



植物液泡膜H⁺-PPase在耐盐性调控中的作用

张会龙^{1,2,3}, 赵健宇^{1,2,3}, 武海雯^{1,2,3}, 杨秀艳^{1,2,3,*}, 张华新^{1,2,3,*}

¹国家林业和草原局盐碱地研究中心, 北京100091

²中国林业科学研究院天津林业科学研究所, 天津300457

³中国林业科学研究院黄河三角洲综合试验中心, 山东东营257000

*共同通信作者: 杨秀艳(sueyxy@126.com)、张华新(zhanghx1998@126.com)

摘要: 液泡膜上的质子泵在实现液泡多种生理功能中起着关键作用, 其中植物液泡膜质子焦磷酸酶(H⁺-pyrophosphatase, H⁺-PPase)能够通过水解无机焦磷酸(inorganic pyrophosphate, PPi)以维持胞内PPi稳态。液泡膜H⁺-PPase将质子转移到液泡中以维持液泡腔的酸度, 为其他转运蛋白提供质子驱动力, 进而广泛参与植物生长发育和逆境胁迫响应过程。本文综述了近年来植物液泡膜H⁺-PPase的结构、分类以及功能研究进展, 并重点介绍了植物液泡膜H⁺-PPase在植物抵御盐胁迫中的作用。

关键词: 液泡膜H⁺-PPase; 逆境胁迫; 耐盐性; 离子平衡

Role of plant vacuolar H⁺-pyrophosphatase in salt tolerance

ZHANG Huilong^{1,2,3}, ZHAO Jianyu^{1,2,3}, WU Haiwen^{1,2,3}, YANG Xiuyan^{1,2,3,*}, ZHANG Huaxin^{1,2,3,*}

¹Research Center of Saline and Alkali Land of National Forestry and Grassland Administration, Beijing 100091, China

²Tianjin Research Institute of Forestry of Chinese Academy of Forestry, Tianjin 300457, China

³The Comprehensive Experimental Center of Chinese Academy of Forestry in Yellow River Delta, Dongying, Shandong 257000, China

*Co-corresponding authors: Yang XY (sueyxy@126.com), Zhang HX (zhanghx1998@126.com)

Abstract: Proton pumps in the vacuole membrane of plants are vital to vacuole functioning. Proton pyrophosphatase (H⁺-pyrophosphatase, H⁺-PPase) is one such pump, which hydrolyzes pyrophosphate (PPi). The enzyme assists in proton transport across the vacuole membrane, balancing vacuolar acidity and generating an electrochemical gradient for other transporters. Thus, vacuolar H⁺-PPase is widely involved in plant development and responses to stress. This paper summarizes recent research on the structure, classification and function of vacuolar H⁺-PPase, and focuses on the role of vacuolar H⁺-PPase in salt tolerance of plants.

Key words: vacuolar H⁺-PPase; stress; salt tolerance; ionic homeostasis

土壤盐渍化是世界性的资源环境问题。根据联合国粮农组织的世界土壤数据库数据显示, 全世界盐碱地面积约10亿hm², 其中因人为因素如不合理耕作、灌溉等引起的盐渍化土地面积约3.97亿hm²。我国的盐渍化土地面积约1亿hm², 约占国土总面积的10%, 并且次生盐渍化土壤的面积仍在不断扩大, 是名副其实的盐碱地大国(Zhu 2003;

Munns和Tester 2008; 赵振杰等2020)。土壤盐渍化导致环境恶化、土地退化、人口返贫, 对我国生态文明建设和经济社会可持续发展构成严重威胁。

收稿 2021-08-12 修定 2021-11-01
资助 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(CAFYBB2020MA007)和国家自然科学基金(31870663)。

目前,利用生物技术改善土壤盐渍化、提高盐渍化土地的生产力是解决土壤盐渍化问题的重要途径。因此,推进植物耐盐机制研究和耐盐基因资源的挖掘、提高农林植物耐盐性是盐碱地区生态文明建设和经济社会发展的当务之急。

