

盐生植物盐碱胁迫应答转录组学分析

霍达¹ 张恒² 戴绍军^{1,2*}

(¹ 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 黑龙江哈尔滨 150025; ² 东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心)

摘要 土壤盐碱化严重影响植物的生长和分布, 植物盐碱胁迫应答分子机制的研究已经成为热点。整合分析了盐芥、星星草、獐茅、盐地碱蓬、紫羊茅、海蓬子、刚毛柽柳等 7 种盐生植物盐碱胁迫应答转录组学的研究结果, 为全面理解盐生植物应答盐碱胁迫的代谢调控机制提供线索。

关键词 盐生植物; 盐碱胁迫; 转录组学; 分析

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 1007-5739(2011)05-0011-02

Salt and Alkali-responsive Transcriptomics in Halophyte

HUO Da¹ ZHANG Heng² DAI Shao-jun^{1,2*}

(¹ College of Life Sciences and Biotechnology, Harbin Normal University, Harbin Heilongjiang 150025; ² Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University)

Abstract Soil salinization restricts plant development and distribution severely. Researches in salinity-tolerant molecular mechanisms in plant have been hot spots. This paper gives an overview of salt and alkali-responsive transcriptomic researches in seven species of halophytes, including *Thellungiella halophila*, *Puccinellia tenuiflora*, *Aeluropus litoralis*, *Suaeda salsa*, *Festuca rubra ssp. Litoralis*, *Salicornia brachiata* and *Tamarix hispida* which provides a fundamental understanding about halophyte salt and alkali-regulation mechanisms.

Key words halophyte; salt and alkali-stress; transcriptomics; analysis

随着世界盐碱化土壤面积的不断增长^[1-2], 盐碱胁迫已经成为制约农业生产的重要非生物因素之一, 因此深入研究植物耐盐机制并提高作物耐盐能力已经成为众多研究者关注的热点^[3]。

转录组学研究策略作为一种高通量的研究方法, 能够从整体上分析植物在盐胁迫应答过程中所有 mRNA 的变化情况^[4], 随着这项技术的不断发展完善, 人们已经利用 CAP-trapper 和 CreatorTM SMARTTM 试剂盒法分析了盐芥(*Thellungiella halophila*)^[5-8]、星星草(*Puccinellia tenuiflora*)^[9-10]、獐茅(*Aeluropus litoralis*)^[11]、盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)^[12]、紫羊茅(*Festuca rubra ssp. Litoralis*)^[13]、海蓬子(*Salicornia brachiata*)^[14]、刚毛柽柳(*Tamarix hispida*)^[15]等盐生植物应对盐碱胁迫的转录组变化特征, 建立了盐碱胁迫相关 cDNA 文库和 EST 数据库, 并利用反向 Northern 杂交分析技术^[10,14]、5'cDNA 末端快速扩增(RACE)技术^[14]、反转录 PCR^[7,13]、实时定量反转录 PCR^[15]等辅助技术对转录组学所得到的盐碱胁迫相关基因进行了功能分析, 这些研究为植物耐盐基因的筛选提供了丰富信息。

本文通过整合分析上述盐生植物在应对各种处理强度盐碱胁迫时转录组表达模式的变化特征, 揭示盐生植物中参与膜和转运、胁迫防御、转录、蛋白质代谢(翻译、转运和降解)和基础代谢等过程转录本的表达特征, 为全面理解盐生植物应答盐碱胁迫的代谢调控机制提供线索。

1 膜和转运相关基因调节离子平衡

Na⁺过量摄入会导致植物体内离子失衡, 从而破坏细胞膜结构、降低胞质酶活性、阻碍光合作用和代谢过程。植物对 Na⁺的调节主要是利用质膜型/液泡型 H⁺-ATP 酶提供的

质子驱动力, 通过质膜/液泡膜 Na⁺/H⁺反向转运蛋白将 Na⁺排出细胞外或者区隔化到液泡中来完成的^[16-18]。转录组学研究为这些机制提供了证据。

盐碱胁迫处理的紫羊茅根中和刚毛柽柳中液泡型 H⁺-ATP 酶基因都上调表达^[13,15], 并且盐芥胁迫应答过程中也鉴定到了上调表达的液泡膜内在同源蛋白基因和膜转运相关蛋白家族基因^[8]。而在紫羊茅中 NH_x-转运子基因的表达在根中表现为上调^[13], 表明紫羊茅可能通过增强根中的离子区隔化作用来减少叶片中 Na⁺的摄入量, 提高对于盐胁迫的耐受能力。

