



液泡膜转运蛋白在植物耐盐性调控中的作用

万玺宏^{1,2,3,#}, 张会龙^{1,2,3,#}, 朱建峰^{1,2,3}, 武海雯^{1,2,3}, 张华新^{1,2,3,*}, 杨秀艳^{1,2,3,*}

¹中国林业科学研究院黄河三角洲综合试验中心, 山东东营257500

²中国林业科学研究院生态保护与修复研究所, 国家林业和草原局盐碱地研究中心, 北京100091

³中国林业科学研究院天津林业科学研究所, 天津300457

#并列第一作者

*共同通信作者: 张华新(zhanghx1998@126.com)、杨秀艳(yangxiuyan@caf.ac.cn)

摘要: 液泡作为植物最大的细胞器, 在植物应对非生物胁迫中发挥了重要作用。盐胁迫下植物通过液泡膜上的转运蛋白将过量毒害离子区隔化于液泡, 并对细胞质中流失的离子进行补充, 维持离子平衡、减少离子毒害, 以此来应对盐胁迫。本文围绕植物耐盐调控中液泡膜上主要转运蛋白及其功能进行综述。

关键词: 液泡; 液泡膜转运蛋白; 耐盐性

The role of tonoplast transporters in the regulation of salt tolerance in plants

WAN Xihong^{1,2,3,#}, ZHANG Huilong^{1,2,3,#}, ZHU Jianfeng^{1,2,3}, WU Haiwen^{1,2,3}, ZHANG Huaxin^{1,2,3,*}, YANG Xiuyan^{1,2,3,*}

¹Comprehensive Experimental Center of Chinese Academy of Forestry in Yellow River Delta, Dongying, Shandong 257500, China

²Research Center of Saline and Alkali Land of State Forestry and Grassland Administration, Institute of Ecological Conservation and Restoration, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

³Tianjin Institute of Forestry Science, Chinese Academy of Forestry, Tianjin 300457, China

#Co-first authors

*Co-corresponding authors: Zhang HX (zhanghx1998@126.com), Yang XY (yangxiuyan@caf.ac.cn)

Abstract: As the largest organelle in plants, vacuoles play an important role in response to abiotic stress. Under salt stress, plants usually attempt to sequester excess toxic ions into the vacuole via vacuolar transporters, while releasing beneficial ions from the vacuole into the cytoplasm as compensation for ions loss. This help plants to maintain the ionic balance in cells and reduces ionic toxicity in response to salt stress. In this review, the research progress of main tonoplast transporters and their functions in salt tolerance regulation in plants were summarized.

Key words: vacuole; tonoplast transporters; salt tolerance

土壤盐渍化影响全球25%~30%的灌溉土地(Shahid等2018), 盐分胁迫已成为全球农业的主要威胁之一。盐胁迫下植物会受到离子胁迫、渗透胁迫和由于植物细胞中活性氧(reactive oxygen spe-

cies, ROS)增加引起的氧化胁迫, 严重影响植物正常的生长发育, 甚至引起死亡。植物通过进化形成

收稿 2022-11-08 修定 2023-10-16
资助 国家自然科学基金(32201522)。

了不同的适应机制来应对盐碱环境产生的危害。植物根系可将95%以上的盐离子排出或拒于体外,约5%的盐离子会进入植物体内(Munns等2020),植物通过将这些离子区隔化来调节和维持细胞质内离子浓度相对稳定,减少植物体受到的离子毒害;与此同时,植物还可将区隔于液泡中的无机盐离子作为渗透调节物质,维持细胞内的渗透平衡(Blumwald 2000)。这种对进入植物体内盐离子的解毒能力与植物耐盐性紧密相关,而液泡及其膜转运蛋白便是这一过程的主要参与者。液泡是植物细胞内最大的细胞器,成熟的中央大液泡占细胞总容积的80%~90% (Costa等2018)。液泡在植物细胞中起着重要作用,如填充空间、储存无机离子与代谢物、蛋白质的降解、解毒和控制细胞质中的离子平衡(Yoshida等2013)。液泡作为离子和代谢物储存库的功能通过定位于液泡膜上的转运蛋白实现(Hedrich等2015)。这些膜转运蛋白参与细胞pH的调节,以及盐离子、重金属等有毒物质在液泡中的累积等生理过程,以维持细胞内正常代谢活动,在植物适应环境方面发挥了重要的作用(Martinoia 2018)。在植物响应盐胁迫的过程中,液泡膜上的转运蛋白通过两类质子泵,液泡膜ATP酶(vacuolar H^+ -ATPase, V- H^+ -ATPase)和液泡膜焦磷酸酶(vacuolar H^+ -pyrophosphatase, V- H^+ -PPase)提供的质子驱动力将过量盐离子区隔至液泡中,从而调节胞质内离子稳态,抵御盐胁迫。本文将围绕液泡膜上主要的转运蛋白及其功能进行综述,归纳其在植物耐盐调控中所发挥的作用以及目前的研究进展,并在此基础上对今后的研究方向提出建议。

1 离子稳态与植物耐盐性

过量盐离子进入植物体内引起的离子紊乱是盐胁迫影响植物生长发育的重要原因,特别是 Na^+ 的大量涌入和 K^+ 的流失。 Na^+ 的过量积累对细胞代谢具有毒性,并通过影响植物对必需元素的吸收以及引发有益矿质元素的流失来破坏植物营养平衡,进而抑制重要的酶反应、蛋白质合成以及光合作用(Wang等2017)。 Na^+ 会对 K^+ 形成吸收竞争,并引发质膜去极化造成 K^+ 吸收受阻和从胞质流失(Jayakannan等2013),导致细胞质 K^+ 含量降低,而 K^+ 参与

植物体内众多代谢反应与蛋白质合成(Anschütz等2014),在植物生长和代谢中有不可替代的作用。盐胁迫下植物细胞内 K^+/Na^+ 比下降,植物生长发育受到严重损害。维持细胞内适当的 K^+/Na^+ 比和离子稳态是确保细胞正常代谢和植物耐盐的重要基础和先决条件(Anschütz等2014)。盐胁迫除造成植物体内 Na^+ 、 K^+ 离子失衡外,还对 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 NO_3^- 等离子产生严重影响。 Cl^- 对气孔活动具有调节作用,从而影响植物的抗逆性,它在一些植物中对细胞膨胀和生长是有益的(Wege等2017),同时它能满足渗透调节的需求,减少合成有机溶质的能量消耗(Munns和Gilliham 2015)。但植物细胞中积累过量的 Cl^- 会对植物体产生毒害,对于某些植物吸收过量 Cl^- 的毒害甚至大过 Na^+ ,例如大豆和柑橘等植物(White和Broadley 2001)。这些植物对 Na^+ 的外排相对高效,却不能有效阻止 Cl^- 在叶片中积累达到有毒水平(Munns和Tester 2008)。氮是植物极其重要的营养元素,大多数植物以 NO_3^- 的形式吸收氮元素,而 NO_3^- 本身也被认为是一种信号分子,可激活吸收、还原和补偿性有机酸代谢(Miller等2007),影响植物生长发育。高浓度的 Cl^- 会和 NO_3^- 形成拮抗作用导致植物对氮的吸收不足(Li等2017),这可能是高浓度 Cl^- 产生毒害的一个原因(Wu和Li 2019)。鉴于 Cl^- 和 NO_3^- 的重要关系,有学者提出将 NO_3^-/Cl^- 比值作为一个耐盐性指标(Li等2017)。在植物细胞中, Ca^{2+} 作为第二信使,可将广泛的细胞外刺激与细胞内反应耦合起来(Dodd等2010)。 Ca^{2+} 在植物耐盐中也发挥重要的作用,已有研究证实植物能够通过激活与 Ca^{2+} 有关的信号转导系统来适应盐胁迫(Costa等2018)。已知低浓度的钙(低于 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)可以改善许多植物的盐胁迫症状,例如外源施加钙可以改善盐胁迫对拟南芥(Shabala等2006)、水稻(Rahman等2016)等植物生长的抑制作用。由此可见,植物耐盐性与胞内离子稳态密切相关,对细胞内离子稳态调控过程的深入研究是阐释植物耐盐机制不可缺失的关键环节。

2 液泡膜转运蛋白与液泡区隔化

在长期进化中植物为了抵御盐胁迫形成了多种耐盐方式,盐离子液泡区隔化便是其中一种。盐

生植物(能在盐浓度约为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl或更高的环境中生存繁殖的植物)和甜土植物主要细胞质酶对 Na^{+} 的敏感性没有差异,植物必须将其细胞质内 Na^{+} 含量维持在无毒水平。甜土植物倾向于排出盐分,并将吸收的大部分盐分隔离在根和茎中,从而最大限度地减少盐分在叶肉细胞中的积累(Läuchli和Grattan 2011)。盐生植物则可以将进入体内的大部分盐分转运到叶肉细胞的液泡中隔离并积累,从而维持较高的细胞质 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 比,具有更强的组织耐盐性(Shabala等2014)。目前所知,植物主要通过液泡膜上的 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 逆转运蛋白($\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ antiporter, NHX)将 Na^{+} 由细胞质逆转运到液泡中(Apse等1999; Blumwald 2000)。盐胁迫下,植物也会采取排出与液泡区隔化的方式应对 Cl^{-} 毒害。植物液泡膜上的氯离子转运体(chloride channel, CLC)是 Cl^{-} 液泡区隔化的主要转运蛋白(Herdean等2016)。需要注意的是,虽然 Na^{+} 区隔动力是由 H^{+} 电势梯度提供,但 H^{+} 梯度需要两个质子泵消耗能量维持,为了减少能量消耗必须防止离子由液泡渗漏返回至胞质(Zhao等2020)。当液泡中的 Cl^{-} 浓度高于细胞质时, Cl^{-} 向液泡中的转运也是如此。如果液泡离子渗漏持续发生,离子进出液泡的无效循环最终会耗尽植物所有的能量。液泡膜上非选择性离子通道SV (slow vacuolar)和FV (fast vacuolar)被认为是 Na^{+} 由液泡向胞质泄漏的主要通道。盐胁迫下,提高植物组织耐盐性需要关闭SV和FV通道,但SV通道也是重要的液泡 K^{+} 、 Ca^{2+} 渗透通道,其开放对细胞质 K^{+} 补充与稳态,以及局部钙信号具有重要意义(Pottosin和Dobrovinskaya 2018),因此SV通道活性的调控与植物耐盐性可能具有紧密联系。目前研究发现,植物体内14-3-3蛋白能够同时激活双孔钾离子通道(tandem-pore K^{+} , TPK)和降低SV通道活性(Latz等2007),但SV和FV通道在盐胁迫下的调控目前还知之甚少。

