疫组化实验证明, 二色补血草盐腺质膜H⁺-ATPase基因在盐腺中表达量较高, 且随NaCl处理浓度增大基因的表达量增强(丁烽2010)。

5.2 植物各类Na⁺转运体参与盐腺的泌盐

植物各类Na⁺转运体的研究在模式植物拟南芥中开展的较为充分, Na⁺/H⁺逆向转运蛋白已分离得到8个NHX家族成员, 其中*NHX1*和*NHX7* (*SOS1*)目前研究的最为详尽(Li等2010b)。*NHX1*是钠离子区域化进入植物液泡的关键基因(Apse等1999), *SOS1*钙离子受体激酶*SOS2*和cAMP蛋白激酶*SOS3*形成*SOS*途径, 是细胞耐盐的关键途径(Zhu 2002)。在泌盐盐生植物的研究中同样发现*NHX*基因的通用抑制剂阿米咯利(amiloride)可降低二色补血草Na⁺泌出速度(丁烽2010)。李维焕(2008)对中华补血草(*Limonium sinense*)的*LsNHXs*基因研究表明, *NHX1*或*NHX3*可能并不直接参与泌盐过程,

猜测*NHX2*可能涉及补血草Na⁺的囊泡化转运活动。NO处理增强海榄雌盐腺Na⁺分泌速率的同时, 也增强了*SOS1*及*NHX1*基因的表达量(Chen等2010)。由于目前对泌盐盐生植物的研究用样品均为植物叶片, 不能确定是针对盐腺细胞的作用, 所以对*SOS1*和*NHX1*参与盐腺泌盐的过程目前也只是推断。究竟NHX家族是否参与植物盐腺的分泌过程, 还需要更多的细胞生物学和分子生物学研究证据证实。激光显微切割技术(LCM)已经在玉米等多个物种中有了应用(Li等2010a), 利用盐腺复合体周围被覆角质层的特性采用酶解的方法已经获得了海榄雌的单个盐腺复合体(Tan等2010), 所以分离收集单个盐腺从而特异性的验证定位到盐腺细胞的基因, 很快就会实现。

有证据表明泌盐盐生植物中可能存在Na⁺/K⁺-ATPase并可能参与盐腺的分泌, 利用脊椎动物Na⁺/K⁺-ATPase的抑制物乌本苷来处理盖氏虎尾草、柽柳和二色补血草, 发现Na⁺泌出速度显著下降(Kobayashi等2007; Ma等2011)。非损伤微测技术发现乌本苷处理二色补血草导致其盐腺Na⁺向外净流降低, K⁺外流升高, 推测可能与Na⁺/K⁺-ATPase功能被抑制有关(丁烽2010), 但是泌盐盐生植物中是否具有Na⁺/K⁺-ATPase基因, 还有待进一步的验证。

Na⁺:K⁺:Cl⁻共转运体基因(*AtCCC*)首次在拟南芥中获得(Colmenero-Flores等2007), 类似动物的Na⁺:K⁺:Cl⁻共转运体(*NKCC*), 在Cl⁻的长距离运输、维持植物体内Na⁺/Cl⁻稳态、水分运输及植物发育过程中起重要作用。以*NKCC*专一性的抑制剂布美他尼处理二色补血草, 可以明显抑制Na⁺的分泌速率(杨剑超2012)。张霞(2008)获得了*NKCC*基因并在中华补血草中进行沉默, 但是并未获得泌盐能力下降的植株, 说明盐腺的泌盐是多基因控制的性状, 有待进一步发掘控制盐腺发育的关键基因。

此外, 在海榄雌中发现两类水孔蛋白基因可能参与盐腺的分泌作用, 利用水孔蛋白基因探针直接定位在分离的盐腺复合体上(Tan等2013), 说明盐腺的分泌作用与水孔蛋白的关系密切。盐处理下泌盐盐生植物的高通量测序同样发掘出了大量的泌盐相关基因, 大量的离子转运蛋白和载体对盐腺的分泌和抗盐有促进作用(Dang等2013)。

