杨树耐盐性调控的离子平衡与活性氧平衡信号网络

赵瑞^{1,2}, 陈少良^{1,2*}

1. 北京林业大学林木分子设计育种高精尖创新中心, 北京 100083

2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083

* 联系人, E-mail: lschen@bjfu.edu.cn

收稿日期: 2019-06-11; 接受日期: 2019-11-22; 网络版发表日期: 2020-02-13

中央高校基本科研业务费专项(批准号: 2019ZY25)、国家自然科学基金(批准号: 31770643, 31570587)、北京市自然科学基金(批准号: 6172024, 6182030)、高等学校学科创新引智计划项目(批准号: B130007)资助

摘要 杨树分布地域广、速生, 是优良的绿化造林树种, 具有重要的生态和经济价值. 杨树也是木本植物中理想的模式植物, 被广泛应用于生长发育、环境适应性的生理学和分子机制研究. 我国土壤盐渍化、次生盐渍化问题突出, 严重影响了农林业生产. 胡杨的耐盐性高于其他种类的杨树. 盐胁迫下, 胡杨将 Na^+ 和 Cl^- 区隔化到根细胞液泡中, 限制 NaCl 向木质部导管的装载. 同时, 胡杨根细胞还通过促进 Na^+ 的外排、减少 K^+ 流失, 维持离子平衡以降低盐害. 盐胁迫还使 Ca^{2+} , H_2O_2 , NO , eATP, H_2S 等参与了胡杨细胞的离子平衡与活性氧平衡调控. 本文综述了杨树耐盐的生理学与分子生物学的重要研究进展.

关键词 杨树, 盐胁迫, 离子平衡, 活性氧平衡, 信号转导

土壤盐渍化是一种非生物胁迫, 给农林业生产造成了巨大经济损失^[1,2]. 盐胁迫会对植物造成多方面的伤害. 盐分导致土壤水势降低, 限制植物根系从土壤中摄取水分和矿质营养, 从而阻碍植物生长发育. 植物长期遭受盐胁迫时, 会积累过量 Na^+ 和 Cl^- , 从而打破植物体内离子平衡状态, 并引起由活性氧(reactive oxygen species, ROS)暴发造成的次级毒害^[3,4]. Na^+ 能够和 K^+ 竞争性结合酶的活性中心, 从而抑制酶的活性. 面对盐胁迫, 植物会通过改变形态、调节生理过程来适应或缓解由盐胁迫带来的伤害. 植物可以通过渗透调节、叶片肉质化、限制盐分进入细胞, 将 Na^+ 排出细

胞外, 或者将 Na^+ 区隔化到液泡里等方式, 适应盐胁迫或提高耐盐能力.

在植物中, SOS信号通路(salt overly sensitive, SOS)是调控植物耐受盐胁迫的重要途径之一^[3]. SOS3/CBL4与 Ca^{2+} 结合, 激活丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶SOS2/CIPK24, 具有活性的SOS2/CIPK24直接磷酸化位于细胞膜上的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白SOS1/NHX7, 受到激活的SOS1/NHX7把细胞内 Na^+ 转运至胞外, 使植物细胞保持离子平衡^[5-8]. SOS信号通路受到了精确的调控, PKS通过磷酸化SCaBPs C端的丝氨酸, 从而增强它们之间的相互作用^[9,10]. 而14-3-3蛋白 λ 和 κ , 与SOS2/

引用格式: 赵瑞, 陈少良. 杨树耐盐性调控的离子平衡与活性氧平衡信号网络. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 167–175
Zhao R, Chen S L. The salt-stress signaling network involved in the regulation of ionic and ROS homeostasis in poplar (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 167–175, doi: 10.1360/SSV-2019-0187

CIPK24的结合域互作, 抑制了SOS2/CIPK24的活性^[11].

杨树是重要造林树种, 是研究木本植物耐盐分子和生理机制的模式植物^[12]. 当遭受盐胁迫时, 杨树可以将盐离子区隔化到根系表皮细胞的液泡中, 限制盐离子向地上部分运输. 杨树具有 Na^+ 外排能力, 还能够减少 K^+ 的流失, 保持 K^+/Na^+ 平衡. 盐胁迫下, 杨树能够清除活性氧, 维持体内活性氧平衡, 减少由盐胁迫引发的次级伤害^[12,13]. 树木逆境生物学是森林生物学领域的研究前沿之一. 本文结合本实验室的研究背景与成果, 阐述了树木耐盐的分子与生理学机制.

1 杨树盐胁迫诱导的离子平衡调节机制

胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)分布于我国西北干旱盐碱地区, 是这些地区唯一能够形成森林的高大乔木, 具有很强的耐盐能力. 在长期盐胁迫下, 胡杨枝叶中 Na^+ 浓度明显低于不耐盐的杨树, 说明胡杨能够有效限制盐分的根冠运输^[14,15]. 另外, 胡杨根系中的盐离子浓度低于盐敏感的群众杨(*Populus popularis*), 表明胡杨具有限制过量盐分进入根系的能力^[16].