自然生长状态下的植物需要面对各种逆境胁迫,这促使植物在长期进化过程中形成了抵御、适应各种胁迫的生理机制。植物在逆境下通过特殊的调控机制保持细胞内的稳态,以避免或减缓逆境对细胞正常生理代谢的严重影响。液泡作为成熟植物细胞中最大的细胞器,在植物应对逆境胁迫的过程中广泛参与细胞质内的稳态调节、有毒物质区隔化及细胞信号转导系统的调控(Maeshima 2000; Martinoia 2018)。液泡膜上的质子泵在实现液泡多种生理功能中起着关键作用。液泡膜上的质子泵主要包括液泡膜 ATP 酶(vacuolar H^+ -ATPase, EC 3.6.1.3, 本文简称液泡膜 H^+ -ATPase)和液泡膜焦磷酸酶(vacuolar H^+ -pyrophosphatase, EC 3.6.1.1, 本文简称液泡膜 H^+ -PPase)。其中液泡膜 H^+ -PPase是植物液泡膜上有别于液泡膜 H^+ -ATPase的一种 H^+ 转运酶。液泡膜 H^+ -PPase存在于多数陆生植物、少数藻类、原生动物、细菌及古细菌中(Maeshima 2000),它通过催化分解焦磷酸(PPi),一方面减少了PPi浓度过高对生物胞质大分子合成的影响,另一方面利用PPi中的高能磷酸键,催化 H^+ 由胞质向液泡的运输,与液泡膜 H^+ -ATPase一起建立了跨液泡膜的pH梯度(ΔpH)和电化学势梯度($\Delta \psi$) (Kasai等1998; Maeshima 2000; Wang等2001)。以往研究表明,液泡膜 H^+ -PPase在植物抵御逆境胁迫过程中具有重要作用,并且有相关文章对其研究进展进行了总结与介绍(包爱科等2006; 朱昀等2013; 王贝贝等2020)。近年来,研究人员在液泡膜 H^+ -PPase参与盐胁迫下植物的离子平衡调控、营养吸收、多基因协同作用及活性调控方面取得了重要进展。针对以上几个方面,本文综述了近年来液泡膜 H^+ -PPase在植物抵御盐胁迫中发挥的作用。

1 植物 H^+ -PPase的分类与结构

1.1 分类与定位

目前主要将植物 H^+ -PPase分为两种类型,即对

Ca^{2+} 的抑制中度敏感且受胞质中 K^+ 激活的I型或称为 K^+ 激活型,以及对 Ca^{2+} 的抑制高度敏感但不依赖于 K^+ 激活的II型或称为 K^+ 迟钝型。初期研究中认为I型 H^+ -PPase主要定位于植物液泡膜上,因此一段时间该酶被认为是液泡膜标记物。但近年来在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)的研究中发现 H^+ -PPase在韧皮部伴胞细胞的质膜中也有分布,这表明I型 H^+ -PPase不仅存在于液泡膜还分布于质膜上。此外, Regmi等(2016)在水稻小叶脉韧皮部伴胞细胞的质膜上也发现了I型 H^+ -PPase的存在,而在根部分生组织中则主要定位于液泡膜(Regmi等2016),表明I型 H^+ -PPase在同一植物不同组织不同类型细胞中的分布方式可能不尽相同。II型 H^+ -PPase主要分布于高尔基体中,且在植物总组织中的占比非常低,低于I型总量的0.2%。Zhang等(2020)利用从藻类到被子植物的完整基因组数据对 H^+ -PPase基因家族的结构演变和功能分化进行了分析,发现I型和II型 H^+ -PPase基因之间不仅在定位上存在差别,在动能方面也存在明显差异,两者都显示出正向选择压力的证据;该研究进一步将被子植物的I型 H^+ -PPase分为Ia和非Ia亚型,它们可能在被子植物进化的早期阶段就已分化(Zhang等2020)。因此,植物 H^+ -PPase的结构具有多样性,其中分布较多的液泡膜 H^+ -PPase在植物适应逆境胁迫中的作用有待深入解析。

1.2 基本组成及结构

目前植物 H^+ -PPase的组成及结构主要基于Maeshima (2000)提出的绿豆液泡膜 H^+ -PPase的拓扑结构模型。植物液泡膜上有两种功能和物理特性完全不同的质子泵,即液泡膜 H^+ -ATPase和液泡膜 H^+ -PPase。与液泡膜 H^+ -ATPase相比,液泡膜 H^+ -PPase的结构简单,由一条寡肽链组成,在绿豆中其分子大小约为液泡膜 H^+ -ATPase的12% (Maeshima 2000)。在Maeshima (2000)提出的拓扑结构模型中,液泡膜 H^+ -PPase拥有14个跨膜区域,其中有6个位于液泡内腔、7个位于胞质,同时具有3个高度保守的片段(CS1、CS2、CS3)。位于细胞质一侧的CS1结构域是液泡膜 H^+ -PPase底物的结合和催化位点(图1)。在拟南芥中,位于亲水i环中的CS2结构域在依