Jyothi-Prakash等(2014)利用海榄雌EST文库发现 *AoDHNI* 基因在盐和旱处理下出现高表达。

6 展望

盐腺的分泌作用在泌盐盐生植物的抗盐中起到了至关重要的作用, 目前, 虽然已经有大量的结构和生理实验证实盐腺分泌的可能机制, 但是还有大量的关键问题没有解决。一方面, 盐腺的分泌作用是由多细胞、多基因参与的复杂生物学活动, 对关键基因的验证尤其重要, 要选择模式泌盐盐生植物进行全基因组测序; 另一方面, 利用各类物理、化学诱变或碱基替换诱变等方式获得盐腺缺失的突变体, 建立模式泌盐盐生植物的高效遗传转化体系。目前国内外已经开展泌盐盐生植物盐腺发育及泌盐分子机理研究。我们实验室已经建立了成熟的遗传转化体系, 也筛选了大量突变体, 相信盐腺泌盐机理研究将迎来新的春天。

参考文献

- 丁烽(2010). 二色补血草叶片盐腺泌盐机理的研究[博士论文]. 济南: 山东师范大学
- 丁亚男, 许越(2007). 非损伤微测技术及其在生物医学研究中的应用. 物理, 36 (7): 548~558
- 冯中涛(2015). 囊泡运输在二色补血草盐腺泌盐中的作用研究[博士论文]. 济南: 山东师范大学
- 李维焕(2008). 卤代甲烷甲基转移酶基因转化烟草的研究及中华补血草 *LSNHXs* 基因的功能研究[博士论文]. 济南: 山东师范大学
- 梁雪(2015). 茉莉酸甲酯对二色补血草生长和盐腺特性的影响[硕士论文]. 济南: 山东师范大学
- 刘瑜(2011). 互花米草富集盐腺细胞转录组测序分析及耐盐相关基因的克隆与鉴定[硕士论文]. 烟台: 烟台大学
- 陆静梅, 李建东, 胡阿林, 历锡亮(1995). 二色补血草叶片泌盐结构的扫描电镜观察. 应用生态学报, 6 (4): 355~358
- 倪细炉, 谭玲玲, 沈效东(2012). 黄花补血草叶片盐腺的发育解剖学研究. 西北植物学报, 32 (8): 1587~1591
- 王宝山(2010). 逆境植物生物学. 北京: 高等教育出版社, 21~24
- 王宝山, 赵可夫(1997). NaCl 胁迫下玉米黄化苗质外体和共质体 Na、Ca 浓度的变化. 作物学报, 23 (1): 27~33
- 辛莎莎, 谭玲玲, 初庆刚(2011). 中华补血草盐腺发育的解剖学研究. 西北植物学报, 31 (10): 1995~2000
- 杨剑超(2012). 二色补血草盐腺离子分泌特征及相关功能基因的研究[博士论文]. 济南: 山东师范大学
- 杨剑超, 丁烽, 吴蕊蕊, 袁芳, 王宝山(2012). 不同阴离子对二色补血草盐腺 Na^+ 分泌速率的影响. 植物生理学报, 48 (4): 397~402
- 袁芳(2014). 二色补血草盐腺发育机制的初步研究[博士论文]. 济南: 山东师范大学
- 张霞(2008). 中华补血草遗传转化体系的建立及补血草 *NKCC* 基因沉默的功能研究[硕士论文]. 济南: 山东师范大学
- 赵可夫, 李法曾, 张福锁(2013). 中国盐生植物(第2版). 北京: 科学出版社, 38~40
- 周三, 韩军丽, 赵可夫(2001). 泌盐盐生植物研究进展. 应用与环境生物学报, 7 (5): 496~501
- Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter in *Arabidopsis*. Science, 285 (5431): 1256~1258
- Arisz WH, Camphuis IJ, Heikens H, van Tooren AJ (1955). The secretion of the salt glands of *Limonium latifolium* Ktze. Acta Bot Neerl, 4 (3): 322~338
- Atkinson MR, Findlay GP, Hope AB, Pitman MG, Saddler HDW, West KR (1967). Salt regulation in the mangroves *Rhizophora mucronata* Lam. and *Aegialitis annulata* R.Br. Aust J Biol Sci, 20 (3): 589~600
- Balsamo RA, Adams ME, Thomson WW (1995). Electrophysiology of the salt glands of *Avicennia germinans*. Int J Plant Sci, 156 (5): 658~667
- Biebl R, Kinzel H (1965). Blattbau und Salzhaushalt von *Laguncularia racemosa* (L) Gaertn. f. und anderer Mangrovebäume auf Puerto Rico. Plant Syst Evol, 112 (1): 56~93