长期盐胁迫下, 胡杨根系的 K^+/Na^+ 比率高于盐敏感的群众杨^[15]. 使用非损伤微测技术(non-invasive micro-test technology, NMT)检测杨树根系离子流速发现, 在短期和长期盐胁迫下, 与群众杨相比, 胡杨具有较强的外排 Na^+ 的能力^[17]. 研究人员对胡杨进行长期盐胁迫处理, 然后分离出根系原生质体, 并利用NMT技术检测发现, 胡杨根细胞具有更强的 Na^+ 外排能力, 并同时增强了 H^+ 内流. 外源施加 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的抑制剂, 能够抑制根系和原生质体中, 由 NaCl 诱导的 Na^+/H^+ 逆向转运过程. 盐胁迫下, 胡杨对 Na^+ 的外排是经由细胞膜上高活性 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白实现的, 这说明盐胁迫下, 胡杨具有很强的 Na^+/H^+ 转运活性^[17].

长期盐胁迫下, 外源施加 Ca^{2+} , 不仅能够增加胡杨和群众杨根系 Na^+ 的外流, 而且还能够增加胡杨和群众杨根系 H^+ 的内流, 降低两种杨树根尖区域 K^+ 的外流. 这说明胞外 Ca^{2+} 能够阻止去极化激活的外向 K^+ 通道(depolarization-activated outward rectifying K^+ channels, DA-KORCs)和非选择性阳离子通道(non-selective cation channels, NSCCs)的开放, 从而抑制盐胁迫诱导的 K^+ 外流, 并且限制 Na^+ 通过NSCCs进入植物细胞. 所以, Ca^{2+} 能够维持长期盐胁迫下杨树体内 K^+/Na^+ 离子平

衡^[18,19].

胡杨和群众杨的根尖不同区域, Na^+ 流速呈现不同特点. 在短期盐胁迫处理下, 胡杨根尖(0~3000 μm) Na^+ 外流比较明显, 而群众杨根尖 Na^+ (0~1000 μm)内流明显, 在1100~1800 μm 测定区域, 出现了明显的 Na^+ 外流^[17]. 在长期盐胁迫处理后, 胡杨根尖呈现持续稳定的 Na^+ 外流, 而群众杨根尖表现出 Na^+ 内流. 在细胞水平上, 长期盐胁迫处理下, 胡杨根系原生质体 Na^+ 的外流和 H^+ 的内流增强, 而群众杨根系原生质体 Na^+ 的外流和 H^+ 的内流没有明显变化^[17]. 应激盐胁迫处理, 会迅速增加胡杨和群众杨根系原生质体 H^+ 的外流, 然后逐渐转变为持续的内流, 并且胡杨根系原生质体 H^+ 内流高于群众杨. 胡杨根系及其细胞外排 Na^+ 的能力来源于质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的活性. 在盐胁迫下, 质膜 H^+-ATPase 向细胞外泵出 H^+ , 以维持跨膜的质子电化学势梯度, 有利于 Na^+/H^+ 逆向转运. 胡杨在长期盐胁迫下, 能够保持质膜 H^+-ATPase 的活性, 从而具有较强的 Na^+/H^+ 逆向转运能力(图1)^[17]. 将胡杨编码的质膜 H^+-ATPase 基因异源表达在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, 能够提高拟南芥的耐盐性, 维持拟南芥细胞的离子平衡^[20]. 群众杨在长期盐胁迫下, Na^+ 外排能力较弱, 而且盐胁迫无法诱导群众杨根系和细胞 H^+ 流速发生明显变化, 说明群众杨的 Na^+/H^+ 逆向转运活性较低. 盐胁迫处理后, 群众杨质膜 H^+-ATPase 的活性降低, 因而无法促进 Na^+ 的外排^[17,21].

盐胁迫下, 植物可以通过组织肉质化降低盐害效应. 肉质化能够提高植物叶片对盐分的稀释能力, 使盐分维持在正常生理水平^[22]. 盐胁迫能够诱导胡杨叶片发生肉质化, 促进胡杨叶片增厚. 在胡杨肉质化的叶片中, 盐离子浓度也显著高于其他部位^[23]. 将胡杨木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶基因*PeXTH*在烟草(*Nicotiana tabacum*)中异源表达, 能够增加烟草叶片的肉质化程度, 提高叶片的保水力, 从而稀释叶片中盐离子浓度^[24].