通过转运蛋白运输并不是离子液泡区隔化的唯一方式。最近研究发现敲除所有液泡NHXs后,在不具有NHX逆向转运活性的突变体中检测到 Na^{+} 进入液泡的现象并且不与 H^{+} 耦合,这表明还存在不依赖于 H^{+} 梯度的 Na^{+} 液泡区隔途径(Bassil等2019)。此前曾报道过盐生植物通过胞饮作用将

Na^{+} 从细胞质运入液泡的现象(Hamaji等2009),但在甜土植物中还尚未发现。有研究发现AtNHX1参与细胞中的囊泡运输,位于液泡膜上的AtNHX1介导 Na^{+} 进入囊泡,后者会移动并融合到液泡中(Hamaji等2009)。关于离子通过囊泡运输进入液泡这在能量学方面是可行的,特别是在植物需要消耗更多能量合成渗透调节物和维持pH稳定的盐胁迫情况下。SNARE因子是囊泡运输过程的重要调控因子,和囊泡与膜融合的发生有关。拟南芥高尔基体Qc-SNARE SFT12通过将过剩的 Na^{+} 转运到液泡中提高植物的耐盐性(Tarte等2015)。盐胁迫引起豇豆SNARE编码基因的表达量发生显著变化(Pan等2019),这种变化在番茄中也有发现(Salinas-Cornejo等2019)。这些研究表明囊泡运输在植物耐盐调控中可能发挥重要作用,但其调控机制还有待深入研究。

2.1 液泡膜NHXs逆向转运蛋白

研究已发现NHX逆转运蛋白家族的成员是植物细胞内 $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ 和pH稳态、生长发育、气孔功能、蛋白质和囊泡运输以及对非生物胁迫耐受性的关键参与者(Jiang等2010; Andrés等2014)。依据亚细胞定位,拟南芥AtNHXs被分为3个类群, NHX7/SOS1和NHX8定位在质膜(PM)上; AtNHX1~4定位于液泡膜上; AtNHX5和AtNHX6以及番茄LeNHX2定位在高尔基体(Golgi)、反式高尔基体网(trans Golgi network, TGN)、内质网(endoplasmic reticulum, ER)和液泡前体(prevacuolar compartment, PVC)的内膜上(Jiang等2010; Reguera等2014)。早期研究认为NHXs催化胞质内过多的 Na^{+} 向液泡中运输,并作为无机渗透压调节剂(Apse等1999)。有报道称无论是在根部还是地上茎叶中, Na^{+} 向液泡的积累都是通过NHX介导的 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 交换进行(Apse和Blumwald 2007)。液泡膜NHX1与植物耐盐性密切相关,其在拟南芥(Apse等1999)、番茄(Zhang和Blumwald 2001)、油菜(Zhang等2001)、小麦(Xue等2004)和水稻(Fukuda等2004b)中的过表达可增强这些植物的耐盐性。随着研究的深入,发现NHX主要作为 $\text{K}^{+}/\text{H}^{+}$ 逆向转运体介导 K^{+} 流入液泡(Jiang等2010; Andrés等2014),特别是在非胁迫或低 Na^{+} 浓度条件下(Jiang等2010)。进一步的研究表明,拟南芥AtNHX1的过表达导致液泡中 K^{+} 的积累超过 Na^{+} (Leidi

等2010; Bassil等2011)。将小獐茅(*Aeluropus litoralis*) *AtNHX*转入大豆中只能介导少量 Na^+ 区隔化(Liu等2014); 将拟南芥*AtNHX1*在大麦中的过表达增加了盐胁迫下大麦叶片中 K^+ 的积累(Adem等2014); 在番茄中过表达拟南芥*AtNHX1*主要是通过液泡及胞质中 K^+ 浓度的提高而非 Na^+ 区隔化来增强植株对盐分的耐受性(Leidi等2010)。研究还发现, 定位于拟南芥液泡膜的*AtNHX1*和*AtNHX2*是液泡 K^+ 和 Na^+ 吸收的主要贡献者, *AtNHX3*和*AtNHX4*在 Na^+ / K^+ 选择性方面存在差异, *AtNHX4*对 K^+ 亲和性更高, 而对 Na^+ 的转运与*AtNHX3*相比则并不重要(Bassil等2019)。

尽管 Na^+ 向液泡中运输的机制仍然存在争议(Bassil等2011), 但NHX被认为是最可能的候选者(Bassil等2019)。*AtNHX1*由9个跨膜结构域和1个几乎整体位于液泡中的亲水C端组成, 其C端对阳离子转运的选择性起到调节作用, C端缺失将导致 Na^+/K^+ 选择性比率提高了2倍(Yamaguchi等2003)。进一步研究发现*AtCaM15*会与*AtNHX1* C末端相互作用, 通过降低*AtNHX1*的 Na^+/H^+ 交换活性, 从而增加其对 K^+ 的选择性(Yamaguchi等2005), 并且*AtCaM15*与*AtNHX1* C末端互作有 Ca^{2+} 与pH依赖性, 只有在 Ca^{2+} 存在的情况下才会产生互作, 互作程度随着pH的升高而降低(Yamaguchi等2005)。在后续研究中获得*AtNHX1*功能获得突变体, 其在酵母细胞中表现出增强转运蛋白活性, 在拟南芥中增强了植株的耐盐性(Pabuayon等2021)。其中突变体*sup810*增加了*AtNHX1*的活性, 其突变位点位于一个可能的糖基化点, *AtNHX1*可能通过此位点糖基化修饰阻断离子结合和转运并形成离子通道。突变体*sup908*和*sup1602*的突变位点在C端尾部, 其通过阻止*AtNHX1* C末端与*AtCaM15*的互作增强 Na^+ 的区隔化。但对于NHX如何区分2种离子, 在不同盐浓度下不同NHX的表达情况是否存在差异还有待研究。此外在拟南芥中转入盐生植物星星草(*Puccinellia tenuiflora*)和盐角草(*Salicornia europaea*)的*NHX1* (*PutNHX1*和*SeNHX1*)都会促进转基因植株 Na^+ 在根细胞液泡中的过度积累, 以及增加 K^+ 在根细胞胞质和液泡中的积累, 并减少根细胞中 K^+ 的流失, 这表明NHX1对上述两种离子

的转运都起到作用, 并提出*PutNHX1*和*SeNHX1*对 Na^+ 和 K^+ 并不区分, 具有双重反转运蛋白功能的假设(Liu等2017)。

值得注意的是, *NHX*基因的过表达不一定会提高植物的耐盐性。转入拟南芥*AtNHX1*基因的大麦植株在盐胁迫下并没有更好的表现(Adem等2015)。这可能是由于FV和SV通道的活性随单价阳离子浓度的升高而增加(Pottosin和Dobrovinskaya 2014), 从而意味着盐离子从液泡中渗漏的机会增多, 这将会消耗更多的能量。植物NHX家族成员在植物生长发育中也具有重要作用。研究发现, 日本牵牛*InNHX2*除了赋予植株耐盐性外, 还参与花瓣的胞质pH调节, 导致蓝花着色(Ohnishi等2005)。在大麦中过表达盐生草*HgNHX1*, 不仅可以显著提高耐盐性, 还可以使其维持较高的水分代谢能力, 具有更强的抗旱性(张燕等2018)。除了盐胁迫, 其他非生物胁迫也会诱导NHX转录水平增加, 在大豆(Li等2006)、小麦(Rajagopal等2007)中均已得到证实。这说明液泡NHX可能在植物适应其他逆境方面也起着重要作用。

目前NHX是 K^+/H^+ 还是 Na^+/H^+ 逆转运蛋白以及在 Na^+ 液泡区隔化中的作用仍存在不少争议, 特别是在盐生植物中NHX的研究较少。盐生植物和甜土植物在对盐胁迫的适应过程中都存在离子区隔化, 但盐生植物的离子区隔化更为明显和有效(Blumwald 2000), 这是否是因为盐生植物和甜土植物的NHX存在功能差异所导致, 还有待进一步研究。

2.2 阳离子质子转运体CHX

CHX (cation/ H^+ exchanger)是CPA2 (cation proton antiporter 2)超家族的一员, 广泛分布于细菌、真菌和植物中(Chanroj等2012)。CHX介导 K^+ 、 Na^+ 、 H^+ 离子转运, 也可能介导 Cl^- 转运(Sze等2004; Qu等2020), 参与花粉发育、 Na^+/K^+ 转运、渗透调节、气孔开放和耐盐性等过程(Sze等2004; Jia等2018)。CHX由约800个氨基酸残基组成, 通常含10~12个跨膜结构域(Isayenkov等2020), N端含有一个 Na^+/H^+ 交换结构域(Jia等2017)。在拟南芥中共有28个CHX成员(*AtCHX1*~28; Sze等2004), 大部分定位在质膜与内质网, 高尔基体也有分部, 其中*AtCHX17*~

19定位在液泡前体(Isayenkov等 2020)。

研究表明CHX通过维持K⁺稳态参与植物盐胁迫响应(Jia等2018), 并且它可能是盐胁迫下调节胞质K⁺稳态与信号网络的重要组成部分(Rubio等2020)。定位于液泡前体与质膜的AtC-HX17受盐胁迫、渗透胁迫和低温等广泛非生物胁迫的诱导表达(Cellier等2004), AtC-HX17可能是盐胁迫和K⁺饥饿下维持离子稳态的关键因子之一(Chanroj等2013), 此外它还参与调控膜运输以及蛋白分选(Padmanaban等2017)。在盐胁迫或K⁺饥饿条件下*chx17*的突变体在根中积累的K⁺比野生型少约20%, 表明CHX17可能通过调节K⁺稳态在耐盐中发挥作用, 不过在形态表型上突变体与野生型没有表现出差异(Cellier等2004)。对于均在液泡前体定位的AtCHX17~19的*chx17/18/19*三重突变体揭示了它们在pH和K⁺稳态中起关键作用(Padmanaban等2017)。在玉米原生质体瞬时表达中ZmCHX5与ZmCHX17定位在液泡膜, 盐胁迫下转入ZmCHX5或ZmCHX17的盐敏感酵母生长情况较对照组明显更好, 表明ZmCHX5和ZmCHX17均增强了盐敏感酵母耐盐性(Kong等2021)。在小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中定位在液泡膜和质膜PpCHX2同样参与了K⁺转运和pH稳态的维持, 但在耐盐性方面还未进行研究(Mottaleb等2013)。总之CHX通过调节K⁺与pH稳态在耐盐性中发挥了重要作用, 但目前液泡膜定位相关研究还较少。