赖于PPi的H⁺转运过程中发挥重要作用。第三个保守结构域CS3通常处于C端且包含“GDTIGD”结构域, 在绿豆中CS3结构域中任意一个“E”的改变将直接导致液泡膜H⁺-PPase的酶活性丧失, 这些结果表明液泡膜H⁺-PPase的催化核心区域很可能是由3个保守区域(CS1、CS2、CS3)共同组成, 且每一个结构域都有其独特的作用(Maeshima 2000)。

2 植物液泡膜H⁺-PPase在耐盐性调控中的作用

2.1 盐胁迫下植物液泡膜H⁺-PPase的活性变化

在盐生植物角果碱蓬(*Suaeda corniculata*)中编码液泡膜H⁺-PPase的基因*ScVP*能够响应盐和碱的处理, 且在根、茎和叶中都有表达(Liu等2011)。同样的, 在甜菜(*Beta vulgaris*)和刚毛怪柳(*Tamarix hispida*)中液泡膜H⁺-PPase的编码基因也能够迅速响应NaCl胁迫(李宁宁等2020; 张春蕊等2016)。在盐胁迫下耐盐甘蔗(*Saccharum officinarum*)品种相较于盐敏感型品种能够维持较高水平的液泡膜H⁺-PPase基因表达量, 促进Na⁺进入根细胞的液泡中,

缓解胞质中过量Na⁺造成的毒害作用(Theerawitaya等2020)。盐胁迫下接种根瘤菌能够提高紫花苜蓿(*Medicago sativa*)的耐盐性, 采用蛋白质组结合代谢组分析发现在接种根瘤菌后液泡膜H⁺-PPase的蛋白含量显著提高, 这对于紫花苜蓿在盐胁迫下维持体内离子平衡至关重要(Song等2021)。在培养基质中添加褐煤和生物炭能够降低绿豆(*Vigna radiata*)根中液泡膜H⁺-ATPase和H⁺-PPase的活性, 减少盐胁迫下Na⁺进入细胞, 从而改善绿豆在盐胁迫下的耐受性(Torabian等2018)。此外, 外源施加水杨酸(SA)或纳米材料(Fe₂O₃)都能提高植物根和叶中液泡膜H⁺-PPase的活性, 进而提高植物的耐盐性(Ghassemi-Golezani和Abdoli 2021)。

在高盐胁迫下, 土壤中的微生物可以通过调控液泡膜H⁺-PPase的表达水平或酶活性进而改善植物耐盐性。在玉米中, 沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*) KM4能够上调玉米中液泡膜H⁺-PPase编码基因的表达水平, 进而调控植物体内的离子平衡, 提高盐胁迫下玉米的生存能力(El-Esawi等2018)。拟南芥AVP1的质子泵活性比来自于古生物马氏甲

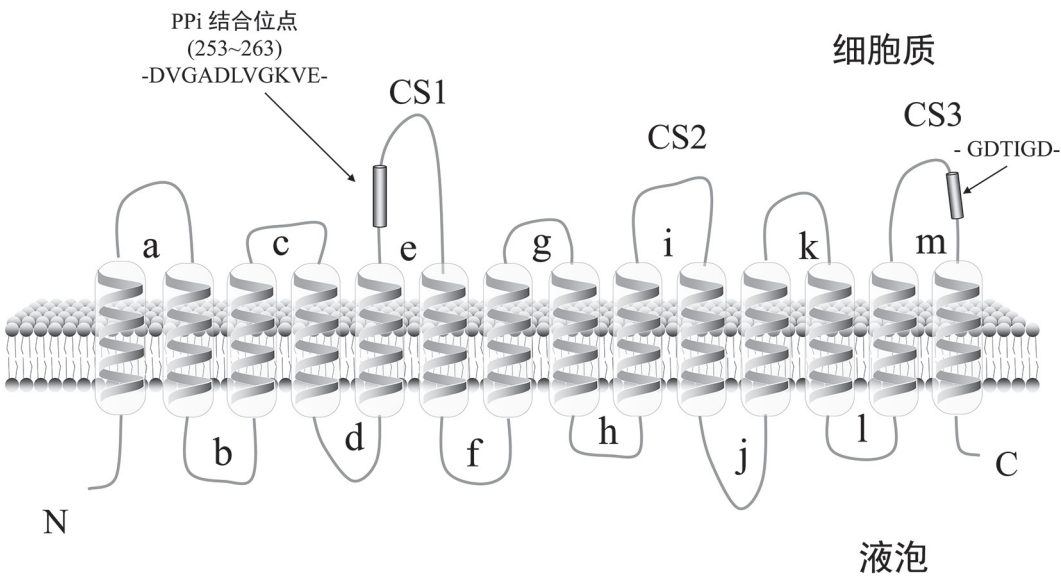


图1 液泡膜H⁺-PPase结构图

Fig. 1 Vacuolar H⁺-PPase structure

CS1、CS2和CS3代表高度保守的片段; 字母a、c、e、g、i、k和m代表7个胞质环, 字母b、d、f、h、j和l代表6个液泡环。依据Maeshima (2000)修改。

烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)中的同源蛋白MVP更容易被 Na^+ 所抑制(Perez-Castineira和Serrano 2020)。可见不同来源的液泡膜 H^+ -PPase功能与活性各异,发掘更加高效的液泡膜 H^+ -PPase对于未来生物工程改良具有重要的意义。

2.2 液泡膜 H^+ -PPase与盐胁迫下植物体内离子平衡

在水稻中,过表达液泡膜 H^+ -ATPase编码基因*OVPI*能够提高液泡对 Na^+ 的区隔化程度,转录组学数据显示,过表达*OVPI*提高了*CAX*、*MHX*、*NHX*等基因的表达水平,这些基因编码蛋白均与阳离子运输有关,在维持植物体内离子稳态过程中发挥重要作用(Kim等2020)。在大麦(*Hordeum vulgare*)中,*AVPI*的过量表达能够提高盐碱胁迫下大麦嫩枝的生物量和单株大麦的粮食产量(Schilling等2014)。在烟草(*Nicotiana benthamiana*)中,瞬时过表达*NbVHP*可以提高液泡质子流和液泡酸化程度(Graus等2018)。在盐胁迫下,野生型烟草中只检测到盐诱导的液泡膜 H^+ -PPase的上升,没有检测到液泡膜 H^+ -ATPase电流的上升,这表明在正常生长条件下,植物通过调节液泡膜 H^+ -PPase的活性来避免其过度活跃对细胞活力产生负反馈调控(Graus等2018)。盐胁迫能降低由*NbVHP*引起的细胞亢奋导致的细胞死亡,因此在盐胁迫条件下*NbVHP*有利于植物耐盐性的提升(Graus等2018)。研究人员还发现来自抗逆性更强植物的液泡膜 H^+ -PPase对于提高目标植物的抗盐性似乎更具潜力。例如,在烟草中,过表达来自多年生草本宿根植物马蔺(*Iris lactea*)的液泡膜 H^+ -PPase (*IIVP*)能够显著提高转基因烟草对盐胁迫的耐受性,转基因植株叶和茎中 Na^+ 和 K^+ 的含量也更高,表明*IIVP*能够促进盐胁迫下 Na^+ 的区隔化,并减少 K^+ 的流失,从而更好地维持盐胁迫下细胞中的 K^+/Na^+ 离子平衡,提高转基因烟草的耐盐性(Meng等2017)。在拟南芥中,过表达来自角果碱蓬(*Suaeda corniculata*)的液泡膜 H^+ -PPase编码基因*ScVP*也提高了转基因植物维持植株内离子平衡的能力(Liu等2011)。将来自盐芥(*Thellungiella halophila*)的液泡膜 H^+ -PPase编码基因*ThPPI*在水稻中过表达可显著提高转基因水稻对盐碱胁迫的耐受能力(He等2017)。这些结果表明,植物液泡膜 H^+ -PPase在维持盐胁迫下植物体内离子平衡过程

中发挥重要作用,而且来源于强耐盐性植物的液泡膜 H^+ -PPase基因表现出更显著的改善作用。

此外还有研究报道,过表达液泡膜 H^+ -PPase编码基因能够降低植物细胞膜的损伤程度(Kim等2020; Meng等2017),表明液泡膜 H^+ -PPase在减少膜脂过氧化程度、维持细胞膜的流动性和通透性方面也发挥了一定的作用,对维持盐胁迫下植物体内的活性氧平衡有积极影响。

2.3 液泡膜 H^+ -PPase与其他基因共表达提高植物耐盐性

植物在应对盐胁迫时通常需要多个功能基因协同发挥作用。将液泡膜 H^+ -PPase编码基因与其他耐盐基因共表达,是提高植物耐盐性的一种非常有效手段。在拟南芥中,共表达*AVPI*和*Larrea Rubisco*激活酶基因*RCA*可以显著提高转基因株系对盐胁迫的耐受性,转基因株系的生物量和种子产量都高于野生型和单独表达*AVPI*或*RCA*的植株(Wijewardene等2020)。在拟南芥中共表达*AVPI*和肌醇加氧酶基因*MIOX4*能提高盐胁迫下转基因株系叶片中的抗坏血酸含量(Nepal等2020),这有利于植物更加高效地清除体内因盐胁迫诱导产生的活性氧。而且,在盐和水分限制压力下转基因株系的种子产量也比对照组更高(Nepal等2020),表明过表达*MIOX4*和*AVPI*的组合效应可能更有利于提高植物的抗逆性和种子产量。