2 杨树盐胁迫诱导的活性氧平衡调节机制

盐胁迫会诱导植物细胞产生ROS. 一方面ROS在盐胁迫植物中具有毒害作用, 另一方面ROS是重要的信号转导调节分子^[25,26]. ROS主要产生于叶绿体和过氧化物酶体中, 植物主要通过非酶催化途径和抗氧化

图 1 胡杨耐盐性调控的离子平衡与活性氧平衡信号网络(修改自参考文献[19,57])。盐胁迫下, 胡杨细胞产生eATP信号, 通过信号转导, 使 H_2O_2 水平升高, H_2O_2 激活质膜质膜 Ca^{2+} 通道增加细胞内 Ca^{2+} 浓度, H_2O_2 和 Ca^{2+} 激活质膜和液泡膜 Na^+/H^+ 逆向运输系统, 以及基因表达调控维持细胞内离子平衡。盐胁迫产生的 H_2O_2 , 迅速增强细胞抗氧化防御能力, 避免长期盐胁迫下由活性氧造成的质膜过氧化。胞外过量ATP诱发PCD, 而胡杨细胞提高Apyrase的活性, 使eATP在长期盐胁迫下维持在适度水平, 避免了PCD的发生。在盐胁迫下, 胡杨通过细胞信号转导, 能够维持离子平衡和活性氧平衡, 从而适应盐胁迫(网络版彩图)

Figure 1 The regulation network of ionic and ROS homeostasis in salt-stressed *P. euphratica* (revised from Ref. [19,57]). Salt-stressed *P. euphratica* cells produce eATP, the elevated eATP results in H_2O_2 accumulation. H_2O_2 activates plasma membrane Ca^{2+} channels, H_2O_2 and Ca^{2+} stimulate Na^+/H^+ antiporters located in plasma membrane and tonoplast. H_2O_2 enhances antioxidant defense system, avoid peroxidation of plasma membrane caused by ROS under long-term salt stress. Extracellular excessive ATP induces PCD. *P. euphratica* cells increases the activity of Apyrase, which maintain eATP at a moderate level under long-term salt stress and avoid PCD. As a result, *P. euphratica* maintain ion balance and ROS homeostasis through signal transduction, so as to adapt to salt stress (color online)

酶防御体系清除体内活性氧^[27~29]。在非酶催化途径中, 抗坏血酸、谷胱甘肽、生育酚、生物碱和类胡萝卜素可以清除活性氧^[30]。植物抗氧化酶防御体系包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸氧化酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)^[31]。过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)是一种活性氧分子, 能够对植物细胞产生氧化损伤, 并且破坏蛋白质、DNA和脂质结构^[31], 同时 H_2O_2 可以作为信号分子, 参与调控植物对盐胁迫的适应过程^[32]。

盐胁迫诱导产生的 H_2O_2 能够激活胡杨细胞 H^+ -ATPase的活性, 并且能够调节 K^+/Na^+ 平衡。盐胁迫能够诱导胡杨细胞迅速产生 H_2O_2 , 并且很快达到最高值, 随后逐渐下降。而群众杨响应盐胁迫的时间有所延迟, 虽然产生的 H_2O_2 也能达到最高值, 但是明显低于胡杨细胞中 H_2O_2 的最大值。盐胁迫下, 胡杨细胞能够迅速上调 H_2O_2 的水平, 但是群众杨没有这种快速的反应过程。在盐胁迫早期, 盐诱导的 H_2O_2 可以作为胁迫信号分子启动胡杨的防御反应^[33]。 H_2O_2 主要通过激活质膜 H^+ -ATPase来调节细胞的 K^+/Na^+ 离子平衡。当 H_2O_2 被

DPI(diphenyleneiodonium)和DMTU(dimethylthiourea)清除后, 胡杨细胞无法维持 K^+/Na^+ 离子平衡. 在胡杨细胞中, H_2O_2 能够激活质膜 Ca^{2+} 通道, 诱导 Ca^{2+} 的内流, 增加细胞质中 Ca^{2+} 浓度, 通过SOS信号转导途径激活质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白^[19]. H_2O_2 通过提高质子泵的活性, 限制了 K^+ 经由DA-KORCs和DA-NSCCs的流失. 所以, 盐胁迫早期产生的 H_2O_2 是调控胡杨细胞离子平衡重要的信号分子(图1). 而盐敏感的群众杨细胞, 在盐胁迫早期无法迅速产生 H_2O_2 , 所以不能及时调节细胞离子平衡^[19].

盐诱导胡杨细胞产生 H_2O_2 与质膜上的质子偶联转运体密切相关. 在质膜 $H^+-ATPase$ 所建立的质子电化学势梯度的驱动下, 质膜 Na^+/H^+ 逆向转运体被激活, 使 H^+ 迅速内流, 导致质外体瞬时碱化或细胞质瞬时酸化, 细胞膜NADPH氧化酶被激活, 催化 H_2O_2 的生成^[34], H_2O_2 激活质膜 Ca^{2+} 通道使 Ca^{2+} 内流, 细胞内 Ca^{2+} 通过SOS信号途径激活 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白. H_2O_2 通过 Ca^{2+} 依赖的信号激活质膜 $H^+-ATPase$, 产生跨膜的质子电化学势梯度, 驱动质膜 Na^+/H^+ 逆向转运, 降低盐胁迫下细胞的去极化程度, 限制了 K^+ 通过去极化激活的 K^+ 通道流失, 维持了胡杨细胞的 K^+/Na^+ 离子平衡(图1)^[19,35-37].