2.3 Cl⁻离子转运蛋白

氯离子的转运对植物的耐盐性十分重要, 提高阴离子转运蛋白的选择性是培育耐盐作物的重要策略, 因为这可能会增强植物对氯离子的排除能力(Bazihizina等2019)。目前研究较多的氯离子转运蛋白主要有慢型阴离子通道(S-type anion channel, SLAC1 and SLAH)、氯离子转运体(chloride channel, CLC)和铝激活的苹果酸转运体(Al³⁺-activated malate transporter, ALMT)三类。SLAC1(slow anion channel 1)是定位于质膜的阴离子通道, 对Cl⁻具有高度通透性, 主要参与Cl⁻外排(Negi等2008)。ALMT是植物独有的能够介导阴离子通过细胞膜的通道, 包括Cl⁻的区隔化, 与植物耐盐性有关(Wu and Li 2019; Barbier-Brygoo 等 2011)。AtALMT9定

位于液泡膜, 在盐胁迫下其转录上调, 而*almt9*敲除突变体减少了Cl⁻与Na⁺在的地上部的积累(Baetz等2016)。但在植物耐盐性方面目前定位于液泡膜的这两类阴离子通道研究还相对较少。

CLC家族是原核生物和真核生物中普遍存在的蛋白质, 包含离子通道和转运蛋白(Jentsch 2008)。在拟南芥中发现了7种CLCs, 分别定位于液泡膜(AtCLCa、AtCLCb、AtCLCc和AtCLCg)、类囊体膜(AtCLCe)和高尔基体膜(AtCLCd和AtCLCf) (Barbier-Brygoo等2011; Herdean等2016)。CLC家族参与阴离子的运输, 特别是Cl⁻和NO₃⁻的转运。有研究认为, 这些转运蛋白可能参与了Cl⁻转运相关的生理现象, 如气孔运动或植物耐盐性(Teakle和Tyerman 2010)。大豆*GmCLC1*基因编码的蛋白质定位于液泡膜上, 已被证明可以将Cl⁻转运并区隔到液泡中, 从而使转基因BY2细胞具有更好的耐盐性(Li等2006)。大豆Cl⁻/H⁺逆向转运蛋白GmCLC1通过将Cl⁻区隔到液泡中增强转基因拟南芥的耐盐性, 减少盐分胁迫对植物的负面影响(Wei等2016); 采用NaCl处理水稻也会引起*OsCLC1*基因表达上调(Nakamura等2006)。在野生大豆根中*GsCLC-c2*的过表达有助于维持Cl⁻和NO₃⁻稳态, 其通过增加Cl⁻在根部的积累, 减少Cl⁻向地上部的运输来增强植株耐盐性(Wei等2019)。AtCLCa定位于拟南芥液泡膜上, 它在硝酸盐稳态中起重要作用, 已被证明具有2NO₃⁻/1H⁺反转运蛋白的功能, 能够将硝酸盐特异性地积累到液泡中(De Angeli等2006), 其转运功能最近通过在非洲爪蟾卵母细胞中异源表达*CLC-a*被证实(Bergsdorf等2009)。CLC-b定位于植物细胞的液泡膜, 起到阴离子/H⁺交换蛋白的功能(von der Fecht-Bartenbach等2010)。但CLC-b的功能似乎可以由CLC-a所补偿, *clcb*植株与野生型相比在多种条件下均未观察到生长表型或发育上的差异, 植株硝酸盐和氯化物含量也没有受到影响, 并且它们对氯酸盐同样敏感(von der Fecht-Bartenbach等2010)。AtCLCc主要在气孔保卫细胞的液泡膜中表达, 表现出跨膜Cl⁻转运活性, 其通过调节气孔运动进而增强植物耐盐性(Jossier等2010)。在野生型拟南芥中过表达*AtCLCc*可导致液泡中更高的Cl⁻积累并增加转基因株系的耐盐性(Nguyen等

2016), 拟南芥 *clcc* 敲除突变体会比野生型对盐胁迫更加敏感(Jossier等2010), 并且 *CLC-c* 基因的缺失会影响植株整体的阴离子稳态(Harada等2004)。AtCLCg与盐胁迫下 Cl^- 稳态有关, 是最接近AtCLCc的同源蛋白, 其定位于液泡膜, 在叶肉细胞中强烈表达(Nguyen等2016)。盐胁迫下拟南芥茎叶中 *AtCLCg* 表达水平升高(Jossier等2010), 拟南芥 *clcg-1* 和 *clcg-2* 突变植株的生物量和根鲜重与野生型相比均显著降低(Nguyen等2016)。棉花中 *GhCLCg-1* 在氯化物胁迫下表达迅速增加, 并随着胁迫的加剧而增加, 表明 *GhCLCg-1* 通过调节离子积累影响耐盐性(Liu等2021b)。近期研究发现即使液泡中的 Cl^- 浓度高于细胞质, Cl^- 也会通过离子通道或转运蛋白从胞质移动到液泡中, 这表明液泡 Cl^- 区隔化不仅仅是植物在盐胁迫下的被动防御措施, 而可能是作为植物主动耐盐的组成部分(Wu和Li 2019)。总之, 上述结果表明氯离子转运体(CLC)在植物适应盐胁迫中调节 Cl^- 的变化方面发挥了重要作用, 至于液泡 Cl^- 区隔是否是植物主动耐盐的一种方式还需要更多的实验来验证。

3 液泡膜转运蛋白与细胞 K^+ 保持

钾是植物必须营养元素, 也是植物中最丰富的阳离子, 约占植物干重的10% (Véry和Sentenac 2003)。有观点认为植物组织保持 K^+ 的能力是植物抵御胁迫的一种基本机制(Shabala等2016; Wu等2018)。Zhu等(1998)在研究拟南芥耐盐性时发现拟南芥 *sos1*、2、3突变体植株耐盐性与组织中 K^+ 含量密切相关, 而与 Na^+ 含量无关, 他们认为可能只有在 K^+ 营养得到满足的情况下植物的其他抵抗盐胁迫的措施才能成为主要进程。但 K^+ 含量并不是越高越好, 早期研究已经证明高浓度的 K^+ 可能与 Na^+ 一样有害。植物的生理代谢过程需要相对稳定的 K^+ 浓度, 正常情况下细胞溶质 K^+ 浓度保持在约 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的恒定水平, 但盐胁迫下由于质膜去极化, 引发胞质 K^+ 流出导致其浓度迅速下降(Shabala和Pottosin 2014; Pottosin和Dobrovinskaya 2014)。此时快速利用液泡内存储的 K^+ 进行补偿可以高效防止胞质 K^+ 浓度的降低, 快速重建细胞质 K^+ 浓度的稳态。这种 K^+ 的补偿性释放正是通过TPK1以及

非选择性离子通道SV和FV进行(Pottosin和Dobrovinskaya 2014)。TPK1是一种由液泡膜双孔 K^+ 通道基因 *TPK1* 编码、与电压无关, 并由 Ca^{2+} 激活的 K^+ 选择性通道(Voelker等2010; Saibi和Brini 2021)。盐胁迫下液泡 K^+ 池中的 K^+ 通过TPK1通道释放到细胞质中从而补偿因外流丢失的 K^+ (Assaha等2017)。研究发现植物能够调节TPK1活性来维持细胞溶质 K^+ 稳态以应对盐胁迫, 如大麦可以通过14-3-3蛋白调节叶肉细胞液泡膜上的 K^+ 通道活性(Voelker等2010)。非选择性的SV/TPC1 (vacuolar two-pore channels1)和FV通道也是 K^+ 的释放通道, FV通道目前还缺少分子水平的研究。另外, 虽然SV通道对离子没有选择性, 但是不同植物种类的SV/TPC1通道的对离子的通过活性是有差别的。研究表明大麦叶肉细胞液泡TPC1选择 K^+ 通过的活性是 Na^+ 的6倍, 但在洋葱中TPC1对 Na^+ 的通过活性略高于 K^+ (Amodeo等1994)。不过正如前文所述, 激活SV和FV通道可以补充细胞内的 K^+ 消耗, 但这也存在液泡中的 Na^+ 向细胞质渗漏的风险。因此维持细胞内 K^+ 稳态的理想方式是提高 K^+ 选择性通道TPK的活性, 降低甚至是关闭非选择性通道TPC1活性(Shabala等2020)。但完全关闭SV通道同样存在很大风险, 因为SV通道是液泡 Ca^{2+} 通道(Pottosin和Dobrovinskaya 2018), 其相对活性决定了液泡 Ca^{2+} 的存储容量和胞内 Ca^{2+} 的有效性, 其活性似乎还可以微调 Ca^{2+} 信号的传播(Hedrich等2018)。

盐胁迫下 K^+ 由液泡释放到胞质当中, 消耗了液泡 K^+ 池, 造成渗透平衡的缺失而降低细胞膨压, 抑制细胞的扩展(Barragán等2012), 因此液泡对 K^+ 的吸收与保留同样影响植物耐盐能力。NHX1介导 K^+ 向液泡的转运, 对将 K^+ 区隔到液泡中同样至关重要(Bassil等2011; Barragán等2012)。在番茄中过表达拟南芥 *AtNHX1* 基因增加了液泡 K^+ 的积累(Leidi等2010); 过表达小麦 *TaNHX2* 基因的苜蓿减少了 K^+ 流出, 在盐处理条件下细胞内保留了更多的 K^+ (Zhang等2015)。在拟南芥Col-0和 *nhx1* 突变体中表达 *PutNHX1* 和 *SeNHX1* 与对照组Col-0和 *nhx1* 相比NaCl诱导的 K^+ 流出显著减少, 液泡 K^+ 大量增加, 表明盐生植物的NHX1在液泡 K^+ 积累方面比AtNHX1作用更好, 也可能说明PutNHX1和SeNHX1起到了 K^+/H^+