2.4 液泡膜 H^+ -PPase与盐胁迫下植物的营养吸收

不断增加的土壤盐度通常伴随着营养物质的低可用性,导致盐渍环境中的植物营养缺乏。提高盐胁迫下植物吸收营养元素的能力,对于植物抵御盐胁迫至关重要。研究发现,无论是在低Pi(磷酸盐)还是低Pi和NaCl共同处理下,过量表达来自盐角草(*Salicornia europaea*)的液泡膜 H^+ -PPase编码基因*SeVP1*或*SeVP2*的转基因拟南芥表现优于野生型;分析表明,过表达上述2个基因可以通过促进根系发育并上调磷酸盐转运体相关基因,如*AtPht1;2*、*AtPht1;4*、*AtPht1;8*和*AtPht1;9*的表达量来增加外部Pi的获取,保护植物在高盐环境下免受低Pi胁迫(Lv等2016)。因此,植物液泡膜 H^+ -PPase能够提高盐胁迫下植物对营养物质的吸收利用,这有利于改善植物在盐胁迫下的生长状况。

2.5 盐胁迫下液泡膜H⁺-PPase的活性调控

大量研究表明, 盐胁迫下植物体内的分子调控网络是极其庞大且复杂的。液泡膜H⁺-PPase作为植物液泡膜上重要的质子泵, 能够为其他调控网络提供质子驱动力和PPi信号, 进而参与植物的耐盐性调控(图2)。因此, 液泡膜H⁺-PPase的活性调节对维持植物的正常生理功能至关重要。Hsu等

(2018)分析了拟南芥中12种14-3-3异构体与AVP1的关联, 发现所有14-3-3蛋白与AVP1都存在结合位点。其中14-3-3v、-μ、-o和-t能够显著提高AVP1的水解活性和质子转运活性, 且14-3-3μ对偶联效率的激活程度最高(Hsu等2018)。此外, 14-3-3蛋白还减轻了Na⁺对AVP1的抑制作用, 有助于提高盐胁迫下AVP1的活性。这些研究表明14-3-3蛋白家族