3 杨树盐胁迫信号转导的信号调节网络

当植物遭受盐胁迫伤害时, 会通过复杂的细胞信号转导过程来维持离子平衡和活性氧平衡. 盐胁迫会诱导植物产生多种信号分子来调节细胞的适应性, 比如 Ca^{2+} 、一氧化氮(nitric oxide, NO)、胞外ATP(extracellular ATP, eATP)^[38-43]. Ca^{2+} 是重要的第二信使, 盐胁迫下, 细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 激活SOS信号通路, SOS途径是植物中保守的盐胁迫信号转导途径^[44-46]. NO能够调节植物细胞的离子平衡和活性氧平衡^[39,47,48]. 盐胁迫下, NO能够提高 $H^+-ATPase$ 的表达水平, 增强植物抗氧化酶的活性和 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的活性^[49,50]. 盐胁迫下, 胡杨细胞能够迅速提高NO的水平, 而群众杨不能迅速产生NO^[33]. 盐胁迫下, 胡杨细胞通过一氧化氮合成酶来调控NO的合成, NO能够上调胡杨细胞质膜 $H^+-ATPase$ 的表达. 盐敏感的群众杨在盐胁迫下不能迅速提高NO水平, 因此质膜 $H^+-ATPase$ 、 Na^+/H^+ 逆向转运系统、抗氧化防御体系难以及时激活, 导

致群众杨细胞内活性氧的暴发和离子失衡^[33].

H_2S 能够调节胡杨和群众杨 K^+/Na^+ 离子平衡. 在NaCl胁迫下, 两种杨树都表现出 K^+ 外流, NaHS限制了根系中NaCl诱导的 K^+ 外流^[51]. 在胡杨中, NaCl诱导的 K^+ 外流能够被 K^+ 通道抑制剂TEA所抑制, 外源施加特异性的质膜 $H^+-ATPase$, 提高了 K^+ 的外流. 这说明NaCl诱导的 K^+ 流失是通过去极化激活的 K^+ 外向型通道造成的^[51]. NaHS能够促进 Na^+ 的外流以及对应的 H^+ 内流. H_2S 可能是通过提高质膜 Na^+/H^+ 逆向转运系统, 增加了 Na^+ 和 H^+ 的交换, 并且在质膜去极化条件下, 能够限制 K^+ 的流失^[51].

eATP调控植物的生长发育和对逆境胁迫的适应. eATP能够调节细胞膜电势、根毛与花粉管的生长、植物的向性运动^[40,41,42,52], 还能够快速提高细胞质 Ca^{2+} 浓度、ROS和NO的水平^[43,53-55]. 在NaCl处理下, 胡杨细胞外液ATP的水平明显升高, 然后逐渐恢复至对照水平, 并且维持稳定^[56]. 盐胁迫能够增加胡杨细胞的 H_2O_2 水平, 当阻断eATP信号后, 胡杨细胞内 H_2O_2 水平持续升高, 并且抗氧化酶活性受到抑制^[56]. 盐胁迫下, 胡杨细胞能够将 Na^+ 区隔化到液泡中, 当eATP信号被阻断后, 更多的 Na^+ 积累在细胞质, 而且增强了细胞的去极化程度, 促进了 K^+ 的外流, 说明盐胁迫诱导的eATP信号能够调控 Na^+ 和 K^+ 的跨膜运输^[56]. 盐胁迫下, 阻断细胞的eATP信号, 会增加 Ca^{2+} 的外流, 所以NaCl诱导产生的胞内 Ca^{2+} 浓度的增加依赖于eATP信号. 盐胁迫能够增加胡杨细胞eATP的水平, 当eATP信号被阻断后, 胡杨细胞的耐盐性明显降低, 表现出细胞质 Na^+ 的积累、液泡中 Na^+ 浓度降低、 K^+ 外流增加以及抗氧化酶活性下降, 这说明eATP对胡杨细胞的耐盐能力具有正向调控作用^[56]. 在长期盐胁迫下, 胡杨能够通过维持合适的eATP水平来调节对盐胁迫的适应能力. eATP信号被阻断后, 盐胁迫下的胡杨细胞增加了 H_2O_2 和细胞质的 Ca^{2+} 水平, 而 Ca^{2+} 和ROS参与了eATP调控的植物响应环境信号的过程(图1), 所以, eATP对胡杨细胞的离子平衡调控有可能是通过 H_2O_2 和 Ca^{2+} 信号转导来实现的^[56].