交换蛋白的作用(Liu等2017)。此外CAP2超家族成员在 K^+ 稳态方面发挥重要作用, 包含阳离子质子转运体CHX与KEA转运蛋白(K^+ efflux antiporter) 2个亚家族(Isayenkov等2020)。CHX是细胞器摄取 K^+ 的一个重要转运体, 其在 K^+ 稳态与耐盐性方面的作用已在前文进行介绍(2.2节阳离子质子转运体CHX)。KEA作为 K^+ 外排转运体, 参与胞质 K^+ 补充与稳态维持, 目前其研究主要集中在模式植物拟南芥中。拟南芥KEA亚家族共有6个成员(*AtKEA1*~*6*) (Zheng等2013), 其中*AtKEA1*~*3*定位在叶绿体(*AtKEA1*~*2*在叶绿体内膜, *AtKEA3*在类囊体膜) (Araña-Sicilia等2016); *AtKEA4*~*6*主要在高尔基体, 反-高尔基体网、多囊泡体(MVB)与液泡前体均匀分布(Zhu等2018; Wang等2019)。在酵母中研究表明*AtKEA1*~*6*均有转运 K^+ 的能力(Zheng等2013)。利用大肠杆菌表达系统研究*AtKEA1*~*6*功能发现, *AtKEA1*~*3*和*AtKEA5*表现出双向 K^+ 转运活性, 而*AtKEA4*和*AtKEA6*是作为 K^+ 摄取系统发挥作用(Tsujii等2019)。*AtKEA5*可能参与盐胁迫响应, 在NaCl处理下其在拟南芥根与茎中被诱导表达(Han等2015)。在玉米中, 亚细胞定位预测结果显示*ZmKEA1*、*5*和*6*定位在质膜或液泡, NaCl处理下*ZmKEA1*在叶片中表达上调; KCl处理下*ZmNHX5*在根中表达上调, 在叶中*ZmKEA5*和*ZmKEA6*存在上调趋势(Kong等2021)。*AtKEA1*~*6*通过调节 K^+ 稳态影响植物耐盐性, 其功能的丧失对 K^+ 和pH稳态、耐盐性都产生显著影响(Zhu等2018)。总之 K^+ 的胞质补偿与液泡保留同样重要, 植物如何调控保留与补偿的平衡还需要更加深入的研究。

4 液泡膜转运蛋白与细胞 Ca^{2+} 平衡

Ca^{2+} 是植物必需的营养元素, 又是植物细胞中的第二信使, 在植物生长发育与抵御逆境方面具有重要作用(Dodd等2010)。液泡是植物主要的钙储存库之一, 同时也是细胞质 Ca^{2+} 的补充源。 Ca^{2+} 由液泡补充到细胞质是由液泡膜上的钙离子通道所释放。液泡膜上有2类钙离子通道: 一类是电压依赖型, 受液泡膜两侧膜电位控制; 另一类是配位体激活型, 有受环腺苷二磷酸核糖激活的 Ca^{2+} 通道和受三磷酸肌醇激活的 Ca^{2+} 通道(Pottosin和Schö-

nknecht 2007)。 Ca^{2+} 逆电化学梯度从细胞质进入液泡是通过 Ca^{2+} -ATPase与 Ca^{2+}/H^+ 反向转运蛋白(Ca^{2+}/H^+ exchanger antiporter, CAX)执行的, 这被认为是 Ca^{2+} 稳态的重要组成部分(Schönknecht 2013)。 Ca^{2+} -ATPase和CAX都通过运输 Ca^{2+} 进入液泡来维持细胞的 Ca^{2+} 浓度梯度, 但在不同的模式下, 可能分别以微调 and 粗调的方式进行(Liu等2021a)。 Ca^{2+} -ATPase对 Ca^{2+} 有较高的亲和力, 但运输能力低; 而CAX对 Ca^{2+} 亲和力低, 但运输能力强, 在高细胞质 Ca^{2+} 浓度下发挥作用(Pottosin和Schönknecht 2007)。

Ca^{2+} -ATPase和CAX在植物抵抗盐胁迫中发挥重要作用, 盐胁迫引起的细胞内 Ca^{2+} 离子浓度升高和建立细胞内新的 Ca^{2+} 稳态都受到 Ca^{2+} -ATPase与CAX的调控(Seifikhah等2019)。 Ca^{2+} -ATPase在植物体中分布十分广泛, 在质膜、液泡膜、内质网膜、线粒体膜、叶绿体膜以及核膜上均有发现(White和Broadley 2003)。液泡膜上的 Ca^{2+} -ATPase利用ATP水解的能量将 Ca^{2+} 转运到液泡中, 广泛参与了植物生长发育和矿物质营养、响应胁迫信号以及对盐胁迫的反应和耐受性调控(Bonza和De Michelis 2010)。当小立碗藓暴露于 $250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl时, 胞浆 Ca^{2+} 瞬时增长2倍以上, 敲除 Ca^{2+} -ATPase基因(*PCAI1*)的植株耐盐能力下降(Qudeimat等2008)。由拟南芥*AtACA4*基因编码的 Ca^{2+} -ATPase定位于小液泡, 盐处理后拟南芥幼苗的*ACA4*基因表达增加, 将其在酵母中表达增加了酵母的耐盐性(Geisler等2000)。CAXs在细胞质膜、液泡膜、叶绿体类囊体膜、内质网膜及线粒体膜上均有分布(Shigaki和Hirschi 2006), 主要定位于液泡膜(Shigaki和Hirschi 2006)。CAXs依赖 H^+ -ATPase与 H^+ -PPase产生的质子梯度来驱动 Ca^{2+} 运输, 其介导的 Ca^{2+} 转运总是与另一个阳离子(通常是 H^+ 或 Na^+)的反向转运关联(Liu等2021a)。CAX在植物体发育过程中至关重要, 涉及多种细胞和生理功能, 特别是在细胞特异性钙存储和防御反应中发挥重要作用(Demidchik等2018)。CAX的表达水平和活性都具有高度细胞特异性, 并受到多种压力的调节(Wang等2016), 离子通道介导的胞内 Ca^{2+} 浓度升高可导致CAX的活性上调(Demidchik等2018)。已有研究表明, Ca^{2+} 响应的SOS3-SOS2蛋白激酶复合体, 调控 Na^+/H^+ 逆向转

运体SOS1的表达与活性(Zhu 2001), 并且SOS2可以通过与CAX的相互作用将后者激活(Demidchik等2018), 这意味着CAX与耐盐性有关。拟南芥CAX1与CAX3定位于液泡膜上, 其中CAX3是响应盐胁迫的主要转运蛋白, CAX1是通过与CAX3的相互作用来激活(Zhao等2009a)。研究表明, 盐胁迫会诱导拟南芥组织中CAX1-CAX3复合物的形成, 并且CAX1和CAX3在酵母中的共表达增加了酵母的耐盐性(Zhao等2009a)。盐敏感水稻在长时间的盐胁迫处理下, 定位于液泡膜的OsCAX4也会大量表达(Yamada等2014)。与此相反, 在拟南芥中表达盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)中定位于液泡膜的 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向转运蛋白编码基因*SsCAX1*会降低植株耐盐性(Han等2011)。在这项研究中盐胁迫下转基因植株比野生型植株在叶片中积累了更多 Ca^{2+} , 但其在叶片中保留的 K^{+} 减少, 这似乎是导致其耐盐性下降的原因(Han等2011)。总之 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向转运蛋白在耐盐性中发挥了作用, 但其作用机制还需要更详细的研究和阐明。

5 液泡膜质子泵

植物液泡膜上普遍含有两类质子泵, $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 。它们分别以ATP和无机焦磷酸为底物, 以水解产生的能量将质子泵入液泡, 维持胞质pH值平衡, 同时为植物的各种代谢产物提供次级驱动力。离子穿过液泡膜进入液泡, 便是由这两类质子泵产生的质子动力所激发的(Gaxiola等2007)。

5.1 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$

$\text{H}^{+}\text{-ATPase}$ 广泛分布于植物细胞中, 包括质膜、叶绿体膜、线粒体膜和液泡膜(Wang等2020)。 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 是一个多亚基蛋白质复合体, 由含8个亚基的外周亲水V1结构域(A~H)和含5个亚基的膜整合疏水V0结构域(a、c、c'、c''、d和e)两部分组成(Cipriano等2008; Schumacher和Krebs 2010)。 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 结构复杂, 其功能通常针对其不同亚基的研究来分析。研究表明 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 的某些亚基由多个等位基因编码, 这可能与这些亚基对不同环境的适应特异性有关(Kluge等2003)。

$\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 参与非生物胁迫抗性, 在盐胁迫

下通过为 Na^{+} 液泡区隔化提供驱动力参与植物对外界盐分的响应(Wang等2020; Jiang等2010;)。 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 各亚基在盐胁迫下具有各自的调控途径, 并不协同作用。盐胁迫下冰草A、B、C、E亚基、甜菜A、C亚基和香雪球E亚基(Popova和Golldack 2007)的编码基因都发生了转录上调。采用编码不同亚基的基因转化不同植物, 如在柽柳(Gao等2011)、拟南芥(Zhao等2009b; He等2014)、烟草(Xu等2011)、水稻(Baisakh等2012)等植物中, 相应转基因植株的耐盐性均有显著提高。盐胁迫对 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 的基因表达和酶活性也都会产生影响。盐胁迫下 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ A亚基的丰度会显着增加, 并通过调节 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 活性参与液泡 Na^{+} 整合, 从而影响植物耐盐性(Lv等2017)。盐处理胡杨悬浮细胞(Silva等2010)和盐地碱蓬(Wang等2001)可诱导其 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 活性增加, 并且盐地碱蓬 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 逆向转运体的活性随着盐浓度的升高而上调(Qiu等2007)。研究已表明, 盐处理诱导的 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 酶活性增加是蛋白表达量增加的结果(Wang等2001; Miranda等2017)。例如在马铃薯中, $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 和 $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 两个液泡质子泵的蛋白含量在盐敏感品种中降低, 而在耐盐品种中保持不变(Jaarsma和de Boer 2018), 这表明质子泵的蛋白含量与了马铃薯的耐盐性相关。盐胁迫可以诱导多种盐生植物 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 的活性升高, 但在甜土植物中其活性保持不变或下降(Wang等2001; Graus等2018), 这似乎表明盐生植物与甜土植物 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 在盐胁迫下有着不一样的调控机制。同时盐胁迫下 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$ 与 $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 虽然都具有提供质子动力的功能, 但它们的贡献并不是相同的。