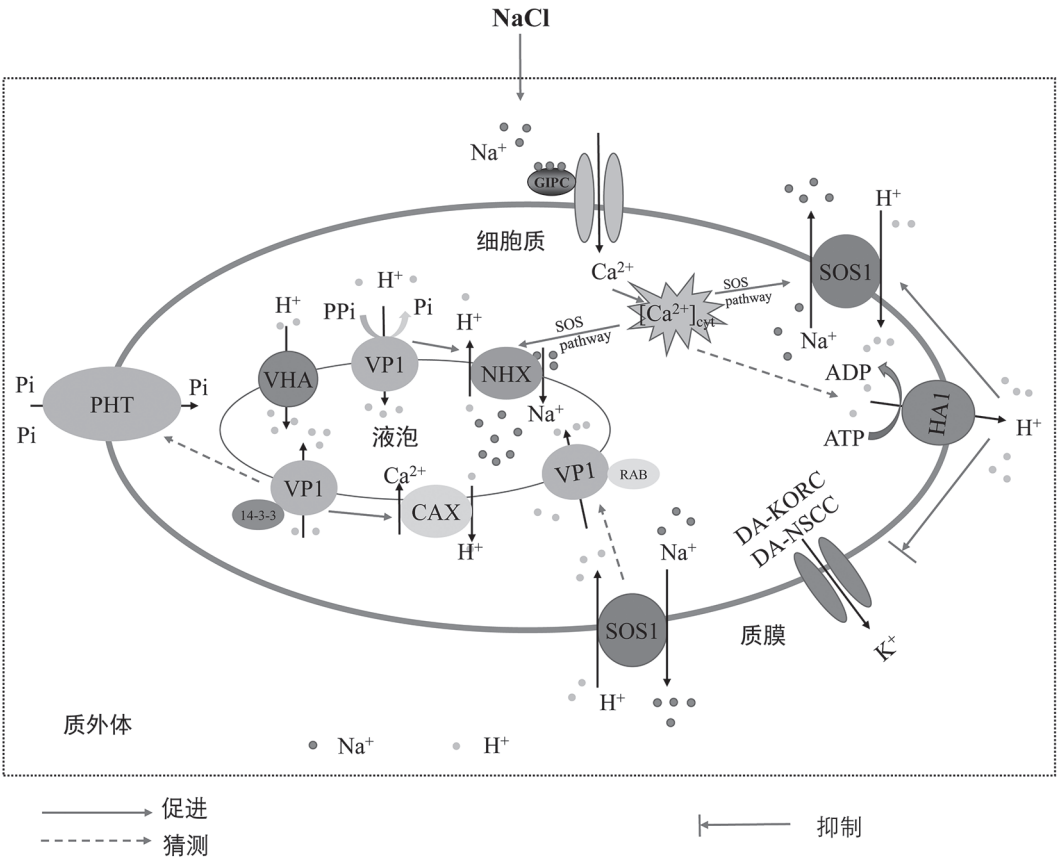


图2 植物液泡膜H⁺-PPase参与植物耐盐性调控的信号网络

Fig. 2 Regulatory network of plant vacuolar H⁺-PPase response to salt stress

盐胁迫会诱导液泡膜H⁺-PPase编码基因VP1的高表达并增强其酶活性。此外, RAB蛋白和14-3-3蛋白家族通过与VP1的相互作用调控液泡膜H⁺-PPase的活性。SOS1和VHA也能在翻译后水平对液泡膜H⁺-PPase的活性进行调控。高活性的液泡膜H⁺-PPase一方面能够为NHX提供质子驱动力, 促进Na⁺的区隔化, 维持胞质中的离子平衡。另一方面高活性的液泡膜H⁺-PPase还能提高盐胁迫下磷酸盐转运体对无机磷酸盐(Pi)的转运, 提高盐胁迫下对Pi的吸收, 从而提高植物的耐盐性。VP1: 液泡膜H⁺-PPase (vacuolar H⁺-PPase); VHA: 液泡膜H⁺-ATPase (vacuolar H⁺-ATPase); PHT: 磷酸盐转运体(phosphate transporter); CAX: 阳离子跨膜转运蛋白(cation/H⁺ exchanger antiporter); NHX: 液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白(Na⁺/H⁺ antiporter); SOS1: 质膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白(salt overly sensitive 1); HA1: 质膜H⁺-ATPase (plasma membrane H⁺-ATPase); DA-KORC: 去极化激活的外向整流通道(depolarization activation-outward rectifying channels); DA-NSCC: 去极化激活的非选择性的阳离子通道(depolarization activation-non-selective cation channels); GIPC: 糖基肌醇磷酸化神经酰胺(glycosyl inositol phosphorylceramide); RAB: 小GTP结合蛋白(small GTP-binding protein)。

能够通过翻译后调控的方式调节 H^+ -PPase的活性,并参与植物的耐盐性调控。研究还发现在 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白SOS1的突变体中,过表达AVP1无法显著提高依赖PPi的质子泵活性、耐盐性、离子区隔化等功能,这说明SOS1可能也会在翻译后水平上参与AVP1蛋白的活性调控(Undurraga等2012)。此外,有研究显示液泡膜 H^+ -ATPase也参与液泡膜 H^+ -PPase活性的调控(Lv等2017; Undurraga等2012)。刘荣榜等(2014)采用酵母双杂交建库的方法筛选到了拟南芥AVP1的互作蛋白AtRAB (小GTP结合蛋白, AT5G47200),并进一步利用突变体证明AVP1和AtRAB在高盐胁迫下处于同一信号途径,且具有正向调控作用(刘荣榜等2014)。Pizzio等(2017)通过计算机建模的方法,推定了几个可能调节拟南芥液泡膜 H^+ -PPase亚细胞定位和活性的磷酸化、泛素化及苏木酰化的靶点,通过对这些靶点的微调可能是进一步提高农林植物生产力的合理策略(Pizzio等2017)。这些研究成果将为通过定向进化手段获得耐盐植物新品种提供理论基础。

3 展望

随着对植物液泡膜 H^+ -PPase的不断深入研究发现,作为液泡膜上重要的质子泵,液泡膜 H^+ -PPase在植物生长发育和抵御逆境胁迫中发挥着十分重要的作用。本文对其基本结构与功能进行了介绍,并重点综述了液泡膜 H^+ -PPase在植物抵御盐胁迫过程中的重要作用。鉴于液泡膜 H^+ -PPase比液泡膜 H^+ -ATPase结构更加简单,预示着液泡膜 H^+ -PPase在通过基因工程手段定向进化植物中具有一定优势。

