

盐生植物的独特泌盐结构——盐囊泡

张乐, 郭欢, 包爱科*

兰州大学草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 农业农村部草牧业创新重点实验室, 兰州730020

摘要: 盐囊泡是高等植物特色的抗盐特征之一, 大约50%的盐生植物表面存在盐囊泡。盐囊泡能够帮助植物在盐渍化环境中积累多余盐分、储存水分、进行渗透调节, 从而有助于植物适应盐渍环境。本文对近年来盐囊泡的功能、泌盐机理及发育等方面的研究进展进行了综述, 以期对相关研究提供参考。

关键词: 盐生植物; 盐囊泡; 耐盐性; 泌盐机理

盐渍化是制约世界农业发展的一个重大自然灾害, 全球盐渍化土地约有8.31亿 hm^2 , 受盐渍化威胁的灌溉土地达到20% (Ghassemi等1995)。我国盐渍化土地总面积约3 600万 hm^2 , 占全国可利用土地面积的4.88% (王佳丽等2011)。在世界各地, 由盐渍化造成的减产是十分常见的问题, 由于大多数作物都是甜土植物, 对盐分极度敏感, 面对土壤盐渍化不断加剧的现状, 作物的生产力受到显著影响(Munns和Tester 2008)。此外, 在世界人口数量不断增加的背景下, 受自然灾害以及人为因素影响, 耕地面积却在不断减少, 因此如何利用盐渍化边际土地进行农业生产是人类面临的重要课题(李建国等2012)。盐生植物长期生活在高浓度的盐渍化环境中, 进化出独特的耐盐机制, 对盐渍环境具有耐受性。通过深入研究这些盐生植物的耐盐机制, 在此基础上培育耐盐植物资源, 将为今后农业生产、牧草改良和生态恢复提供理论依据(王佳丽等2011)。

Breckle (1995)根据抗盐方式不同将盐生植物分为3类: (1)真盐生植物(euhalophytes), 这类植物通常将离子积累在叶片肉质化组织及绿色组织的液泡中, 从而稀释体内盐浓度; (2)假盐生植物(pseudohalophytes), 能够将盐分积累在薄壁组织的液泡或根部木质部薄壁组织中, 从而减少离子向地上部运输, 避免盐害; (3)泌盐型盐生植物(recretohalophytes), 则是利用特殊的泌盐器官将盐分排出体外, 减少体内盐分积累。这些泌盐结构主要分为两类, 即盐腺(salt gland)和盐囊泡(salt bladder), 盐腺主要通过分泌细胞将盐分排出体外, 盐囊泡则是通过盐囊泡的破裂释放出大量盐分(袁芳等2015)。

在漫长的进化过程中, 植物逐渐形成各种独特的形态结构来适应环境, 盐囊泡即是其中之一(马亚丽等2015)。大约50%的盐生植物表面存在盐囊泡(Flowers等2010)。盐囊泡最常见于藜科, 主要包括滨藜属(*Atriplex*)、藜属(*Chenopodium*)的大部分植物以及猪毛菜属(*Salsola*)的部分植物, 代表植物有中亚滨藜(*A. centralasiatica*)、藜麦(*C. quinoa*)等; 此外, 番杏科日中花属(*Mesembryanthemum*)中的冰叶日中花(*M. crystallinum*)其茎、叶表面也密布盐囊泡, 是典型的盐囊泡类盐生植物; 同样, 有研究表明豆科大豆属(*Glycine*)植物野生大豆(*G. soja*)也具有盐囊泡结构。盐囊泡的发现较晚, 且最初被认为是储存水分的结构, 直到1959年人们才发现它具有泌盐功能(赵可夫和李法曾1999)。一般认为, 盐囊泡是一种特殊的盐腺, 它能够将盐分暂时储存在叶片表面的囊泡状细胞中, 在生长过程中盐囊泡成熟或受到风、雨等外力刺激后, 囊泡状细胞破裂, 将盐分排出体外, 从而起到泌盐的作用, 减轻盐分对植物的危害(Shabala等2014)。

1 盐囊泡的结构

盐囊泡是高等植物特色的抗盐特征之一, 主要由表皮毛特化而来, 是一种体积庞大、高度液泡化的泡状细胞。植物种类不同, 盐囊泡的结构与大小也有所差异。藜科植物表面的盐囊泡一般

收稿 2019-01-16 修定 2019-03-04

资助 国家重点研发计划课题(2017YFC0504804)、国家自然科学基金(31670405)和兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky-2018-k01)。

* 通讯作者(baoaik@lzu.edu.cn)。

由囊泡细胞(epidermal bladder cell, EBC)与其基部的柄细胞(stalk cell, SC)以及表皮细胞(epidermal cell, EC)共同构成EC-SC-EBC复合体(图1-A) (Shabala等2014)。该泡状细胞具有一个很大的中央液泡,其边缘的细胞质中含有细胞核、线粒体、叶绿体及其他细胞器。柄细胞一般由一两个细胞构成,细胞质浓稠,具有较大细胞核和较多线粒体以及许多小液泡。柄细胞通过大量胞间连丝将泡状细胞与相邻叶肉细胞相连,且在盐囊泡表面有一层很厚的、多层次的角质层,将囊泡与表皮细胞相连,构成盐囊泡复合体(韩军丽和赵可夫2001)。有关学者对中亚滨藜研究发现,盐囊泡在其叶正面和背面均有分布,对照条件下的泡状细胞大多呈肾形,直径约为50 μm ,在盐处理(从50、100、200直到400 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl)下,随着盐浓度的增高,盐囊泡体积显著增大,呈圆形或卵圆形,且数量有所增加(杨美娟等2009)。对三角滨藜(*A. triangularis*)盐囊泡的研究也得到了相似的结果(Karimi和Ungar 1989)。