5.2 $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$

相比与 $\text{V-H}^{+}\text{-ATPase}$, $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 的结构简单, 仅由一条寡肽链组成(Maeshima 2000)。根据其拓扑结构模型, $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 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, 有3个高度保守的片段(CS1、CS2和CS3; Maeshima 2000)。

研究表明, $\text{V-H}^{+}\text{-PPase}$ 通过增加离子液泡区隔化、促进生长素传输、调控蔗糖从源到库的分配、提高 NO_3 吸收等来促进植物生长, 提高植物抗性

(Schilling等2017; Lv等2017; Graus等2018; Schilling等2014)。盐处理会引起V-H⁺-PPase基因的高表达, 小麦*TaVP1*和*TaVP2*都出现盐诱导表达的现象(Wang等2009)。在耐盐高粱中V-H⁺-PPase也是盐胁迫下高表达的耐盐基因之一(Punia等2020)。盐胁迫下大麦V-H⁺-PPase基因在根中的表达量会短期上调(Fukuda等2004a), 在盐芥(Vera-Estrella等2005)中也得到相同结果; 但在黄瓜(Kabala和Kłobus 2008)、绿豆、冰叶日中花中V-H⁺-PPase却受到明显抑制。这可能是由于V-H⁺-PPase活性或转录水平的变化与植物种类、器官类型、发育状态以及Na⁺浓度有关(包爱科等2006)。盐胁迫同样也会导致V-H⁺-PPase活性增强, 这在萝卜与构树(Zhang等2012)中得到证实。V-H⁺-PPase的转基因植物对盐胁迫有更好的表现, 拟南芥*AVPI*基因在番茄、棉花和水稻(Pasapula等2011)、花生(Qin等2013)、苜蓿(Su等2019)、大麦(Schilling等2014)中的过表达都使转基因植株耐盐性提高。这些植株耐盐性的提高与V-H⁺-PPase促进离子区隔作用, 减少ROS产生有关。高表达V-H⁺-PPase的转基因拟南芥能在叶片中积累更多的Na⁺和K⁺(Gaxiola等2001), 转基因苜蓿在叶片和根中同样也积累了更多的Na⁺、K⁺和Ca²⁺, 并具有更高的光合作用能力和较小的细胞膜损伤(Bao等2009)。转入*SbVPPase*基因的小米, 在200 mmol·L⁻¹的盐胁迫下, 增加了Na⁺和K⁺含量、脯氨酸和叶绿素水平、抗氧化酶活性, 并减少了脂质过氧化, 表明*SbVPPase*的表达促进了多余的Na⁺有效地隔离到液泡中和ROS清除, 从而增强植株耐盐(Anjaneyulu等2014)。来自高抗逆性植物的V-H⁺-PPase对于增强抗盐性似乎更有效(张会龙等2022)。在烟草中过表达来自马蔺(*Iris lactea*)的V-H⁺-PPase (*IlVP*)能够显著提高转基因烟草对盐胁迫的耐受性(Meng等2017); 将盐地碱蓬V-H⁺-PPase基因(*SsVP*)在拟南芥中过表达, 也发现转基因植株的耐盐性和抗旱性显著提高(Guo等2006)。

值得注意的是, 在盐胁迫下V-H⁺-PPase基因和液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白基因的共表达会产生比单基因转化体更强的耐盐性。共表达*AVPI*和*PgNHX1*的转基因番茄与*AVPI*和*PgNHX1*单基因转化植株和野生型番茄相比, 表现出更强的耐盐性

(Bhaskaran和Savithramma 2011)。在共表达*SsNHX1*和*AVPI*的转基因水稻(Zhao等2006)、共表达*AtNHX1*和*AVPI*的转基因棉花(Shen等2015)、共表达*TNHXS1*和*TVPI*的转基因烟草(Gouiaa等2012)中都得到同样的结果, 这些结果与Na⁺/H⁺逆向转运蛋白与质子泵功能之间的偶联关系是分不开的。但近期一项研究中发现, *HvNHX1*与*HvVP1*在盐敏感的大麦中的高表达并没有起到提高耐盐性的作用, Na⁺液泡区隔化能力未能提升(Wu等2019)。这可能是翻译后修饰(如蛋白质错误折叠等)的结果, 或者是盐敏感品种无法控制FV或(和)SV通道的Na⁺渗透性造成的(Pottosin和Shabala 2014)。

目前关于液泡膜上为什么有2个质子泵还没有定论。有学者认为V-H⁺-PPase建立H⁺跨膜电化学梯度是与V-H⁺-ATPase的作用相当的, 甚至有更大的效应。例如在盐胁迫下耐盐型大豆根细胞V-H⁺-ATPase活性下降, 而V-H⁺-PPase活性提高(Yu等2005)。另外, 在盐胁迫下烟草中只检测到盐诱导的V-H⁺-PPase活性升高, V-H⁺-ATPase活性没有变化(Graus等2018), 似乎也支持这一观点。但造成这一现象的原因可能是盐胁迫下植物需要消耗ATP去合成可溶性有机物以抵御渗透胁迫, 或者细胞为防止K⁺流失需要利用ATP保持细胞膜电势(Shabala 2013)。同时也存在与之相反的结论, 在盐地碱蓬耐盐性的研究中, V-H⁺-ATPase的作用要大于V-H⁺-PPase, 其耐盐的主要策略似乎是通过V-H⁺-ATPase活性的上调, 而V-H⁺-PPase仅起次要作用(Wang等2001)。

研究发现盐胁迫下液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白活性与质子泵活性相耦联, 这在向日葵、盐地碱蓬(Qiu等2007)、香雪球(Popova和Golldack 2007)上得到证实。仅将液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白在甜土植物中过表达并不能培育出耐盐品种(Flowers 2004), 可能的原因是转基因植物中没有充足的液泡膜质子泵驱动力(Shabala 2013)。质子泵在植物离子转运过程中起着极其重要的作用, 但由于质子泵生物学功能复杂多样, 目前的研究结果存在相互矛盾的信息, 液泡膜两类质子泵在抵御盐胁迫中能量如何分配, 其功能是如何与膜转运蛋白的活性相结合都需要更深入的研究。

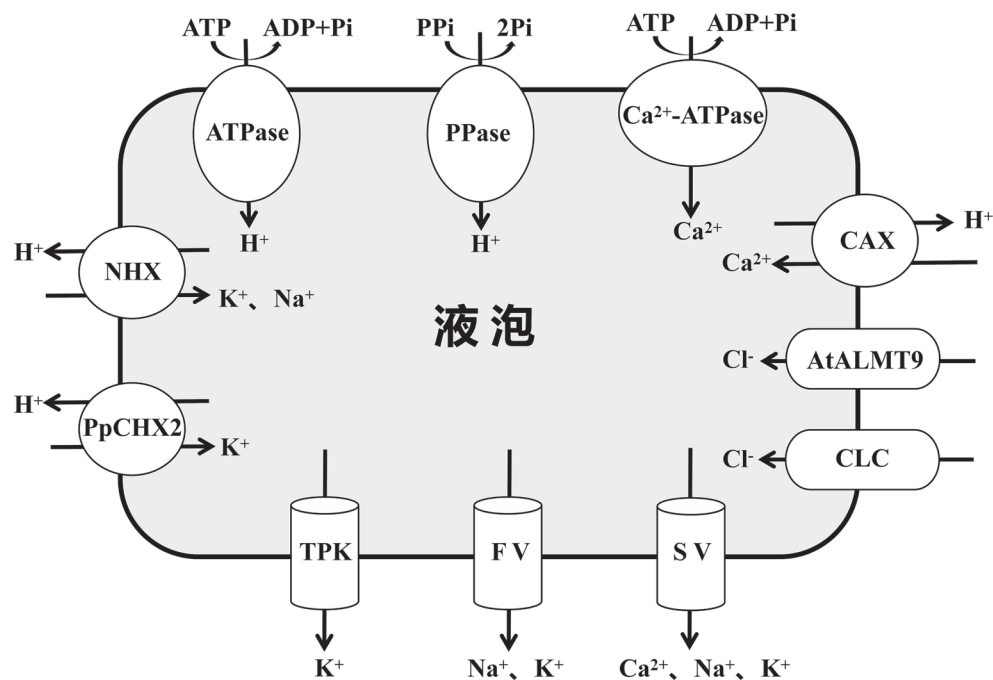


图1 液泡膜主要离子转运蛋白与通道

Fig. 1 Main ion transporters and channels of vacuolar membrane

6 展望

对于液泡膜转运蛋白与盐胁迫下植物细胞内离子平衡以及耐盐性方面已开展了许多研究,但关于液泡对盐离子吸收、区隔和渗漏方面的研究结果还存在很多矛盾、争议和未揭示的问题。这些问题的关键在于目前对众多液泡膜转运蛋白的结构、特性及功能还缺乏深入的了解。与甜土植物相比,盐生植物翻译后修饰(如磷酸化)显著改变了某些转运蛋白(如SOS1、NHX)或转运蛋白调节成分的活性(如H⁺-ATP酶的翻译后磷酸化) (Assaha等2017),这或许能部分解释盐生植物比甜土植物更耐盐。有观点认为参与细胞Na⁺吸收与转运的蛋白可能存在相当大的差异,这种差异不仅存在于甜土植物和盐生植物之间,而且在盐生植物物种之间,甚至是不同的外部盐浓度下(Flowers和Colmer 2008)。液泡膜转运蛋白与植物耐盐性的关系显然是紧密的,但由于盐生植物遗传转化体系的缺失,对于液泡膜转运蛋白的大多数研究是通过在模式植物拟南芥、烟草等甜土植物中的表达来探索。今后应加强对盐生植物液泡膜转运蛋白结

构、功能与调控机制的研究,以便更加全面地阐释盐胁迫下植物离子转运与稳态维持在耐盐性调控中的作用。

盐胁迫下植物细胞内离子平衡受到许多因子协同调控,是多基因共同调控的结果。目前对盐胁迫下离子稳态的研究主要集中在Na⁺,对其他离子研究较少,特别是对尤为重要的Cl⁻研究更应加强。同时,以往大多研究重点放在盐胁迫下盐离子吸收、运输以及外排和液泡区隔化方面,而对于盐离子从液泡的渗漏以及液泡与胞质间离子的跨膜运输关注不足。因此,今后应对液泡膜上重要的离子通道与转运蛋白(如SV和FV、CLC等)做更加深入的研究。此外囊泡运输作为离子进入液泡的一个可能的途径,加强对其研究也是极为必要的。