高浓度的eATP能够诱导胡杨细胞出现程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)的标志性特征, 比如细胞质收缩、染色质浓缩、DNA片段化和凋亡酶活性增强^[58,59]. eATP诱发胡杨细胞PCD的过程, 可能是由蛋白酶执行的. 在细胞的PCD过程中, 伴随着线粒体

Cyt C 的释放, eATP 能够诱导胡杨细胞的线粒体释放 Cyt C 与线粒体的超极化, 而线粒体的超极化是胡杨细胞进入 PCD 过程的必要条件^[57]. eATP 能够诱导胡杨细胞线粒体 H_2O_2 的暴发, 当 H_2O_2 的暴发被阻断后, PCD 的发生率也明显降低, 这说明线粒体 H_2O_2 能够调控胡杨细胞的 PCD 过程^[57]. 在 eATP 调控的胡杨细胞 PCD 过程中, 细胞质 Ca^{2+} 是诱导线粒体 H_2O_2 产生和线粒体超极化的上游信号, eATP 可以增加胞外 Ca^{2+} 的瞬时内流, 也能够促进液泡 Ca^{2+} 的释放, 这是细胞长时间维持细胞质高浓度 Ca^{2+} 的关键^[57].

除了上述盐胁迫信使, 盐胁迫响应的基因在杨树耐盐性信号网络中扮演重要角色. NaCl 胁迫下, 胡杨 *PeJ3* 的表达量升高, 而 *PePKS5* 的表达量下降. 将 *PeJ3* 在拟南芥中异源表达, 抑制了拟南芥 *AtPKS5* 的表达, 但是没有影响拟南芥 *AtJ3* 的转录水平^[60]. 盐胁迫下, 转化 *PeJ3* 的拟南芥与野生型拟南芥相比, 具有较高的生存率以及较长的主根, 转化 *PeJ3* 的拟南芥在根系中积累较低浓度的 Na^+ , 非损伤微测结果表明, 转化 *PeJ3* 的拟南芥具有较强的外排 Na^+ 能力以及保持 K^+ 的能力. 过表达 *PeJ3* 上调了质膜 H^+ -ATPase 的活性, 并且增强了 H_2O_2 的信号^[60].

盐胁迫能够诱导胡杨 *PeJRL* 基因的表达. 将 *PeJRL* 在拟南芥中过表达, 能够提高转基因拟南芥的耐盐能力^[61]. *PeJRL* 能够使拟南芥在盐胁迫下保持离子平衡, 原因在于 *PeJRL* 能够上调 *SOS1*, *AHA1* 和 *AHA2* 基因的表达. 盐胁迫下, *PeJRL* 能够通过限制超氧阴离子的产生、增强抗氧化酶的活性. 另外, *PeJRL* 能够抑制脱落酸 (abscisic acid, ABA) 的生物合成, 从而阻止由 ABA 激活的活性氧的产生, 使拟南芥保持活性氧平衡^[61].

将胡杨 *PeREM1.3* 转入模式植物烟草中, 提高了烟草的耐盐性. 过表达 *PeREM1.3* 的烟草, SOD, POD 和 CAT 活性显著提高, 从而降低活性氧水平, 而且与耐盐相关的基因 *SOS1*, *HAK*, *NHA1*, *VAG1* 和 *PMA4* 的转录水平也显著增高^[62]. 胡杨 *PeRIN4* 基因能够提高拟南芥的耐盐性. 过表达 *PeRIN4* 的株系, 质膜 H^+ -ATPase 的活性较高. 在盐胁迫下, 过表达 *PeRIN4* 株系外排 H^+ 和 Na^+ 离子的能力强于野生型拟南芥, 而 K^+ 的外流却弱于野生型. *PeRIN4* 可以增强 H^+ 泵的质子动力势, 抑制质膜的去极化提高转基因拟南芥的耐盐性^[63]. 将胡杨 *PeAPY1/2* 在拟南芥中过表达, 能够提高 Apyrase 的酶活, 下调 eATP 浓度及其诱发的活

性氧水平. 同时, 过表达株系还通过保持抗氧化酶活性来抑制 H_2O_2 的水平, 降低了活性氧对膜的过氧化, 保持膜的稳定性和细胞活力, 最终提高植物的耐盐性^[64].

4 展望

盐胁迫下, 植物通过 SOS 信号通路, 将细胞质中过量的 Na^+ 转运到质外体空间, 或者区隔化到液泡里, 并且在细胞质中积累 K^+ , 以保持离子平衡^[12,13,65]. Ca^{2+} , eATP, H_2O_2 , H_2S , NO 作为信号分子, 通过离子平衡调控和活性氧调控, 参与了杨树对盐胁迫的适应过程^[18,19,33,57]. 与大多数农作物不同, 杨树具有基因组庞大、遗传背景复杂的特点. 杨树在适应盐胁迫的过程中, 在形态特征、生理生化过程等方面, 有区别于农作物的特点. 例如, 胡杨的叶片在发育过程中具有多态性, 而且在盐胁迫下叶片会发生肉质化. 基于杨树耐盐信号的复杂性, 应该综合使用植物生理学、分子生物学、合成生物学等技术方法, 解析杨树耐盐的重要信号途径与组分.