冰叶日中花是一类特殊的盐囊泡类盐生植物,该植物在胁迫条件下能够将光合途径从 C_3 途径转变为景天酸代谢途径(crassulacean acid metabolism, CAM) (Adams等1998),且其盐囊泡的结构、大小与藜科植物有所不同,这种盐囊泡没有柄细胞,而是直接附着于叶或茎的表皮(图1-B) (Barkla等2012)。

与藜科植物相同的是,冰叶日中花的盐囊泡形态也会随着植物生长状态与生活环境的变化而改变,在植物幼苗期间,盐囊泡体积小且扁平,附着于叶片和茎表面,而在成熟植物表面,特别是那些正处于盐胁迫的成熟植物表面,盐囊泡细胞膨胀成充满液体的球状,平均直径可达1 mm,平均细胞体积约为 0.5 mm^3 (Barkla等2016)。

2 盐囊泡的功能

长期以来,研究人员发现在干旱、盐渍化生境中,盐囊泡对提高植物的抗旱、耐盐性发挥着重要作用,主要包括:(1)储存植物体内多余盐分;(2)储存水分,保护植物免受短期水分胁迫;(3)储存有机渗透调节物质;(4)储存活性氧清除物质及其他各种代谢产物;(5)植物体最外层屏障;(6)具有一定的光合能力(Kiani-Pouya等2017; Barkla等2012)。那么,由于植物的抗盐性是一个由多个基因控制的复杂问题(Adolf等2013),盐囊泡是否在植物抵御盐害过程中发挥重要功能?抑或盐囊泡在提高植物抗性的过程中究竟如何发挥作用?近年来,为了解答这些问题,许多学者从多个方面尝试去研究并给出回答。

2.1 储存植物体内多余盐分,维持植物体内离子平衡

多数盐生植物主要依靠隔离体内盐分来获得耐受性,盐囊泡的主要功能是将植物体内过量的

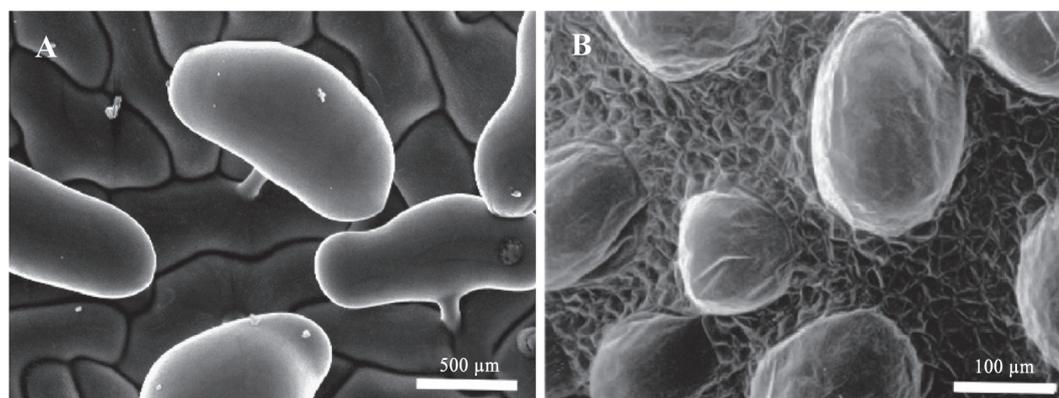


图1 盐囊泡扫描电镜照片

Fig.1 Scanning electron micrograph of salt bladders

A: 五周龄四翅滨藜(*A. canescens*)成熟叶表面盐囊泡,由囊泡细胞与其基部的柄细胞以及表皮细胞共同构成EC-SC-EBC复合体; B: 三周龄冰叶日中花(*M. crystallinum*)幼叶表面盐囊泡,体积较小且直接附着于叶表皮。参考Jou等(2007)并略有改动。

盐分储存在囊泡细胞中,并与其他功能结合,提高植物耐盐性(Shabala等2014)。研究表明,在盐渍化环境中,沿EC-SC-EBC复合体,Na⁺首先从表皮细胞排出,经柄细胞中转(如中亚滨藜)(杨美娟2006)或无柄细胞(如冰叶日中花)(Barkla等2012)被装载入盐囊泡,待盐囊泡成熟破裂后直接将Na⁺释放出体外,从而避免过量Na⁺对重要代谢器官的伤害,保证植株正常的生长发育(Fahn 1988)。

冰叶日中花是研究盐囊泡的模式植物,400 mmol·L⁻¹ NaCl处理后冰叶日中花盐囊泡中Na⁺浓度可高达1.0 mol·L⁻¹(Adams等1998)。Barkla等(2016)通过测定冰叶日中花表面盐囊泡的离子组,发现200 mmol·L⁻¹ NaCl处理后盐囊泡中Na⁺浓度从557 mg·L⁻¹增加到11 679 mg·L⁻¹,增加了21倍;Cl⁻浓度从3 144 mg·L⁻¹增加到18 000 mg·L⁻¹,证明在盐渍生境下,盐囊泡除了可以有效区域化植物体内大量Na⁺外还可以积累大量Cl⁻。Agarie等(2007)通过对无盐囊泡的冰叶日中花突变体研究发现,400 mmol·L⁻¹ NaCl处理两周后,具有盐囊泡的野生型植株地上部组织中积累的Na⁺和Cl⁻含量比突变体大约高出1.5倍,且野生型叶片表面盐囊泡中积累的Na⁺和Cl⁻分别占叶片积累总量的30%和25%;与野生型相比,在高浓度(400和800 mmol·L⁻¹) NaCl处理下,突变体耐盐性下降,再次证明盐囊泡能积累冰叶日中花体内的多余盐分,有助于提高其耐盐性。