- Bosabalidis AM, Thomson WW (1984). Light microscopical studies on salt gland development in *Tamarix aphylla* L. Ann Bot, 54 (2): 169~174
- Chen J, Xiao Q, Wu F, Dong X, He J, Pei Z, Zheng H (2010). Nitric oxide enhances salt secretion and Na^+ sequestration in a mangrove plant, *Avicennia marina*, through increasing the expression of H^+ -ATPase and Na^+/H^+ antiporter under high salinity. Tree Physiol, 30 (12): 1570~1585
- Colmenero-Flores JM, Martínez G, Gamba G, Vázquez N, Iglesias DJ, Brumós J, Talón M (2007). Identification and functional characterization of cation-chloride cotransporters in plants. Plant J, 50 (2): 278~292
- Dang ZH, Zheng LL, Wang J, Gao Z, Wu SB, Qi Z, Wang YC (2013). Transcriptomic profiling of the salt-stress response in the wild recretohalophyte *Reaumuria trigyna*. BMC Genomics, 14 (1): 29
- Ding F, Chen M, Sui N, Wang BS (2010a). Ca^{2+} significantly enhanced development and salt-secretion rate of salt glands of *Limonium bicolor* under NaCl treatment. S Afr J Bot, 76 (1): 95~101
- Ding F, Yang JC, Yuan F, Wang BS (2010b). Progress in mechanism of salt excretion in recretohalophyte. Front Biol, 5 (2): 164~170
- Drennan PM, Berjak P, Lawton JR, Pammenter NW (1987). Ultrastructure of the salt glands of the mangrove, *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh., as indicated by the use of selective membrane staining. Planta, 172 (2): 176~183
- Dschida WJ, Platt-Aloia KA, Thomson WW (1992). Epidermal peels of *Avicennia germinans* (L.) Stearn: a useful system to study the function of salt glands. Ann Bot, 70 (6): 501~509
- Flowers TJ, Galal HK, Bromham L (2010). Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. Funct Plant Biol, 37 (7): 604~612
- Hill AE (1967). Ion and water transport in *Limonium*: II. Short-circuit analysis. Biochem Biophys Acta, 135 (3): 461~465
- Jyothi-Prakash PA, Mohanty B, Wijaya E, Lim TM, Lin Q, Loh CS, Kumar PP (2014). Identification of salt gland-associated genes and characterization of a dehydrin from the salt secretor mangrove *Avicennia officinalis*. BMC Plant Biol, 14 (1): 291