随着高通量测序技术和生物技术的不断发展, 人们对杨树耐盐机制的解析, 已经覆盖了基因组、转录组、分子水平、细胞水平和整株水平. 盐胁迫下杨树如何保持水分平衡、离子平衡和活性氧平衡是研究的核心内容. 基因组和转录组结果证明了不同耐盐性杨树, 在基因表达调控方面的差异性. 系统进化学分析表明, 与盐胁迫信号转导和离子平衡调控相关的基因在进化过程中发生了数量增多、表达加强的现象. 而转录组数据证明, 耐盐杨树中与能量代谢、ROS 代谢相关的基因始终维持较高的表达量.

对于盐敏感的杨树, 可以使用分子设计育种和生物技术方法, 通过限制盐分在细胞中的积累、提高胞内必需矿质元素的含量来提高杨树的耐盐性. 通过引入一个基因或者对目标基因进行编辑, 可以提高杨树的抗盐能力. 杨树抗盐能力的形成是一个由多基因控制的复杂性状, 所以, 应该使用多基因共同转化或者调节信号通路中多个基因的表达及酶活来改善杨树的抗盐能力, 并且要对改造的杨树进行生态风险评估. 总之, 培育优良的耐盐杨树品种, 能够解决木材、生物质能源与粮食生产对于土地和资源利用之间的矛盾, 拓展它们在生态修复中的应用.

参考文献

- 1 Zhu J K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 66–71
- 2 Janz D, Polle A. Harnessing salt for woody biomass production. *Tree Physiol*, 2012, 32: 1–3
- 3 Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 247–273
- 4 Zhu J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6: 441–445
- 5 Qiu Q S, Guo Y, Dietrich M A, et al. Regulation of SOS1, a plasma membrane Na^+/H^+ exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8436–8441
- 6 Quan R, Lin H, Mendoza I, et al. SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress. *Plant Cell*, 2007, 19: 1415–1431
- 7 Zhu J, Fu X, Koo Y D, et al. An enhancer mutant of *Arabidopsis* salt overly sensitive 3 mediates both ion homeostasis and the oxidative stress response. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 5214–5224
- 8 Yang Q, Chen Z Z, Zhou X F, et al. Overexpression of *SOS* (salt overly sensitive) genes increases salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2009, 2: 22–31
- 9 Du W, Lin H, Chen S, et al. Phosphorylation of SOS3-like calcium-binding proteins by their interacting SOS2-like protein kinases is a common regulatory mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2011, 156: 2235–2243
- 10 Lin H, Du W, Yang Y, et al. A calcium-independent activation of the *Arabidopsis* SOS2-like protein kinase24 by its interacting SOS3-like calcium binding protein1. *Plant Physiol*, 2014, 164: 2197–2206
- 11 Zhou H, Lin H, Chen S, et al. Inhibition of the *Arabidopsis* salt overly sensitive pathway by 14-3-3 proteins. *Plant Cell*, 2014, 26: 1166–1182
- 12 Chen S, Polle A. Salinity tolerance of *Populus*. *Plant Biol*, 2010, 12: 317–333
- 13 Polle A, Chen S. On the salty side of life: Molecular, physiological and anatomical adaptation and acclimation of trees to extreme habitats. *Plant Cell Environ*, 2015, 38: 1794–1816
- 14 Chen S, Li J, Wang S, et al. Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl. *Trees*, 2001, 15: 186–194
- 15 Chen S, Li J, Fritz E, et al. Sodium and chloride distribution in roots and transport in three poplar genotypes under increasing NaCl stress. *For Ecol Manag*, 2002, 168: 217–230
- 16 Chen S, Li J, Wang T, et al. Osmotic stress and ion-specific effects on xylem abscisic acid and the relevance to salinity tolerance in poplar. *J Plant Growth Regul*, 2002, 21: 224–233
- 17 Sun J, Chen S, Dai S, et al. NaCl-induced alternations of cellular and tissue ion fluxes in roots of salt-resistant and salt-sensitive poplar species. *Plant Physiol*, 2009, 149: 1141–1153
- 18 Sun J, Dai S, Wang R, et al. Calcium mediates root K^+/Na^+ homeostasis in poplar species differing in salt tolerance. *Tree Physiol*, 2009, 29: 1175–1186
- 19 Sun J, Wang M J, Ding M Q, et al. H_2O_2 and cytosolic Ca^{2+} signals triggered by the PM H^+ -coupled transport system mediate K^+/Na^+ homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. *Plant Cell Environ*, 2010, 33: 943–958
- 20 Wang M, Wang Y, Sun J, et al. Overexpression of *PeHA1* enhances hydrogen peroxide signaling in salt-stressed *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem*, 2013, 71: 37–48
- 21 Sun J, Chen S L, Dai S X, et al. Ion flux profiles and plant ion homeostasis control under salt stress. *Plant Signal Behav*, 2009, 4: 261–264
- 22 Hameed M, Ashraf M, Ahmad M S A, et al. Structural and function adaptations in plant for salinity tolerance. In: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad M, eds. *Plant Adaptation and Phytoremediation*. Dordrecht: Springer, 2010. 151–170
- 23 Ottow E A, Brinker M, Teichmann T, et al. *Populus euphratica* displays apoplastic sodium accumulation, osmotic adjustment by decreases in calcium and soluble carbohydrates, and develops leaf succulence under salt stress. *Plant Physiol*, 2005, 139: 1762–1772
- 24 Han Y, Wang W, Sun J, et al. *Populus euphratica* XTH overexpression enhances salinity tolerance by the development of leaf succulence in transgenic tobacco plants. *J Exp Bot*, 2013, 64: 4225–4238
- 25 Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 405–410
- 26 Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell*