大多数藜科植物表面也普遍存在盐囊泡,除了能够积累大量盐分外,盐囊泡还能够维持细胞内K⁺稳态。Kiani-Pouya等(2017)发现,400 mmol·L⁻¹ NaCl处理后藜麦表面的盐囊泡体积占叶片总体积的25%左右,叶中大约50%的K⁺和40%的Na⁺被储存在盐囊泡中,盐囊泡中的Na⁺浓度约为0.85 mol·L⁻¹,Cl⁻浓度约为1.0 mol·L⁻¹;他们还通过人为刷除盐囊泡的方法创造了一种无盐囊泡株系,发现在盐处理后,无盐囊泡植株Na⁺积累量增加,K⁺积累量减少,且生物量显著降低。Tsutsumi等(2015)用钠绿荧光试剂(Sodium Green)对北滨藜(*A. gmelinii*)叶片中Na⁺进行定位,发现在250 mmol·L⁻¹ NaCl处理后,幼叶中Na⁺主要积累在盐囊泡内,而成熟叶片中,Na⁺主要积累在叶肉细胞的液泡内,且幼叶表面盐囊泡中的Na⁺浓度、K⁺浓度、Na⁺/K⁺均显著高于

叶肉组织中。我们通过测定盐处理后四翅滨藜(*A. canescens*)叶片表面盐囊泡中的Na⁺和K⁺浓度发现,随着NaCl处理浓度的增加(从0、100、200直到400 mmol·L⁻¹ NaCl),盐囊泡中Na⁺浓度显著升高,而K⁺浓度保持相对稳定,说明将Na⁺储存在盐囊泡中是四翅滨藜幼苗在盐渍环境中减轻Na⁺毒害的重要策略之一(Pan等2016)。

2.2 储存水分,保护植物免受短期渗透胁迫

盐渍化土壤中的盐离子既使植物受到离子胁迫,又对其造成生理干旱,当植物体外部盐浓度很高时,由于外界水势低于细胞内部水势,造成细胞失水,进而影响植物的正常生长(赵可夫和李法曾1999)。早期研究表明,盐囊泡可以为代谢活跃的叶肉细胞储存大量水分,Steudle等(1975)采用生物物理学方法计算了冰叶日中花囊泡细胞与表皮细胞之间的导水率,发现其显著高于普通细胞间的导水率,证明盐囊泡能够在植物遭受渗透胁迫时维持叶片含水量稳定,保护植物免受伤害。近期的研究结果也证明了这一结论,盐处理后,无盐囊泡的冰叶日中花突变体含水量和叶片肉质化程度都显著低于野生型。此外,在冰叶日中花盐囊泡蛋白组中鉴定出大量水通道蛋白家族的质膜水通道蛋白(PIP2;3)以及液泡膜水通道蛋白(TIP1;1),这为盐囊泡具有积累水分的功能提供了分子证据(Barkla等2012)。

2.3 储存有机渗透调节物质,维持植物体内离子稳态

植物在盐渍环境中,可以将Na⁺、Cl⁻区域化至液泡中来避免离子毒害,但这却使液泡中渗透势降低,为了调节胞质和液泡之间的渗透势平衡,维持细胞器的正常功能,植物会在细胞质内积累一些不影响酶活性与生物大分子结构和功能的可溶性物质来降低细胞质内渗透势,这些有机渗透调节物质主要包括脯氨酸、肌醇、甜菜碱等(杨涓和许兴2003)。研究表明,在200 mmol·L⁻¹ NaCl处理下,冰叶日中花盐囊泡中脯氨酸含量显著上升将近6倍(Barkla和Vera-Estrella 2015)。非蛋白质氨基酸哌啶酸(pipecolic acid)与脯氨酸结构相似(Ganapathy等1983),被证明是补血草(*Limonium sinense*)在盐胁迫下积累的主要渗透调节物质(Stewart和Larher 1980),盐处理后冰叶日中花叶片表面盐囊泡

中腺嘌呤含量与对照相比增加了12倍以上(Barkla和Vera-Estrella 2015)。

藜科植物的盐囊泡也具有同样的功能。 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种非蛋白质氨基酸, 干旱、盐等处理能够诱导其在植物体内大量积累, 对提高植物抗逆性具有重要作用(李岩岩等2010)。盐处理后, 藜麦整叶中的GABA含量比剔除盐囊泡叶中的高出3倍, 同时脯氨酸和肌醇含量也分别高出2.1倍和1.3倍, 推测藜麦叶片表面盐囊泡中GABA浓度要比剔除盐囊泡叶中的高出10倍, 约为 $5.6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ GABA处理后, 藜麦叶片表面盐囊泡柄细胞中 Na^+ 外流量降低了25%, Cl^- 外流量降低了约50%, 推测GABA可能通过影响植物离子通道活性, 进而调节盐分向盐囊泡的装载(Kiani-Pouya等2017)。Tsutsumi等(2015)发现, 盐处理下北滨藜叶片表面盐囊泡中的甜菜碱(glycinebetaine, GB)含量显著增加, 幼叶表面盐囊泡中GB含量达到叶肉细胞中的2倍, 但GB合成的限速酶胆碱单加氧酶(choline monooxygenase, CMO)仅在成熟叶片中检测到, 而在盐囊泡和幼叶叶片中未检测到, 说明GB可能先在成熟叶片中合成, 然后被运输到幼叶叶片和盐囊泡中。

2.4 植物体最外层屏障

盐囊泡还可作为植物的最外层屏障, 减少水分流失并防止紫外线对叶肉细胞的损伤(Adolf等2013)。利用高效液相色谱法, 发现紫外线处理可诱导冰叶日中花盐囊泡中快速积累大量的甜菜红素、黄酮类化合物等物质(Vogt等1999)。甜菜红素是植物体内的一种天然色素, 一般认为植物表皮细胞中的色素能够吸收紫外线, 降低植物受到的紫外线损伤(王长泉等2006)。黄酮类化合物是植物合成的一种次生代谢产物, 具有吸收紫外线、抗氧化的能力(李鹏等2001)。此外, 盐处理能够诱导冰叶日中花表皮盐囊泡中芥子醇含量增加, 这是木质素的主要成分之一, 木质素对于维持盐囊泡细胞结构的完整性、增强植物体机械强度、抵抗外界不良环境侵袭具有重要作用(Barkla和Vera-Estrella 2015; 魏建华和宋艳茹2001)。