参考文献(References)

Adem GD, Roy SJ, Zhou M, et al (2014). Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. BMC Plant Biol, 14: 113
Adem GD, Roy SJ, Zhou M, et al (2015). Expressing *AtNHX1* in barley (*Hordium vulgare* L.) does not improve plant

- performance under saline conditions. *Plant Growth Regul*, 77 (3): 289–297
- Amodeo G, Escobar A, Zeiger E (1994). A cationic channel in the guard cell tonoplast of *Allium cepa*. *Plant Physiol*, 105: 999–1006
- Andrés Z, Pérez-Hormaeche J, Leidi EO, et al (2014). Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: E1806–1814
- Anjaneyulu E, Reddy PS, Sunita MS, et al (2014). Salt tolerance and activity of antioxidative enzymes of transgenic finger millet overexpressing a vacuolar H^+ -pyrophosphatase gene (*SbVPPase*) from *Sorghum bicolor*. *J Plant Physiol*, 171: 789–798
- Anschütz U, Becker D, Shabala S (2014). Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. *J Plant Physiol*, 171: 670–687
- Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, et al (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 285: 1256–1258
- Apse MP, Blumwald E (2007). Na^+ transport in plants. *FEBS Lett*, 581: 2247–2254
- Aranda-Sicilia MN, Aboukila A, Armbruster U, et al (2016). Envelope K^+/H^+ antiporters AtKEA1 and AtKEA2 function in plastid development. *Plant Physiol*, 172 (1): 441–449
- Assaha DVM, Ueda A, Saneoka H, et al (2017). The role of Na^+ and K^+ transporters in salt stress adaptation in glyco-phytes. *Front Physiol*, 8: 509
- Baetz U, Eisenach C, Tohge T, et al (2016). Vacuolar chloride fluxes impact ion content and distribution during early salinity stress. *Plant Physiol*, 172: 1167–1181
- Baisakh N, Ramanarao MV, Rajasekaran K, et al (2012). Enhanced salt stress tolerance of rice plants expressing a vacuolar H^+ -ATPase subunit c1 (*SaVHAc1*) gene from the halophyte grass *Spartina alterniflora* L. *Plant Biotechnol J*, 10: 453–464
- Bao AK, Wang SM, Wu GQ, et al (2009). Overexpression of the *Arabidopsis* H^+ -PPase enhanced resistance to salt and drought stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Sci*, 176: 232–240
- Bao AK, Zhang JL, Guo ZG, et al (2006). Tonoplast H^+ -pyrophosphatase involved in plant salt tolerance. *Plant Physiol Commun*, (4): 777–783 (in Chinese with English abstract) [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*, (4): 777–783]
- Barbier-Brygoo H, De Angeli A, Filleur S, et al (2011). Anion channels/transporters in plants: from molecular bases to regulatory networks. *Annu Rev Plant Biol*, 62: 25–51
- Barragán V, Leidi EO, Andrés Z, et al (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, Tajima H, Liang YC, et al (2011). The *Arabidopsis* Na^+/H^+ antiporters NHX1 and NHX2 control vacuolar pH and K^+ homeostasis to regulate growth, flower development, and reproduction. *Plant Cell*, 23: 3482–3497
- Bassil E, Zhang S, Gong H, et al (2019). Cation specificity of vacuolar NHX-type cation/ H^+ antiporters. *Plant Physiol*, 179: 616–629
- Bazihizina N, Colmer TD, Cuin TA, et al (2019). Friend or foe? Chloride patterning in halophytes. *Trends Plant Sci*, 24: 142–151
- Bergsdorf EY, Zdebik AA, Jentsch TJ (2009). Residues important for nitrate/proton coupling in plant and mammalian CLC transporters. *J Biol Chem*, 284: 11184–11193
- Bhaskaran S, Savithramma DL (2011). Co-expression of *Pennisetum glaucum* vacuolar Na^+/H^+ antiporter and *Arabidopsis* H^+ -pyrophosphatase enhances salt tolerance in transgenic tomato. *J Exp Bot*, 62: 5561–5570
- Blumwald E (2000). Sodium transport and salt tolerance in plants. *Curr Opin Cell Biol*, 12: 431–434
- Bonza MC, De Michelis M (2010). The plant Ca^{2+} -ATPase repertoire: biochemical features and physiological functions. *Plant Biol*, 13 (3): 421–30
- Cellier F, Conéjéro G, Ricaud L, et al (2004). Characterization of *AtCHX17*, a member of the cation/ H^+ exchangers, CHX family, from *Arabidopsis thaliana* suggests a role in K^+ homeostasis. *Plant J*, 39 (6): 834–846
- Chanroj S, Padmanaban S, Czerny DD, et al (2013). K^+ transporter AtCHX17 with its hydrophilic C tail localizes to membranes of the secretory/endocytic system: role in reproduction and seed set. *Mol Plant*, 6 (4): 1226–1246
- Chanroj S, Wang G, Venema K, et al (2012). Conserved and diversified gene families of monovalent cation/ H^+ antiporters from algae to flowering plants. *Front Plant Sci*, 3: 25
- Cipriano DJ, Wang Y, Bond S, et al (2008). Structure and regulation of the vacuolar ATPases. *Biochim Biophys Acta*, 1777: 599–604
- Costa A, Navazio L, Szabo I (2018). The contribution of organelles to plant intracellular calcium signalling. *J Exp Bot*, 16 (17): 4175–4193
- De Angeli A, Monachello D, Ephritikhine G, et al (2006). The nitrate/proton antiporter AtCLCa mediates nitrate accumulation in plant vacuoles. *Nature*, 442: 939–942
- Demidchik V, Shabala S, Isayenkov S, et al (2018). Calcium transport across plant membranes: mechanisms and functions. *New Phytol*, 220: 49–69

- Dodd AN, Kudla J, Sanders D (2010). The language of calcium signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 61: 593–620
- Flowers TJ (2004). Improving crop salt tolerance. *J Exp Bot*, 55: 307–319
- Flowers TJ, Colmer TD (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol*, 179: 945–963
- Fukuda A, Chiba K, Maeda M, et al (2004a). Effect of salt and osmotic stresses on the expression of genes for the vacuolar H⁺-pyrophosphatase, H⁺-ATPase subunit A, and Na⁺/H⁺ antiporter from barley. *J Exp Bot*, 55: 585–594
- Fukuda A, Nakamura A, Tagiri A, et al (2004b). Function, intracellular localization and the importance in salt tolerance of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter from rice. *Plant Cell Physiol*, 45: 146–159
- Gao C, Wang Y, Jiang B, et al (2011). A novel vacuolar membrane H⁺-ATPase c subunit gene (*ThVHAc1*) from *Tamarix hispida* confers tolerance to several abiotic stresses in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Rep*, 38: 957–963
- Gaxiola RA, Li J, Undurraga S, et al (2001). Drought- and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H⁺-pump. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 11444–11449
- Gaxiola RA, Palmgren MG, Schumacher K (2007). Plant proton pumps. *FEBS Lett*, 581: 2204–2214
- Geisler M, Frangne N, Gomès E, et al (2000). The *ACA4* gene of *Arabidopsis* encodes a vacuolar membrane calcium pump that improves salt tolerance in yeast. *Plant Physiol*, 124: 1814–1827
- Gouiaa S, Khoudi H, Leidi EO, et al (2012). Expression of wheat Na⁺/H⁺ antiporter *TNHXS1* and H⁺-pyrophosphatase *TVPI* genes in tobacco from a bicistronic transcriptional unit improves salt tolerance. *Plant Mol Biol*, 79: 137–155
- 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
- Guo S, Yin H, Zhang X, et al (2006). Molecular cloning and characterization of a vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene, *SsVP*, from the halophyte *Suaeda salsa* and its overexpression increases salt and drought tolerance of *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 60: 41–50
- Hamaji K, Nagira M, Yoshida K, et al (2009). Dynamic aspects of ion accumulation by vesicle traffic under salt stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 50: 2023–2033
- Han L, Li JL, Wang L, et al (2015). Identification and localized expression of putative K⁺/H⁺ antiporter genes in *Arabidopsis*. *Acta Physiol Plant*, 37 (5): 101
- Han N, Lan W, He X, et al (2011). Expression of a *Suaeda salsa* vacuolar H⁺/Ca²⁺ transporter gene in *Arabidopsis* contributes to physiological changes in salinity. *Plant Mol Biol Rep*, 30: 470–477
- Harada H, Kuromori T, Hirayama T, et al (2004). Quantitative trait loci analysis of nitrate storage in *Arabidopsis* leading to an investigation of the contribution of the anion channel gene, *AtCLC-c*, to variation in nitrate levels. *J Exp Bot*, 55: 2005–2014
- He X, Huang X, Shen Y, et al (2014). Wheat V-H⁺-ATPase subunit genes significantly affect salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS One*, 9: e86982
- Hedrich R, Mueller TD, Becker D, et al (2018). Structure and function of TPC1 vacuole SV channel gains shape. *Mol Plant*, 11: 764–775
- Herdean A, Nziengui H, Zsiros O, et al (2016). The *Arabidopsis* thylakoid chloride channel AtCLCe functions in chloride homeostasis and regulation of photosynthetic electron transport. *Front Plant Sci*, 7: 115
- Isayenkov SV, Dabravolski SA, Pan T, et al (2020). Phylogenetic diversity and physiological roles of plant monovalent cation/H⁺ antiporters. *Front Plant Sci*, 11: 573564
- Jaarsma R, De Boer AH (2018). Salinity tolerance of two potato cultivars (*Solanum tuberosum*) correlates with differences in vacuolar transport activity. *Front Plant Sci*, 9: 737
- Jayakannan M, Bose J, Babourina O, et al (2013). Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel. *J Exp Bot*, 64: 2255–2268
- Jentsch TJ (2008). CLC chloride channels and transporters: from genes to protein structure, pathology and physiology. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 43: 3–36
- Jia B, Sun M, Duanmu H, et al (2017). *GsCHX19.3*, a member of cation/H⁺ exchanger superfamily from wild soybean contributes to high salinity and carbonate alkaline tolerance. *Sci Rep*, 7 (1): 9423
- Jia Q, Zheng C, Sun S, et al (2018). The role of plant cation/proton antiporter gene family in salt tolerance. *Biol Plant*, 62: 617–629
- Jiang X, Leidi EO, Pardo JM (2010). How do vacuolar NHX exchangers function in plant salt tolerance? *Plant Signal Behav*, 5: 792–795
- Jossier M, Kroniewicz L, Dalmás F, et al (2010). The *Arabidopsis* vacuolar anion transporter, AtCLCc, is involved in the regulation of stomatal movements and contributes to salt tolerance. *Plant J*, 64: 563–576
- Kabala K, Kłobus G (2008). Modification of vacuolar proton pumps in cucumber roots under salt stress. *J Plant Physiol*, 165: 1830–1837
- Kluge C, Lahr J, Hanitzsch M, et al (2003). New insight into the structure and regulation of the plant vacuolar H⁺-ATPase. *J Bioenerg Biomembr*, 35: 377–388