尽管目前对植物液泡膜 H^+ -PPase已有了较多的研究,但是依然有一些关键问题有待进一步破解。一是进一步揭示液泡膜 H^+ -PPase在依赖于PPi的耐盐调控途径的作用,探究盐胁迫下液泡膜 H^+ -PPase参与植物体内PPi平衡的调控网络;二是深入解析液泡膜 H^+ -PPase的翻译后调控机制,尤其是盐生植物中特有的调控方式,为通过定向进化手段改良植物提供新的靶点;三是阐释盐胁迫下液泡膜 H^+ -PPase如何平衡生长发育和耐盐胁迫之间的关系,为生产实践中耐盐高产品种的选育提供理论依据。

参考文献(References)

- Bao AK, Zhang JL, Guo ZG, et al (2006). Tonoplast H^+ -pyrophosphatase involved in plant salt tolerance. *Plant Physiol Commun*, 42: 777–783 (in Chinese) [包爱科, 张金林, 郭正刚等(2006). 液泡膜 H^+ -PPase与植物耐盐性. 植物生理学通讯, 42: 777–783]
- El-Esawi MA, Alaraidh IA, Alsahli AA, et al (2018). *Serratia liquefaciens* KM4 improves salt stress tolerance in maize by regulating redox potential, ion homeostasis, leaf gas exchange and stress-related gene expression. *Int J Mol Sci*, 19: 3310
- Ghassemi-Golezani K, Abdoli S (2021). Improving ATPase and PPase activities, nutrient uptake and growth of salt stressed ajowan plants by salicylic acid and iron-oxide nanoparticles. *Plant Cell Rep*, 40: 559–573
- Graus D, Konrad KR, Bemm F, et al (2018). High V-PPase activity is beneficial under high salt loads, but detrimental without salinity. *New Phytol*, 219: 1421–1432
- He R, Yu GH, Han XR, et al (2017). *ThPP1* gene, encodes an inorganic pyrophosphatase in *Thellungiella halophila*, enhanced the tolerance of the transgenic rice to alkali stress. *Plant Cell Rep*, 36: 1929–1942
- Hsu YD, Huang YF, Pan YJ, et al (2018). Regulation of H^+ -pyrophosphatase by 14-3-3 proteins from *Arabidopsis thaliana*. *J Membr Biol*, 251: 263–276
- Kasai M, Nakamura T, Kudo N, et al (1998). The activity of the root vacuolar H^+ -pyrophosphatase in rye plants grown under conditions deficient in mineral nutrients. *Plant Cell Physiol*, 39: 890–894
- Kim JJ, Park SI, Kim YH, et al (2020). Overexpression of a proton pumping gene *OVPI* enhances salt stress tolerance, root growth and biomass yield by regulating ion balance in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ Exp Bot*, 175: 104033
- Li NN, Sun YQ, Li GL, et al (2020). Isolation and expression pattern analysis of *BvPPase* in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol J*, 56: 2103–2110 (in Chinese with English abstract) [李宁宁, 孙亚卿, 李国龙等(2020). 甜菜*BvPPase*基因克隆及表达模式分析. 植物生理学报, 56: 2103–2110]
- Liu L, Wang Y, Wang N, et al (2011). Cloning of a vacuolar H^+ -pyrophosphatase gene from the halophyte *Suaeda corniculata* whose heterologous overexpression improves salt, saline-alkali and drought tolerance in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 53: 731–742
- Liu RB, Chen M, Guo MM, et al (2014). Characterization and functional analysis of a small GTP-binding protein AtRAB interacting with H^+ -pyrophosphatase AVP1 in *Arabidopsis thaliana*. *Acta Agron Sin*, 40: 1756–1766 (in Chinese with English abstract) [刘荣榜, 陈明, 郭萌萌等(2014). 拟南芥 H^+ -焦磷酸化酶AVP1互作小GTP结