2.5 储存活性氧清除物质及其他各种代谢产物

非生物胁迫会使植物体内活性氧代谢失常,

活性氧的过度积累会损伤生物大分子, 破坏细胞生理活性, 清除多余活性氧、维持活性氧平衡对于植物的正常生长及提高植物对胁迫的耐受性有着重要作用(薛鑫等2013)。抗坏血酸是植物体内最丰富的水溶性抗氧化剂, 能够保护叶绿体免受氧化损伤(陈坤明等2004)。盐处理后冰叶日中花盐囊泡中还原型抗坏血酸(ascorbic acid)含量下降, 氧化型抗坏血酸(dehydroascorbic acid)含量上升, 大量还原型抗坏血酸被消耗用来清除活性氧, 这可能是维持盐囊泡细胞中活性氧平衡的重要方式(Barkla和Vera-Estrella 2015)。对冰叶日中花盐囊泡的代谢组分析发现, 盐处理使50%以上的代谢物含量发生了显著变化, 主要分为糖、糖醇、蛋白质和非蛋白质氨基酸以及有机酸等, 这表明盐囊泡中储存的代谢产物能够对盐处理做出响应(Barkla和Vera-Estrella 2015)。

2.6 具有一定的光合能力

近期通过单细胞类型取样法和蛋白质组学技术已经确定盐囊泡中存在与光合作用相关的蛋白质(Jou等2007), 在盐囊泡发育完全的叶绿体中检测到淀粉颗粒以及依赖于光合作用的膜电位振荡(Kramer等1979)。使用共聚焦扫描显微镜在盐囊泡内也能检测到叶绿素的自发荧光(Barkla等2016)。

盐胁迫能够使冰叶日中花的光合途径从 C_3 途径转变为CAM途径(Fahn 1988), 通过蛋白质组学分析, 从盐囊泡中鉴定出几种CAM特异性酶, 转录组测序发现多个CAM途径必需的基因(PEPC激酶)显示出显著的盐诱导特性。尽管盐囊泡对叶光合作用的总贡献可能很低, 但仍有一定的光合能力(Barkla等2012), 这可能有助于维持盐囊泡的细胞活性。

3 盐囊泡的泌盐机理

盐囊泡的泌盐是一个复杂的过程, 是植物应对不良环境的综合策略。已知离子进入盐囊泡是一种逆电化学势梯度的主动运输, 在转运过程中一些离子转运蛋白与离子通道发挥着重要作用。最近, Böhm等(2018)以藜麦为研究对象对盐囊泡泌盐过程提出较为完善的模型, 包括两部分, 盐分转运模型与渗透调节物质转运模型(图2)。

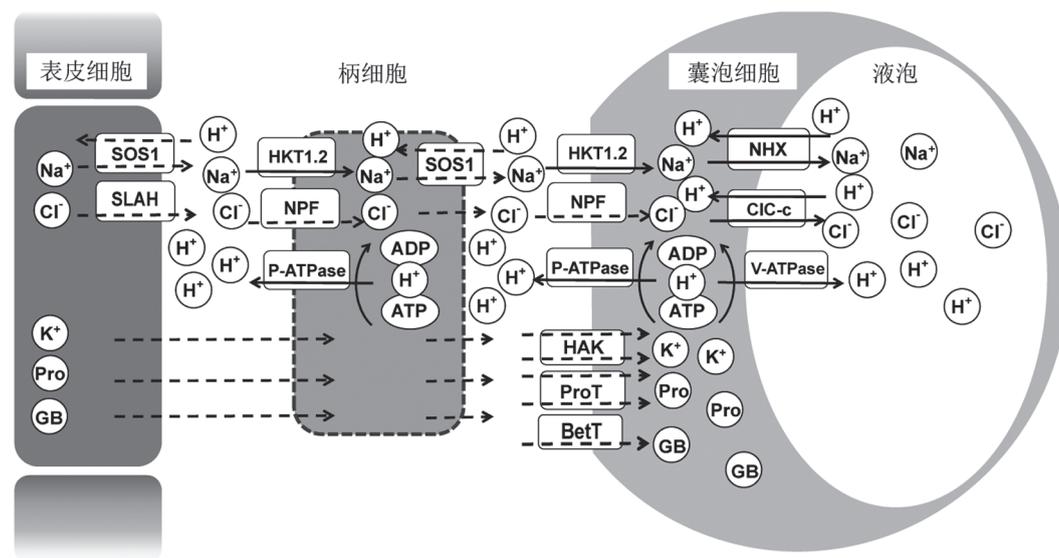


图2 盐囊泡积盐模型

Fig.2 The model of salt accumulation in salt bladder cells

ADP是二磷酸腺苷, ATP是三磷酸腺苷, BetT是甜菜碱转运蛋白, CIC-c是Cl⁻通道蛋白, HAK是高亲和性K⁺转运蛋白, HKT1.2是Na⁺转运蛋白, NHX是液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白, NPF是阴离子转运蛋白, P-ATPase和V-ATPase分别代表位于质膜和液泡膜上的质子泵, ProT是脯氨酸转运蛋白, SLAH是阴离子通道蛋白, SOS1是质膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白。虚线代表尚未证实的转运路径, 实线代表已证实的转运路径; 由于并非所有植物的盐囊泡都具有柄细胞, 故柄细胞用虚线表示。参照Böhm等(2018)略有调整。