- Kong M, Luo M, Li J, et al (2021). Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the monovalent cation-proton antiporter superfamily in maize, and functional analysis of its role in salt tolerance. *Genomics*, 113 (4): 1940–1951
- Latz A, Becker D, Hekman M, et al (2007). TPK1, a Ca^{2+} -regulated *Arabidopsis* vacuole two-pore K^{+} channel is activated by 14-3-3 proteins. *Plant J*, 52: 449–459
- Läuchli A, Grattan SR (2012). Plant responses to saline and sodic conditions. In: Wallendar WW, Tanji KK (eds). *Agricultural Salinity Assessment and Management*. New York: The American Society of Civil Engineers, 169–205
- Leidi EO, Barragán V, Rubio L, et al (2010). The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato. *Plant J*, 61: 495–506
- Li B, Tester M, Gilliam M (2017). Chloride on the move. *Trends Plant Sci*, 22: 236–248
- Li WY, Wong FL, Tsai SN, et al (2006). Tonoplast-located *GmCLC1* and *GmNHX1* from soybean enhance NaCl tolerance in transgenic bright yellow (BY)-2 cells. *Plant Cell Environ*, 29: 1122–1137
- Liu J, Hu J, Li Y, et al (2021a). Calcium channels and transporters in plants under salinity stress. In: Upadhyay SK (ed). *Calcium Transport Elements in Plants*. London: Academic Press, 157–169
- Liu J, Zhang S, Dong L, et al (2014). Incorporation of $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ antiporter gene from *Aeluropus litoralis* confers salt tolerance in soybean (*Glycine max* L.). *Indian J Biochem Biophys*, 51: 58–65
- Liu W, Feng J, Ma W, et al (2021b). *GhCLCg-1*, a vacuolar chloride channel, contributes to salt tolerance by regulating ion accumulation in upland cotton. *Front Plant Sci*, 12: 765173
- Liu X, Cai S, Wang G, et al (2017). Halophytic NHXs confer salt tolerance by altering cytosolic and vacuolar K^{+} and Na^{+} in *Arabidopsis* root cell. *Plant Growth Regul*, 82: 333–351
- Lv S, 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
- 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 S, Guo J, et al (2017). Molecular cloning and functional characterisation of an H^{+} -pyrophosphatase from *Iris lactea*. *Sci Rep*, 7: 17779
- Miller AJ, Fan X, Orsel M, et al (2007). Nitrate transport and signalling. *J Exp Bot*, 58: 2297–2306
- Miranda RS, Mesquita RO, Costa JH, et al (2017). Integrative control between proton pumps and SOS1 antiporters in roots is crucial for maintaining low Na^{+} accumulation and salt tolerance in ammonium-supplied *Sorghum bicolor*. *Plant Cell Physiol*, 58: 522–536
- Mottaleb SA, Rodríguez-Navarro A, Haro R, et al (2013). Knockouts of *Physcomitrella patens* CHX1 and CHX2 transporters reveal high complexity of potassium homeostasis. *Plant Cell Physiol*, 54 (9): 1455–1468
- Munns R, Gilliam M (2015). Salinity tolerance of crops-what is the cost? *New Phytol*, 208: 668–673
- Munns R, Passioura JB, Colmer TD, et al (2020). Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. *New Phytol*, 225: 1091–1096
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651–681
- Nakamura A, Fukuda A, Sakai S, et al (2006). Molecular cloning, functional expression and subcellular localization of two putative vacuolar voltage-gated chloride channels in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol*, 47: 32–42
- Negi J, Matsuda O, Nagasawa T, et al (2008). CO_2 regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature*, 452: 483–486
- Nguyen CT, Agorio A, Jossier M, et al (2016). Characterization of the chloride channel-like, AtCLCg, involved in chloride tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 57: 764–775
- Ohnishi M, Fukada-Tanaka S, Hoshino A, et al (2005). Characterization of a novel $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ antiporter gene *InNHX2* and comparison of *InNHX2* with *InNHX1*, which is responsible for blue flower coloration by increasing the vacuolar pH in the Japanese morning glory. *Plant Cell Physiol*, 46: 259–267
- Pabuayon ICM, Jiang J, Qian H, et al (2021). Gain-of-function mutations of *AtNHX1* suppress *sos1* salt sensitivity and improve salt tolerance in *Arabidopsis*. *Stress Biol*, 1 (1): 1–19
- Padmanaban S, Czerny DD, Levin KA, et al (2017). Transporters involved in pH and K^{+} homeostasis affect pollen wall formation, male fertility, and embryo development. *J Exp Bot*, 68 (12): 3165–3178
- Pan L, Yu X, Shao J, et al (2019). Transcriptomic profiling and analysis of differentially expressed genes in asparagus bean (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis*) under salt stress. *PLOS One*, 14: e0219799
- Pardo JM, Cubero B, Leidi EO, et al (2006). Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. *J Exp Bot*, 57 (5): 1181–1199
- Pasapula V, Shen G, Kuppu S, et al (2011). Expression of an *Arabidopsis* vacuolar H^{+} -pyrophosphatase gene (*AVPI*) in

- cotton improves drought and salt tolerance and increases fibre yield in the field conditions. *Plant Biotechnol J*, 9: 88–99
- Popova OV, Golldack D (2007). In the halotolerant *Lobularia maritima* (Brassicaceae) salt adaptation correlates with activation of the vacuolar H^+ -ATPase and the vacuolar Na^+/H^+ antiporter. *J Plant Physiol*, 164: 1278–1288
- Pottosin I, Dobrovinskaya O (2014). Non-selective cation channels in plasma and vacuolar membranes and their contribution to K^+ transport. *J Plant Physiol*, 171: 732–742
- Pottosin I, Dobrovinskaya O (2018). Two-pore cation (TPC) channel: not a shorthanded one. *Funct Plant Biol*, 45: 83–92
- Pottosin I, Schönknecht G (2007). Vacuolar calcium channels. *J Exp Bot*, 58: 1559–1569
- Pottosin I, Shabala S (2014). Polyamines control of cation transport across plant membranes: implications for ion homeostasis and abiotic stress signaling. *Front Plant Sci*, 5: 154
- Punia H, Tokas J, Bhadu S, et al (2020). Proteome dynamics and transcriptome profiling in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] under salt stress. *3 Biotech*, 10: 412
- Qin H, Gu Q, Kuppu S, et al (2013). Expression of the *Arabidopsis* vacuolar H^+ -pyrophosphatase gene *AVP1* in peanut to improve drought and salt tolerance. *Plant Biotechnol Rep*, 7: 345–355
- Qiu N, Chen M, Guo J, et al (2007). Coordinate up-regulation of V- H^+ -ATPase and vacuolar Na^+/H^+ antiporter as a response to NaCl treatment in a C_3 halophyte *Suaeda salsa*. *Plant Sci*, 172: 1218–1225
- Qudeimat E, Faltusz AM, Wheeler G, et al (2008). A P_{1B} -type Ca^{2+} -ATPase is essential for stress adaptation in *Physcomitrella patens*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 19555–19560
- Rahman A, Nahar K, Hasanuzzaman M, et al (2016). Calcium supplementation improves Na^+/K^+ ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt-stressed rice seedlings. *Front Plant Sci*, 7: 609
- Rajagopal D, Agarwal P, Tyagi W, et al (2007). *Pennisetum glaucum* Na^+/H^+ antiporter confers high level of salinity tolerance in transgenic *Brassica juncea*. *Mol Breed*, 19: 137–151
- Reguera M, Bassil E, Blumwald E (2014). Intracellular NHX-type cation/ H^+ antiporters in plants. *Mol Plant*, 7: 261–263
- Rubio F, Nieves-Cordones M, Horie T, et al (2020). Doing “business as usual” comes with a cost: evaluating energy cost of maintaining plant intracellular K^+ homeostasis under saline conditions. *New Phytol*, 225 (3): 1097–1104
- Saibi W, Brini F (2021). Ion transporters and their molecular regulation mechanism in plants. *J Plant Sci Phytopathol*, 5: 28–43
- Salinas-Cornejo J, Madrid-Espinoza J, Ruiz-Lara S (2019). Identification and transcriptional analysis of SNARE vesicle fusion regulators in tomato (*Solanum lycopersicum*) during plant development and a comparative analysis of the response to salt stress with wild relatives. *J Plant Physiol*, 242: 153018
- 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
- Schilling RK, Tester M, Marschner P, et al (2017). AVP1: one protein, many roles. *Trends Plant Sci*, 22: 154–162
- Schönknecht G (2013). Calcium signals from the vacuole. *Plants (Basel)*, 2: 589–614
- Schumacher K, Krebs M (2010). The V-ATPase: small cargo, large effects. *Curr Opin Plant Biol*, 13: 724–730
- Seifikalhor M, Aliniaieifard S, Shomali A, et al (2019). Calcium signaling and salt tolerance are diversely entwined in plants. *Plant Signal Behav*, 14: 1665455
- Shabala S (2013). Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Ann Bot*, 112: 1209–1221
- Shabala S, Bose J, Fuglsang AT, et al (2016). On a quest for stress tolerance genes: membrane transporters in sensing and adapting to hostile soils. *J Exp Bot*, 67: 1015–1031
- Shabala S, Bose J, Hedrich R (2014). Salt bladders: do they matter? *Trends Plant Sci*, 19: 687–691
- Shabala S, Chen G, Chen ZH, et al (2020). The energy cost of the tonoplast futile sodium leak. *New Phytol*, 225: 1105–1110
- Shabala S, Demidchik V, Shabala L, et al (2006). Extracellular Ca^{2+} ameliorates NaCl-induced K^+ loss from *Arabidopsis* root and leaf cells by controlling plasma membrane K^+ -permeable channels. *Plant Physiol*, 141: 1653–1665
- Shabala S, Pottosin I (2014). Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiol Plant*, 151: 257–279
- Shahid SA, Zaman M, Heng L (2018). Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem. In: Zaman M, Shahid SA, Heng L (eds). *Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques*. Cham: Springer International Publishing, 43–53
- Shen G, Wei J, Qiu X, et al (2015). Co-overexpression of *AVP1* and *AtNHX1* in cotton further improves drought