- Environ*, 2010, 33: 453–467
- 27 Corpas F J, Barroso J B, del Río L A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 145–150
 - 28 Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol*, 2006, 141: 391–396
 - 29 Palma J M, Corpas F J, del Río L A. Proteome of plant peroxisomes: New perspectives on the role of these organelles in cell biology. *Proteomics*, 2009, 9: 2301–2312
 - 30 Creissen G, Firmin J, Fryer M, et al. Elevated glutathione biosynthetic capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress. *Plant Cell*, 1999, 11: 1277–1291
 - 31 Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 373–399
 - 32 Rentel M C, Knight M R. Oxidative stress-induced calcium signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, 135: 1471–1479
 - 33 Sun J, Li L, Liu M, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide mediate K^+/Na^+ homeostasis and antioxidant defense in NaCl-stressed callus cells of two contrasting poplars. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2010, 103: 205–215
 - 34 Chung J S, Zhu J K, Bressan R A, et al. Reactive oxygen species mediate Na^+ -induced SOS1 mRNA stability in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2008, 53: 554–565
 - 35 Simon-plas F, Rusterucci C, Milat M L, et al. Active oxygen species production in tobacco cells elicited by cryptogein. *Plant Cell Environ*, 1997, 20: 1573–1579
 - 36 Nürnberger T, Scheel D. Signal transmission in the plant immune response. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 372–379
 - 37 Zhao J, Davis L C, Verpoorte R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotech Adv*, 2005, 23: 283–333
 - 38 Dodd A N, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 593–620
 - 39 Qiao W, Fan L M. Nitric oxide signaling in plant responses to abiotic stresses. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50: 1238–1246
 - 40 Lew R R, Dearnaley J D W. Extracellular nucleotide effects on the electrical properties of growing *Arabidopsis thaliana* root hairs. *Plant Sci*, 2000, 153: 1–6
 - 41 Kim S Y, Sivaguru M, Stacey G. Extracellular ATP in plants. Visualization, localization, and analysis of physiological significance in growth and signaling. *Plant Physiol*, 2006, 142: 984–992
 - 42 Reichler S A, Torres J, Rivera A L, et al. Intersection of two signalling pathways: Extracellular nucleotides regulate pollen germination and pollen tube growth via nitric oxide. *J Exp Bot*, 2009, 60: 2129–2138
 - 43 Tanaka K, Swanson S J, Gilroy S, et al. Extracellular nucleotides elicit cytosolic free calcium oscillations in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2010, 154: 705–719
 - 44 Halfter U, Ishitani M, Zhu J K. The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 3735–3740
 - 45 Guo Y, Halfter U, Ishitani M, et al. Molecular characterization of functional domains in the protein kinase SOS2 that is required for plant salt tolerance. *Plant Cell*, 2001, 13: 1383–1400
 - 46 Lin H, Yang Y, Quan R, et al. Phosphorylation of SOS3-LIKE CALCIUM BINDING PROTEIN8 by SOS2 protein kinase stabilizes their protein complex and regulates salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 1607–1619
 - 47 Zhang F, Wang Y, Yang Y, et al. Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. *Plant Cell Environ*, 2010, 30: 775–785
 - 48 Chen J, Xiao Q, Wu F, et al. 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*, 2010, 30: 1570–1585
 - 49 Zhao L, Zhang F, Guo J, et al. Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiol*, 2004, 134: 849–857
 - 50 Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 144: 206–217
 - 51 Zhao N, Zhu H, Zhang H, et al. Hydrogen sulfide mediates K^+ and Na^+ homeostasis in the roots of salt-resistant and salt-sensitive poplar species subjected to NaCl stress. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1366
 - 52 Tang W, Brady S R, Sun Y, et al. Extracellular ATP inhibits root gravitropism at concentrations that inhibit polar auxin transport. *Plant Physiol*,