植物能够将体内过量盐分转运到盐囊泡细胞中, 在这一过程中将Na⁺与Cl⁻由根部转运至盐囊泡中至关重要。高亲和性K⁺转运蛋白HKT是一类与植物耐盐性相关的Na⁺或K⁺转运体或K⁺/Na⁺共转运体, 分为两个亚家族, 亚家族1的第一个P环过滤器所含氨基酸为丝氨酸, 通常为Na⁺转运蛋白; 而亚家族2为甘氨酸, 是K⁺/Na⁺共转运蛋白(赵常玉等2012)。从藜麦中鉴定出的*CqHKT1.1*和*CqHKT1.2*都属于亚家族1, *CqHKT1.1*在根中高度表达, *CqHKT1.2*则在叶和盐囊泡中表达, 将这两个基因在爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞中表达, 发现这两个蛋白均为Na⁺特异性通道, *CqHKT1.1*介导Na⁺由外界进入根部, 而*CqHKT1.2*介导Na⁺由细胞间隙进入柄细胞与囊泡细胞的单向转运过程(Böhm等2018)。对于Na⁺从叶肉细胞的外排推测由质膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白SOS1介导, *CqSOS1*在叶肉细胞中表达量高, 而在盐囊泡细胞中表达量较低, 由于盐囊泡的主要功能是积盐而不是排盐, *CqSOS1*主要负责将Na⁺从叶肉细胞中转运出去, 这种在叶片与盐囊泡间的差异表达恰好符合盐囊泡的功能(Böhm等2018)。

为了避免Na⁺毒害, 维持盐囊泡细胞的正常生理功能, 需将Na⁺区域化至囊泡细胞的大液泡中, 液泡膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白NHX在Na⁺跨液泡膜运输的过程中发挥重要作用, 在藜麦盐囊泡的转录组数据中, 发现大量NHX同源基因的高丰度表达(Böhm等2018)。Cl⁻是组成盐分的主要阴离子, 因此Cl⁻的转运也至关重要, 100 mmol·L⁻¹ NaCl处理后, 从藜麦盐囊泡转录组中鉴定出大量的阴离子通道蛋白基因SLAH, 推测可能介导Cl⁻从叶肉细胞的外排(Zou等2017), 此外NPF家族蛋白质可能介导Cl⁻进入盐囊泡的跨细胞膜运输(Böhm等2018), 已发现拟南芥NPF2.5参与根部Cl⁻的装载(Li等2017)。Cl⁻的跨液泡膜运输已证实由定位于液泡膜的*CqCIC-c*蛋白负责, *CqCIC-c*在盐囊泡中的表达量高于叶片, 且具有Cl⁻转运活性, 表明*CqCIC-c*能够在Cl⁻进入盐囊泡的过程中发挥作用(Böhm等2018)。

质子泵是细胞膜上的一类蛋白质, 它能够利用ATP分解产生的能量将膜内侧的H⁺转运至膜外, 增加膜外侧H⁺浓度, 使膜两侧产生跨膜质子电化学

梯度(proton motive force, PMF), 这是驱动离子跨膜主动转运的原初动力(赵可夫和李法曾1999)。在盐囊泡对盐分的区域化过程中, 质膜质子泵(P-H⁺-ATPase)与液泡膜质子泵(V-H⁺-ATPase和H⁺-PPase)具有关键作用, 其为Na⁺/H⁺逆向转运蛋白(SOS1、NHX)以及Cl⁻/H⁺(ClC)逆向转运蛋白提供质子动力, 驱动Na⁺与Cl⁻的跨膜转运(Böhm等2018)。转录组数据表明盐处理后的冰叶日中花盐囊泡中液泡膜H⁺-ATPase转录水平上调2~4倍(Oh等2015), 蛋白质组学显示, 盐处理后组成液泡膜H⁺-ATPase的4个VHA亚基蛋白质丰度显著增加(Barkla等2012)。藜麦盐囊泡中也有相同的结果, 盐处理后, 藜麦盐囊泡中编码质膜H⁺-ATPase以及液泡膜H⁺-ATPase的基因表达量显著增加(Zou等2017)。

在盐渍环境下, 盐囊泡液泡中能够积累高浓度的Na⁺, 这导致细胞质与液泡间出现明显的浓度梯度, 而维持细胞功能正常行使的细胞器皆位于细胞质中, 因此在细胞质中积累一些无毒的无机及有机渗透调节物质至关重要。K⁺除了作为植物生长的必须元素外, 还能够参与渗透调节, 维持细胞内K⁺稳定对于植物的正常生长非常重要(Hariadi等2010)。在藜麦中鉴定出一个在盐囊泡中大量表达的高亲和性钾转运体CqHAK, 推测该转运蛋白介导盐囊泡K⁺的转运(Böhm等2018)。代谢组数据显示, 脯氨酸是植物盐囊泡内主要的渗透调节物质(Barkla和Vera-Estrella 2015), Böhm等(2018)提出, 脯氨酸主要在藜麦叶肉细胞中合成, 再转运至盐囊泡, 藜麦盐囊泡中脯氨酸转运蛋白CqProT的转录水平是叶肉细胞的18倍, 且定位于质膜。与脯氨酸相似, 甜菜碱也是在叶肉细胞中合成再转运至幼叶及盐