- 合蛋白AtRAB的特性鉴定与功能分析. 作物学报, 40: 1756–1766]
- Lv SL, Jiang P, Tai F, et al (2017). The V-ATPase subunit A is essential for salt tolerance through participating in vacuolar Na⁺ compartmentalization in *Salicornia europaea*. *Planta*, 246: 1177–1187
- Lv SL, Jiang P, Wang DLY, et al (2016). H⁺-pyrophosphatase from *Salicornia europaea* enhances tolerance to low phosphate under salinity in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav*, 11: e1128615
- Maeshima M (2000). Vacuolar H⁺-pyrophosphatase. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 37–51
- Martinoia E (2018). Vacuolar transporters—companions on a longtime journey. *Plant Physiol*, 176: 1384–1407
- Meng L, Li SS, Guo JY, et al (2017). Molecular cloning and functional characterisation of an H⁺-pyrophosphatase from *Iris lactea*. *Sci Rep*, 7: 17779
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651–681
- Nepal N, Yactayo-Chang JP, Gable R, et al (2020). Phenotypic characterization of *Arabidopsis thaliana* lines overexpressing *AVP1* and *MIOX4* in response to abiotic stresses. *Appl Plant Sci*, 8: e11384
- Perez-Castineira JR, Serrano A (2020). The H⁺-translocating inorganic pyrophosphatase from *Arabidopsis thaliana* is more sensitive to sodium than its Na⁺-translocating counterpart from *Methanosarcina mazei*. *Front Plant Sci*, 11: 1240
- Pizzio GA, Hirschi KD, Gaxiola RA (2017). Conjecture regarding posttranslational modifications to the *Arabidopsis* type I proton-pumping pyrophosphatase (AVP1). *Front Plant Sci*, 8: 1572
- Regmi KC, Zhang SJ, Gaxiola RA (2016). Apoplasmic loading in the rice phloem supported by the presence of sucrose synthase and plasma membrane-localized proton pyrophosphatase. *Ann Bot*, 117: 257–268
- Schilling RK, Marschner P, Shavrukov Y, et al (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
- Song TT, Sun N, Dong L, et al (2021). Enhanced alkali tolerance of rhizobia-inoculated alfalfa correlates with altered proteins and metabolic processes as well as decreased oxidative damage. *Plant Physiol Biochem*, 159: 301–311
- Theerawitaya C, Tisarum R, Samphumphuang T, et al (2020). Expression levels of vacuolar ion homeostasis-related genes, Na⁺ enrichment, and their physiological responses to salt stress in sugarcane genotypes. *Protoplasma*, 257: 525–536
- Torabian S, Farhangi-Abriz S, Rathjen J (2018). Biochar and lignite affect H⁺-ATPase and H⁺-PPase activities in root tonoplast and nutrient contents of mung bean under salt stress. *Plant Physiol Biochem*, 129: 141–149
- Undurraga SF, Santos MP, Paez-Valencia J, et al (2012). *Arabidopsis* sodium dependent and independent phenotypes triggered by H⁺-PPase up-regulation are SOS1 dependent. *Plant Sci*, 183: 96–105
- Wang B, Luttge U, Ratajczak R (2001). Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*. *J Exp Bot*, 52: 2335–2365
- Wang BB, Zhang L, Guo H, et al (2020). Research progress of plant H⁺-PPase. *Plant Physiol J*, 56: 1109–1118 (in Chinese with English abstract) [王贝贝, 张乐, 郭欢等(2020). 植物H⁺-PPase研究进展. 植物生理学报, 56: 1109–1118]
- Wijewardene I, Mishra N, Sun L, et al (2020). Improving drought-, salinity-, and heat-tolerance in transgenic plants by co-overexpressing *Arabidopsis* vacuolar pyrophosphatase gene *AVP1* and *Larrea* Rubisco activase gene *RCA*. *Plant Sci*, 296: 110499
- Zhang CR, Jia YY, Wang YM, et al (2016). Cloning and expression analysis of a vacuolar H⁺-PPase gene from *Tamarix hispida*. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 36: 881–887 (in Chinese with English abstract) [张春蕊, 贾园园, 王艳敏等(2016). 刚毛怪柳液泡膜H⁺-PPase基因的克隆与胁迫下的表达分析. 西北植物学报, 36: 881–887]
- Zhang YM, Feng X, Wang LH, et al (2020). The structure, functional evolution, and evolutionary trajectories of the H⁺-PPase gene family in plants. *BMC Genomics*, 21: 195
- Zhao ZJ, Zhang HL, Wang MJ, et al (2020). Salt stress-related regulation mechanism of intracellular pH and ion homeostasis in plants. *Plant Physiol J*, 56: 337–344 (in Chinese with English abstract) [赵振杰, 张海龙, 王明晶等(2020). 植物耐盐性相关细胞内pH和离子稳态的调控机制. 植物生理学报, 56: 337–344]
- Zhu JK (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol*, 6: 441–445
- Zhu Y, Li ZW, Wei JF (2013). Advances of the research on vacuolar H⁺-pyrophosphatase in plants. *J Hebei Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 37: 639–643 (in Chinese with English abstract) [朱昀, 李朝炜, 魏景芳(2013). 植物液泡膜质子转运焦磷酸酶研究进展. 河北师范大学学报(自然科学版), 37: 639–643]