- Kobayashi H, Masaoka Y, Takahashi Y, Ide Y, Sato S (2007). Ability of salt glands in Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth) to secrete Na^+ and K^+ . *Soil Sci Plant Nutr*, 53 (6): 764~771
- Levering CA, Thomson WW (1971). The ultrastructure of the salt gland of *Spartina foliosa*. *Planta*, 97 (3): 183~196
- Li P, Ponnala L, Gandotra N, Wang L, Si Y, Tausta SL, Kebrom TH, Provarit N, Patel R, Myers CR et al (2010a). The developmental dynamics of the maize leaf transcriptome. *Nat Genet*, 42 (12): 1060~1067
- Li TX, Zhang Y, Liu H, Wu YT, Li WB, Zhang HX (2010b). Stable expression of *Arabidopsis* vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene *AtNHX1*, and salt tolerance in transgenic soybean for over six generations. *Chin Sci Bull*, 55 (12): 1127~1134
- Lipshchitz N, Waisel Y (1974). Existence of salt glands in various genera of the *Gramineae*. *New Phytol*, 73 (3): 507~513
- Ma HY, Tian CY, Feng G, Yuan JF (2011). Ability of multicellular salt glands in *Tamarix* species to secrete Na^+ and K^+ selectively. *Sci China Life Sci*, 54 (3): 282~289
- Oi T, Hirunagi K, Taniguchi M, Miyake H (2013). Salt excretion from the salt glands in Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth) as evidenced by low-vacuum scanning electron microscopy. *Flora*, 208 (1): 52~57
- Semenova GA, Fomina IR, Biel KY (2010). Structural features of the salt glands of the leaf of *Distichlis spicata* 'Yensen 4a' (Poaceae). *Protoplasma*, 240 (1-4): 75~82
- Shimony C, Fahn A (1968). Light- and electron-microscopical studies on the structure of salt glands of *Tamarix aphylla* L. *Bot J Linn Soc*, 60 (383): 283~288
- Shimony C, Fahn A, Reinhold L (1973). Ultrastructure and ion gradients in the salt glands of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *New Phytol*, 72 (1): 27~36
- Smart KE, Smith JAC, Kilburn MR, Martin BGH, Hawes C, Governor CRM (2010). High-resolution elemental localization in vacuolate plant cells by nanoscale secondary ion mass spectrometry. *Plant J*, 63 (5): 870~879
- Tan WK, Lim T-M, Loh CS (2010). A simple, rapid method to isolate salt glands for three-dimensional visualization, fluorescence imaging and cytological studies. *Plant Method*, 6 (1): 24
- Tan WK, Lin Q, Lim TM, Kumar P, Loh CS (2013). Dynamic secretion changes in the salt glands of the mangrove tree species *Avicennia officinalis* in response to a changing saline environment. *Plant Cell Environ*, 36: 1410~1422
- Thomson WW (1975). The structure and function of salt glands. In: Poljakoff-Mayber A, Gale J (eds). *Plants in Saline Environments*. Berlin: Springer-Verlag, 118~146
- Thomson WW, Liu LL (1967). Ultrastructural features of the salt gland of *Tamarix aphylla* L. *Planta*, 73 (2): 201~220
- Thomson WW, Platt-Aloia K (1985). The ultrastructure of the plasmodesmata of the salt glands of *Tamarix* as revealed by transmission and freeze-fracture electron microscopy. *Protoplasma*, 125 (1-2): 13~23
- Wiehe W, Breckle SW (1990). Die Ontogenese der Salzdrüsen von *Limonium* (Plumbaginaceae). *Bot Acta*, 103: 107~110
- Yuan F, Chen M, Leng BY, Wang BS (2013). An efficient autofluorescence method for screening *Limonium bicolor* mutants for abnormal salt gland density and salt secretion. *S Afr J Bot*, 88: 110~117
- Yuan F, Lyv MJ, Leng BY, Zheng GY, Feng ZT, Li PH, Zhu XG, Wang BS (2015). Comparative transcriptome analysis of developmental stages of the *Limonium bicolor* leaf generates insights into salt gland differentiation. *Plant Cell Environ*, 38: 1637~1657
- Zhu JK (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 53: 247~273
- Ziegler H, Lüttge U (1967). Die Salzdrüsen von *Limonium vulgare*. II, Mitteilung die Lokalisierung des Chlorids. *Planta*, 74 (1): 1~17