囊泡中, 且通过原位杂交观察到甜菜碱转运蛋白AgBetT在盐囊泡中表达(Tsutsumi等2015)。

4 盐囊泡的发育

盐囊泡是一种特化的表皮毛结构(Adams等1998), 但是目前对盐囊泡发育方面的研究较少。有学者对盐囊泡发育提出以下模型: 在盐囊泡复合体形成的过程中, 特定的表皮细胞延长并发育成两个细胞, 基部细胞发育成盐囊泡复合体的下部表皮细胞, 上部细胞向外生长并最终发育成囊泡细胞与柄细胞(Shabala等2014)。这一模型与中亚滨藜盐囊泡的发育相似, 石蜡切片观察到盐囊泡起源于叶原基、茎尖及幼叶的原表皮细胞, 一些原表皮细胞原生质变浓, 细胞增大, 并垂直于叶片突出生长, 形成盐囊泡的原始细胞, 原始细胞再分裂成两个子细胞, 其中一个子细胞体积逐渐增大, 发育成囊泡细胞; 另一个子细胞细胞质较浓, 形成盐囊泡的柄细胞(图3)(杨美娟等2006)。

关于盐囊泡发育的分子机制目前还知之甚少。盐囊泡由表皮毛特化而来, 表皮毛是植物表面所特有的一种结构, 具有多种形态(高英等2011), 目前对于模式植物拟南芥表皮毛发育的分子调控机制已有较为深入的研究, 因此可参考拟南芥的表皮毛发育机制对盐囊泡的发育进行研究。表皮毛的发育由多基因控制, GL1-GL3/EGL3-TTG1复合体控制表皮毛发育的启动, GL2作用于该复合体下游, 促进表皮毛生长, TRY与CPC是负调控基因, 通过抑制邻近细胞GL2的表达, 阻止表皮毛发育(Ishida等2008)。研究发现, 冰叶日中花GL1类基因McMYB2和GL2类基因McC4HDZ优先在野生型植物中表

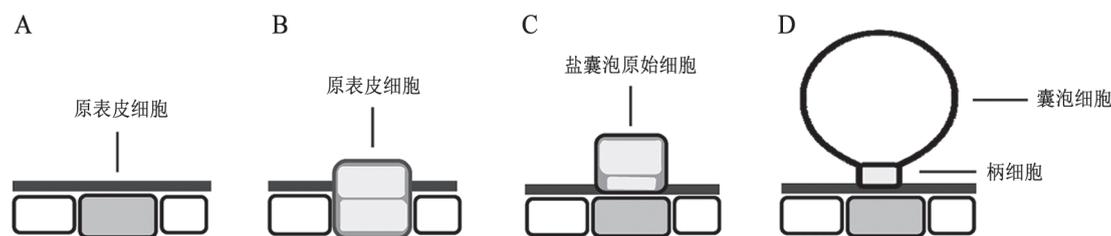


图3 盐囊泡发育模式图

Fig.3 Developmental model of salt bladders

A: 原表皮细胞原生质变浓, 细胞增大; B: 原表皮细胞垂直于叶片突出生长; C: 形成盐囊泡原始细胞; D: 盐囊泡原始细胞再分裂成两个子细胞, 其中一个发育成囊泡细胞, 另一个发育成柄细胞。参照Shabala等(2014)略有调整。

达, 而负调控基因*McTRY*和*McCPC*优先在无盐囊泡的突变体中表达; *McMYB2*在野生型拟南芥中的过表达增加了表皮毛数量, 且活化了下游基因*GL2*; *McC4HDZ*的过表达同样增加了拟南芥表皮毛数量, 并在一定程度上恢复了拟南芥*gl2-1*无表皮毛突变体的表型(Roern等2017)。利用抑制消减杂交(suppression subtractive hybridization, SSH)技术在无盐囊泡冰叶日中花突变体中分离出被抑制的基因*WM28*, 将该基因在拟南芥中过表达, 增加了拟南芥的表皮毛数量, 且上调了与表皮毛发育相关的关键基因表达量(Roern等2016)。这些结果表明冰叶日中花盐囊泡与拟南芥表皮毛在发育机制方面具有一定的相似性, 这为进一步研究盐囊泡发育的分子基础提供了重要线索。

5 展望

随着土壤盐渍化的不断加剧以及人口数量的持续增长, 开发和利用干旱、盐渍化土地势在必行。通过研究盐生植物的抗逆特性以直接利用盐生植物进行生态恢复, 或参照盐生植物的耐盐机制对作物的抗逆性进行遗传改良是当前及今后的重要研究方向。已有充分证据表明, 盐囊泡能够在干旱、盐渍环境下积累植物体内多余盐分, 储存水分, 对维持植物体内离子平衡、应对不良环境起到至关重要的作用。目前对于盐囊泡的泌盐机理已有较为深入的研究, 但对于泌盐过程中部分离子的转运以及能量的来源还处于推测阶段, 缺乏直接的证据, 整体泌盐过程的机理还不完整, 需要进一步补充。此外, 盐囊泡的发育是作物改良的基础, 在细胞层面, 已清楚盐囊泡发育的过程, 但在分子层面, 关于盐囊泡发育的相关研究较少, 尚未发现控制盐囊泡发育的关键基因, 且控制盐囊泡发育的相关基因是否与耐盐性有关也是值得关注的问题。今后应继续加强对盐囊泡泌盐机理的研究, 补充目前所提出的模型, 重点关注盐囊泡的发育。探索控制盐囊泡发育的关键基因, 将为开发和利用盐生植物资源及培育抗盐品种奠定理论与实践基础。

参考文献(References)

Adams P, Nelson DE, Yamada S, et al (1998). Growth and

development of *Mesembryanthemum crystallinum* (Aizoaceae). *New Phytol*, 138 (2): 171–190

Adolf VI, Jacobsen SE, Shabala S (2013). Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Environ Exp Bot*, 92 (1): 43–54

Agarie S, Shimoda T, Shimizu Y, et al (2007). Salt tolerance, salt accumulation, and ionic homeostasis in an epidermal bladder-cell-less mutant of the common ice plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *J Exp Bot*, 58 (8): 1957–1967

Barkla BJ, Vera-Estrella R (2015). Single cell-type comparative metabolomics of epidermal bladder cells from the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Front Plant Sci*, 6: 435