- 2003, 131: 147–154
- 53 Demidchik V, Nichols C, Oliynyk M, et al. Is ATP a signaling agent in plants? *Plant Physiol*, 2003, 133: 456–461
- 54 Song C J, Steinebrunner I, Wang X, et al. Extracellular ATP induces the accumulation of superoxide via NADPH oxidases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2006, 140: 1222–1232
- 55 Foresi N P, Laxalt A M, Tonón C V, et al. Extracellular ATP induces nitric oxide production in tomato cell suspensions. *Plant Physiol*, 2007, 145: 589–592
- 56 Sun J, Zhang X, Deng S, et al. Extracellular ATP signaling is mediated by H₂O₂ and cytosolic Ca²⁺ in the salt response of *Populus euphratica* cells. *PLoS ONE*, 2012, 7: e53136
- 57 Sun J, Zhang C L, Deng S R, et al. An ATP signalling pathway in plant cells: Extracellular ATP triggers programmed cell death in *Populus euphratica*. *Plant Cell Environ*, 2012, 35: 893–916
- 58 Noguchi T, Ishii K, Fukutomi H, et al. Requirement of reactive oxygen species-dependent activation of ASK1-p38 MAPK pathway for extracellular ATP-induced apoptosis in macrophage. *J Biol Chem*, 2008, 283: 7657–7665
- 59 Vianello A, Zancani M, Peresson C, et al. Plant mitochondrial pathway leading to programmed cell death. *Physiol Plant*, 2010, 129: 242–252
- 60 Zhang Y, Wang Y, Sa G, et al. *Populus euphratica* J3 mediates root K⁺/Na⁺ homeostasis by activating plasma membrane H⁺-ATPase in transgenic *Arabidopsis* under NaCl salinity. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2017, 131: 75–88
- 61 Zhang H, Deng C, Yao J, et al. *Populus euphratica* JRL mediates ABA response, ionic and ROS homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 815
- 62 Zhang H L, Wu X, Yao J, et al. Overexpression mechanism of *PeREM1.3* from *Populus euphratica* enhancing salt tolerance in transgenic tobacco (in Chinese). *J Beijing Forest Univ*, 2019, 41: 1–9 [张会龙, 武霞, 尧俊, 等. 胡杨*PeREM1.3*过表达提高烟草耐盐性的机制. 北京林业大学学报, 2019, 41: 1–9]
- 63 Zhang Y N, Wang Y, Zhang H L, et al. Over-expression of *PeRIN4* enhanced salinity tolerance through up-regulation of PM H⁺-ATPase in *Arabidopsis thaliana* (in Chinese). *J Beijing Forest Univ*, 2017, 39: 1–8 [张一南, 王洋, 张会龙, 等. 过表达胡杨*PeRIN4*基因拟南芥提高质膜H⁺-ATPase活性和耐盐性. 北京林业大学学报, 2017, 39: 1–8]
- 64 Deng J Y, Zhang Y L, Zhang Y N, et al. *PeAPY1* and *PeAPY2* of *Populus euphratica* regulating salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* (in Chinese). *J Beijing Forest Univ*, 2017, 39: 13–21 [邓佳音, 张艳丽, 张一南, 等. 胡杨*PeAPY1*和*PeAPY2*调控拟南芥耐盐机制研究. 北京林业大学学报, 2017, 39: 13–21]
- 65 Chen S, Hawighorst P, Sun J, et al. Salt tolerance in *Populus*: Significance of stress signaling networks, mycorrhization, and soil amendments for cellular and whole-plant nutrition. *Environ Exp Bot*, 2014, 107: 113–124

The salt-stress signaling network involved in the regulation of ionic and ROS homeostasis in poplar

ZHAO Rui^{1,2} & CHEN ShaoLiang^{1,2}

1 Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2 College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

The fast-growing *Populus* spp. distributes in different climatic zones, and is widely used for tree plantations and afforestation. Besides its economic and ecological relevance, *Populus* also serves as a model species for elucidating physiological and molecular mechanisms underlying plant growth, development, and environmental adaptability. Salt-affected soil and secondly salinization is causing increasing agricultural and environmental problems in China. *Populus euphratica* exhibits a higher capacity than other poplars to tolerate salt stress. *P. euphratica* compartmentalize salt ions, Na^+ and Cl^- , in root vacuoles, thus diminishing NaCl loading into the xylem. *P. euphratica* roots promote Na^+ extrusion into apoplastic space, and simultaneously reduce K^+ loss under saline conditions. This enables salinized plants to maintain K^+/Na^+ homeostasis under salinity. Salt signals, such as Ca^{2+} , H_2O_2 , NO, H_2S , and eATP are involved in the regulation of ionic and reactive oxygen species (ROS) homeostasis. This review introduces the important advances in physiological and molecular mechanisms in poplar adaptation to salt stress.

poplar, salt stress, ion homeostasis, ROS homeostasis, signal transduction

doi: [10.1360/SSV-2019-0187](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0187)