- and salt tolerance in transgenic cotton plants. *Plant Mol Biol Rep*, 33: 167–177
- Shigaki T, Hirschi KD (2006). Diverse functions and molecular properties emerging for CAX cation/H⁺ exchangers in plants. *Plant Biol (Stuttg)*, 8: 419–429
- Silva P, Faanha AR, Rui MT, et al (2010). Role of tonoplast proton pumps and Na⁺/H⁺ antiport system in salt tolerance of *Populus euphratica* Oliv. *J Plant Growth Regul*, 29: 23–34
- Su JH, Bai TH, Wang F, et al (2019). Overexpression of *Arabidopsis* H⁺-pyrophosphatase improves the growth of alfalfa under long-term salinity, drought conditions and phosphate deficiency. *Czech J Genet Plant*, 55: 156–161
- Sze H, Padmanaban S, Cellier F, et al (2004). Expression patterns of a novel *AtCHX* gene family highlight potential roles in osmotic adjustment and K⁺ homeostasis in pollen development. *Plant Physiol*, 136 (1): 2532–2547
- Tarte VN, Seok HY, Woo DH, et al (2015). *Arabidopsis* Qc-SNARE gene *AtSFT12* is involved in salt and osmotic stress responses and Na⁺ accumulation in vacuoles. *Plant Cell Rep*, 34: 1127–1138
- Teakle NL, Tyerman SD (2010). Mechanisms of Cl⁻ transport contributing to salt tolerance. *Plant Cell Environ*, 33: 566–589
- Tsujii M, Kera K, Hamamoto S, et al (2019). Evidence for potassium transport activity of *Arabidopsis* KEA1-KEA6. *Sci Rep*, 9 (1): 10040
- Vera-Estrella R, Barkla BJ, García-Ramírez L, et al (2005). Salt stress in *Thellungiella halophila* activates Na⁺ transport mechanisms required for salinity tolerance. *Plant Physiol*, 139: 1507–1517
- Véry AA, Sentenac H (2003). Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 575–603
- Voelker C, Gomez-Porras JL, Becker D, et al (2010). Roles of tandem-pore K⁺ channels in plants – a puzzle still to be solved. *Plant Biol (Stuttg)*, 12 (Suppl 1): 56–63
- Von Der Fecht-Bartenbach J, Bogner M, Dynowski M, et al (2010). CLC-b-mediated NO₃⁻/H⁺ exchange across the tonoplast of *Arabidopsis* vacuoles. *Plant Cell Physiol*, 51: 960–968
- Wang B, Lüttge 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: 2355–2365
- Wang C, Shikanai T, et al (2019). Modification of Activity of the thylakoid H⁺/K⁺ antiporter KEA3 disturbs ΔpH-dependent regulation of photosynthesis. *Plant Physiol*, 181 (2): 762–773
- Wang C, Xu W, Jin H, et al (2016). A putative chloroplast-localized Ca²⁺/H⁺ antiporter CCHA1 is involved in calcium and pH homeostasis and required for PSII function in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 9: 1183–1196
- Wang N, Qi H, Qiao W, et al (2017). Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes with contrasting K⁺/Na⁺ ion homeostasis: implications for salinity tolerance. *Acta Physiol Plant*, 39: 1–10
- Wang P, Guo Y, Wang Y, et al (2020). Vacuolar membrane H⁺-ATPase c'' subunit gene (*ThVHAc''I*) from *Tamarix hispida* Willd improves salt stress tolerance. *Plant Physiol Biochem*, 157: 370–378
- Wang Y, Xu H, Zhang G, et al (2009). Expression and responses to dehydration and salinity stresses of V-PPase gene members in wheat. *J Genet Genomics*, 36: 711–720
- Wege S, Gilliam M, Henderson SW (2017). Chloride: not simply a 'cheap osmoticum', but a beneficial plant macronutrient. *J Exp Bot*, 68: 3057–3069
- Wei P, Che B, Shen L, et al (2019). Identification and functional characterization of the chloride channel gene, *Gs-CLC-c2* from wild soybean. *BMC Plant Biol*, 19: 121
- Wei P, Wang L, Liu A, et al (2016). *GmCLC1* confers enhanced salt tolerance through regulating chloride accumulation in soybean. *Front Plant Sci*, 7: 1082
- White PJ, Broadley MR (2001). Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Ann Bot*, 88: 967–988
- White PJ, Broadley MR (2003). Calcium in plants. *Ann Bot*, 92: 487–511
- Wu H, Li Z (2019). The importance of Cl⁻ exclusion and vacuolar Cl⁻ sequestration: revisiting the role of Cl⁻ transport in plant salt tolerance. *Front Plant Sci*, 10: 1418
- Wu H, Shabala L, Zhou M, et al (2019). Root vacuolar Na⁺ sequestration but not exclusion from uptake correlates with barley salt tolerance. *Plant J*, 100: 55–67
- Wu H, Zhang X, Giraldo JP, et al (2018). It is not all about sodium: revealing tissue specificity and signalling roles of potassium in plant responses to salt stress. *Plant Soil*, 431: 1–17
- Xu C, Zheng L, Gao C, et al (2011). Overexpression of a vacuolar H⁺-ATPase c subunit gene mediates physiological changes leading to enhanced salt tolerance in transgenic tobacco. *Plant Mol Biol Rep*, 29: 424–430
- Xue ZY, Zhi DY, Xue GP, et al (2004). Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na⁺. *Plant Sci*, 167 (4): 849–859
- Yamada N, Theerawitaya C, Cha-Um S, et al (2014). Expression and functional analysis of putative vacuolar Ca²⁺-transporters (CAXs and ACAs) in roots of salt

- tolerant and sensitive rice cultivars. *Protoplasma*, 251: 1067–1075
- Yamaguchi T, Aharon GS, Sottosanto JB, et al (2005). Vacuolar Na^+/H^+ antiporter cation selectivity is regulated by calmodulin from within the vacuole in a Ca^{2+} and pH dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (44): 16107–16112
- Yamaguchi T, Apse MP, Shi H, et al (2003). Topological analysis of a plant vacuolar Na^+/H^+ antiporter reveals a luminal C terminus that regulates antiporter cation selectivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (21): 12510–12515
- Yoshida K, Ohnishi M, Fukao Y, et al (2013). Studies on vacuolar membrane microdomains isolated from *Arabidopsis* suspension-cultured cells: local distribution of vacuolar membrane proteins. *Plant Cell Physiol*, 54: 1571–1584
- Yu BJ, Lam HM, Shao GH, et al (2005). Effects of salinity on activities of H^+ -ATPase, H^+ -PPase and membrane lipid composition in plasma membrane and tonoplast vesicles isolated from soybean (*Glycine max* L.) seedlings. *J Environ Sci (China)*, 17: 259–262
- Zhang HL, Zhao JY, Wu HW, et al (2022). Role of plant vacuolar H^+ -pyrophosphatase in salt tolerance. *Plant Physiol J*, 58 (2): 247–253 (in Chinese with English abstract) [张会龙, 赵健宇, 武海雯等(2022). 植物液泡膜 H^+ -PPase在耐盐性调控中的作用. 植物生理学报, 58 (2): 247–253]
- Zhang HX, Blumwald E (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat Biotechnol*, 19: 765–768
- Zhang HX, Hodson JN, Williams JP, et al (2001). Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 12832–12836
- Zhang M, Fang Y, Liang Z, et al (2012). Enhanced expression of vacuolar H^+ -ATPase subunit E in the roots is associated with the adaptation of *Broussonetia papyrifera* to salt stress. *PLOS One*, 7: e48183
- Zhang Y, Li BC, Hu YL, et al (2018). Functional verification of *HgNHX1* gene derived from *Halogeton glomeratus* in barley. *J Tritic Crops*, 38 (8): 929–934 (in Chinese with English abstract) [张燕, 李葆春, 胡有良等(2018). 盐生草*HgNHX1*基因在大麦株系中的功能验证. 麦类作物学报, 38 (8): 929–934]
- Zhang YM, Zhang HM, Liu ZH, et al (2015). The wheat NHX antiporter gene *TaNHX2* confers salt tolerance in transgenic alfalfa by increasing the retention capacity of intracellular potassium. *Plant Mol Biol*, 87: 317–327
- Zhao C, Zhang H, Song C, et al (2020). Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *Innovation (Camb)*, 1: 100017
- Zhao FY, Zhang XJ, Li PH, et al (2006). Co-expression of the *Suaeda salsa* *SsNHX1* and *Arabidopsis AVP1* confer greater salt tolerance to transgenic rice than the single *SsNHX1*. *Mol Breed*, 17: 341–353
- Zhao J, Shigaki T, Mei H, et al (2009a). Interaction between *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ exchangers CAX1 and CAX3. *J Biol Chem*, 284: 4605–4615
- Zhao Q, Zhao YJ, Zhao BC, et al (2009b). Cloning and functional analysis of wheat V- H^+ -ATPase subunit genes. *Plant Mol Biol*, 69: 33–46
- Zheng S, Pan T, Fan L, et al (2013). A novel AtKEA gene family, homolog of bacterial K^+/H^+ antiporters, plays potential roles in K^+ homeostasis and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. *PLOS One*, 8 (11): e81463
- Zhu JK (2001). Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Curr Opin Plant Biol*, 4: 401–406
- Zhu JK (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol*, 6: 441–445
- 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
- Zhu X, Pan T, Zhang X, et al (2018). K^+ efflux antiporters 4, 5, and 6 mediate pH and K^+ homeostasis in endomembrane compartments. *Plant Physiol*, 178 (4): 1657–1678