Barkla BJ, Vera-Estrella R, Pantoja O (2012). Protein profiling of epidermal bladder cells from the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Proteomics*, 12 (18): 2862–2865

Barkla BJ, Vera-Estrella R, Raymond C (2016). Single-cell-type quantitative proteomic and ionomic analysis of epidermal bladder cells from the halophyte model plant *Mesembryanthemum crystallinum* to identify salt-responsive proteins. *BMC Plant Biol*, 16: 110

Böhm J, Messerer M, Müller HM, et al (2018). Understanding the molecular basis of salt sequestration in epidermal bladder cells of *Chenopodium quinoa*. *Curr Biol*, 28 (19): 3075–3085

Breckle SW (1995). How do halophytes overcome salinity? In: Khan MA, Ungar IA (eds). *Biology of Salt Tolerant Plants*. Parker, Colorado, United States: BookCrafters, 199–213

Chen JM, Gong HJ, Wang SM (2004). Biosynthesis, transport and function of ascorbate in plants. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 24 (2): 329–336 (in Chinese with English abstract) [陈坤明, 宫海军, 王锁民(2004). 植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能. *西北植物学报*, 24 (2): 329–336]

Fahn A (1988). Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol*, 108 (3): 229–257

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

Ganapathy V, Roesel RA, Howard JC, et al (1983). Interaction of proline, 5-oxoproline, and pipercolic acid for renal transport in the rabbit. *J Biol Chem*, 258 (4): 2266–2272

Gao Y, Guo J, Zhao J (2011). Molecular mechanisms of *Arabidopsis* trichome development. *Chin Bull Bot*, 46 (1): 119–127 (in Chinese with English abstract) [高英, 郭建强, 赵金凤(2011). 拟南芥表皮毛发育的分子机制. *植物学报*, 46 (1): 119–127]

Ghassemi F, Jakeman AJ, Nix HA (1995). *Salinisation of Land and Water Resources: Human Causes, Extent, Manage-*

- ment and Case Studies. Wallingford, United Kingdom: CAB International
- Han J, Zhao K (2001). The structure, function, and salt-secreted mechanism of salt glands. *J Shandong Norm Univ-Nat Sci*, 16 (2): 194–198 (in Chinese with English abstract) [韩军丽, 赵可夫(2001). 植物盐腺的结构、功能和泌盐机理的探讨. *山东师大学报(自然科学版)*, 16 (2): 194–198]
- Hariadi Y, Marandon K, Tian Y, et al (2011). Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *J Exp Bot*, 62 (1): 185–193
- Ishida T, Kurata T, Okada K, et al (2008). A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 365–386
- Jou Y, Wang YL, Yen HE (2007). Vacuolar acidity, protein profile, and crystal composition of epidermal bladder cells of the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Funct Plant Biol*, 34 (4): 353–359
- Karimi SH, Ungar IA (1989). Development of epidermal salt hairs in *Atriplex triangularis* Willd. in response to salinity, light intensity, and aeration. *Bot Gaz*, 150 (1): 68–71
- Kiani-Pouya A, Roessner U, Jayasinghe NS, et al (2017). Epidermal bladder cells confer salinity stress tolerance in the halophyte quinoa and *Atriplex* species. *Plant Cell Environ*, 40 (9): 1900–1915
- Kramer D (1979). Ultrastructural observations on developing leaf bladder cells of *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Flora*, 168 (1–2): 193–204
- Li B, Qiu J, Jayakannan M, et al (2017). *AtNPF2.5* modulates chloride (Cl⁻) efflux from roots of *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 7: 2013
- Li J, Pu L, Zhu M, et al (2012). The present situation and hot issues in the salt-affected soil research. *Acta Geogr Sin*, 67 (9): 1233–1245 (in Chinese with English abstract) [李建国, 濮励杰, 朱明等(2012). 土壤盐渍化研究现状及未来研究热点. *地理学报*, 67 (9): 1233–1245]
- Li P, Li Q, Huang YY, et al (2001). The advance of plant flavonoids of anti-UV-B radiation research. *Chin J Ecol*, 20 (6): 36–40 (in Chinese with English abstract) [李鹏, 李祺福, 黄胤怡等(2001). 抗UV-B辐射植物黄酮类化合物研究进展. *生态学杂志*, 20 (6): 36–40]
- Li YY, Xiao W, Li MF, et al (2010). Advances of GABA and GABA transporters research. *J Liaocheng Univ-Nat Sci*, 23 (3): 58–62 (in Chinese with English abstract) [李岩岩, 肖雯, 李妹芳等(2010). GABA转运蛋白研究进展. *聊城大学学报(自然科学版)*, 23 (3): 58–62]
- Ma YL, Wang L, Liu YX, et al (2015). Updates on stress tolerance of main accessory structures and their synergetic interaction in desert plants. *Plant Physiol J*, 51 (11): 1821–1836 (in Chinese with English abstract) [马亚丽, 王璐, 刘艳霞等(2015). 荒漠植物几种主要附属结构的抗逆功能及其协同调控的研究进展. *植物生理学报*, 51 (11): 1821–1836]
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651–681
- Oh DH, Barkla BJ, Vera-Estrella R, et al (2015). Cell type-specific responses to salinity – the epidermal bladder cell transcriptome of *Mesembryanthemum crystallinum*. *New Phytol*, 207 (3): 627–644
- Pan YQ, Guo H, Wang SM, et al (2016). The photosynthesis, Na⁺/K⁺ homeostasis and osmotic adjustment of *Atriplex canescens* in response to salinity. *Front Plant Sci*, 7: 848
- Roeurn S, Hoshino N, Soejima KT, et al (2016). Suppression subtractive hybridization library construction and identification of epidermal bladder cell related genes in the common ice plant, *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Prod Sci*, 19 (4): 552–561
- Roeurn S, Hoshino N, Soejima KT, et al (2017). MYB and HD-ZIP IV homologs related to trichome formation are involved in epidermal bladder cell development in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Prod Sci*, 20 (1): 72–82
- Shabala S, Bose J, Hedrich R (2014). Salt bladders: do they matter? *Trends Plant Sci*, 19 (11): 687–691
- Stuedle E, Lüttge U, Zimmermann U (1975). Water relations of the epidermal bladder cells of the halophytic species *Mesembryanthemum crystallinum*: direct measurements of hydrostatic pressure and hydraulic conductivity. *Planta Berl*, 126 (3): 229–246
- Stewart GR, Larher F (1980). Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: Mifflin BJ (ed). *Amino Acids and Derivatives*. Cambridge, Massachusetts, United States: Academic Press, 609–635
- Tsutsumi K, Yamada N, Cha-um S, et al (2015). Differential accumulation of glycinebetaine and choline monoxygenase in bladder hairs and lamina leaves of *Atriplex gmelini* under high salinity. *J Plant Physiol*, 176: 101–107
- Vogt T, Ibdah M, Schmidt J, et al (1999). Light-induced betacyanin and flavonol accumulation in bladder cells of *Mesembryanthemum crystallinum*. *Phytochemistry*, 52 (4): 583–592
- Wang C, Liu T, Wang B (2006). Advances in betalain research in higher plants. *Chin Bull Bot*, 23 (3): 302–311 (in Chinese with English abstract) [王长泉, 刘涛, 王宝山(2006). 植物甜菜素研究进展. *植物学通报*, 23 (3): 302–311]
- Wang J, Huang X, Zhong T, et al (2011). Review on sustainable utilization of salt-affected land. *Acta Geogr Sin*, 66 (5): 673–684 (in Chinese with English abstract) [王佳丽,

- 黄贤金, 钟太洋等(2011). 盐碱地可持续利用研究综述. 地理学报, 66 (5): 673–684]
- Wei JH, Song YR (2001). Recent advances in study of lignin biosynthesis and manipulation. *Acta Bot Sin*, 43 (8): 771–779 (in Chinese with English abstract) [魏建华, 宋艳茹(2001). 木质素生物合成途径及调控的研究进展. 植物学报, 43 (8): 771–779]
- Xue X, Zhang Q, Wu J (2013). Research of reactive oxygen species in plants and its application on stress tolerance. *Biotechnol Bull*, (10): 6–11 (in Chinese with English abstract) [薛鑫, 张芊, 吴金霞(2013). 植物体内活性氧的研究及其在植物抗逆方面的应用. 生物技术通报, (10): 6–11]
- Yang J, Xu X (2003). Progress of research on accumulation of osmotic substance under salt-stress in plants. *J Ningxia Agr Coll*, 24 (4): 86–91 (in Chinese with English abstract) [杨涓, 许兴(2003). 盐胁迫下植物有机渗透调节物质积累的研究进展. 宁夏农学院学报, 24 (4): 86–91]
- Yang MJ, Yang DK, Li FZ (2009). The response of salt bladder of *Atriplex centralasiatica* to NaCl stress. *Hubei Agr Sci*, 48 (4): 894–896 (in Chinese with English abstract) [杨美娟, 杨德奎, 李法曾(2009). 中亚滨藜盐囊泡对NaCl胁迫的响应. 湖北农业科学, 48 (4): 894–896]
- Yang MJ, Yang DK, Li FZ (2006). Morphological structure and development of salt bladder of *Atriplex centralasiatica*. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 26 (8): 1575–1578 (in Chinese with English abstract) [杨美娟, 杨德奎, 李法曾(2006). 中亚滨藜盐囊泡形态结构与发育研究. 西北植物学报, 26 (8): 1575–1578]
- Yuan F, Leng BY, Wang BS (2015). Research progress in salt secretion of salt glands in plants. *Plant Physiol J*, 51 (10): 1531–1537 (in Chinese with English abstract) [袁芳, 冷冰莹, 王宝山(2015). 植物盐腺泌盐研究进展. 植物生理学报, 51 (10): 1531–1537]
- Zhao CY, Li J, Zhang JL, et al (2012). HKT transporters and their involvement in plant salt tolerance. *Pratacult Sci*, 29 (10): 1604–1612 (in Chinese with English abstract) [赵常玉, 李剑, 张金林等(2012). HKT蛋白与植物耐盐性研究进展. 草业科学, 29 (10): 1604–1612]
- Zhao K, Li F (1999). *Halophytes in China*. Beijing: Science Press (in Chinese) [赵可夫, 李法曾(1999). 中国盐生植物. 北京: 科学出版社]
- Zou C, Chen A, Xiao L, et al (2017). A high-quality genome assembly of quinoa provides insights into the molecular basis of salt bladder-based salinity tolerance and the exceptional nutritional value. *Cell Res*, 27 (11): 1327–1340

The unique salt-secreting structures of halophytes: salt bladders

ZHANG Le, GUO Huan, BAO Ai-Ke*

State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems; Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China

Abstract: Salt bladders are one of the most distinctive salt-resistant features in higher plants, and about half of all halophytes has salt bladders on their surfaces. Salt bladders can increase salt tolerance of plants by sequestering excessive Na^+ away from metabolically active cells, and storing water for osmotic adjustment. In this review, we summarize the recent research progress about the function, salt secretion mechanism, development process and regulation mechanism of salt bladders to provide the reference for related research.

Key words: halophyte; salt bladder; salt tolerance; salt secretion mechanism

Received 2019-01-16 Accepted 2019-03-04

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFC0504804), the National Natural Science Foundation of China (31670405), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (lzujbky-2018-k01).

*Corresponding author (baoaik@lzu.edu.cn).