此外, 多种维持细胞膜稳定和渗透平衡的基因在胁迫应答过程中也发生了变化。这主要包括: ①非特异性脂质转移蛋白基因(*LTP*)。LTP 编码的非特异性脂质转移蛋白能够促进脂质转移^[15], 盐碱胁迫条件下, 该基因的表达变化可能与维持膜质稳定和其他脂类运输有关。刚毛柽柳 LTP 基因在 NaHCO₃ 处理 24 h 时表达上调, 而在 52 h 时下调表达, 此外盐芥应答盐胁迫过程中 LTP 基因的表达也发生了变化^[15]。②水通道蛋白基因。水通道蛋白能够介导水的跨膜转运, 盐碱胁迫应答过程中獐茅、盐地碱蓬和紫羊茅水通道蛋白基因的表达变化表明盐生植物可能通过改变水分子的跨膜运输应答盐碱胁迫^[11-13]。

2 胁迫和防御相关基因

盐胁迫条件下, 植物可以通过改变胁迫防御相关基因的表达, 清除毒性物质, 提高对于胁迫的应答能力。胁迫相关基因主要包括: ①氧化还原相关基因。金属硫蛋白和硫氧还原蛋白能够清除盐碱胁迫过程中产生的活性氧类物质, Gao 等^[15]发现, Na₂CO₃ 处理 24 h 的刚毛柽柳中金属硫蛋白基因和硫氧还原蛋白基因均上调表达, 表明胁迫应答过程中盐生植物可以通过增强抗氧化类物质表达清除活性氧类物质(ROS)并维持氧化还原平衡。②KIN 基因。KIN 基因编码的冷诱导同源蛋白(KIN 蛋白)对于保护细胞组分具有重要意义, 在盐芥盐胁迫应答过程中 KIN 基因上调表达^[7]。③LEA 基因。

基金项目 黑龙江省普通高等学校青年学术骨干支持计划项目(No. 1152G015); 国家博士后科学基金面上项目(第 48 批, 教育部留学回国人员科研启动金项目)。

* 通讯作者

收稿日期 2011-02-10 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

LEA 基因编码的胚胎发育晚期丰富蛋白作为一种渗透保护剂,在种子成熟脱水前和营养组织中大量积累,可以保护细胞膜结构的完整性,维持植物细胞内渗透平衡。在胁迫处理盐芥^[7]和刚毛柃柳^[15]中 *LEA* 基因都表现为上调表达。

3 转录相关基因

盐碱胁迫条件下,植物可以通过改变转录相关基因的表达丰度调控蛋白质的合成过程。富含甘氨酸 RNA 结合蛋白 (GRP) 基因在刚毛柃柳受盐胁迫处理 24 h 时表达上调^[15],该基因编码的 GRP 蛋白具有 RNA 伴侣活性,对于维持 mRNA 结构稳定、增强特异胁迫应答蛋白质的合成具有重要意义;此外, C₂H₂ 型锌指蛋白基因作为一类重要的转录因子,在星星草^[10]、獐茅^[11]和海蓬子^[14]盐碱胁迫应答过程中都发生了变化,表明盐生植物可以通过上游转录因子表达量的变化来调控下游盐响应基因的表达。

4 蛋白质代谢相关基因

蛋白质是植物细胞功能的最终执行者,盐响应蛋白质的变化对于植物应答盐胁迫具有重要意义。对盐生植物盐胁迫应答转录组进行分析表明,刚毛柃柳^[15]、盐芥^[8]和星星草^[10]中热激蛋白 70 基因 (*HSP70*)、*DnaJ* 和半胱氨酸蛋白酶基因等基因应答盐胁迫时表达丰度发生变化,其中 *HSP70* 和 *DnaJ* 在盐胁迫处理的刚毛柃柳和盐芥上调表达有助于促进盐响应蛋白质的正确折叠,而半胱氨酸蛋白酶基因能够影响蛋白质降解过程。

5 代谢相关基因

盐胁迫条件下,植物通过调节多种物质代谢途径保持正常的代谢水平。盐生植物转录组学研究发现多种物质代谢相关基因在盐胁迫应答过程中发生变化。这些基因主要包括:①β-葡萄糖苷酶基因。β-葡萄糖苷酶参与纤维素糖化过程,能够水解芳香基或烃基与糖基原子团之间的糖苷键生成葡萄糖^[19-20]。盐胁迫条件下,盐芥中 β-葡萄糖苷酶基因上调表达使得植物中 β-葡萄糖苷酶丰度增加,促进了葡萄糖的生成,为糖和能量代谢提供了丰富的底物^[7]。②甘露醇转运子基因、甘露醇脱氢酶基因。盐胁迫条件下,盐芥中甘露醇转运子基因和甘露醇脱氢酶基因表达变化明显^[8],表明盐芥可能通过调节细胞中甘露醇代谢过程维持渗透平衡,从而增强盐胁迫抗性。

6 存在问题与展望

植物耐盐性受到多基因网络体系的调控,其多基因遗传和复杂的信号转导应答机制对培育真正的抗盐作物造成了一定的困难^[21-22]。与甜土植物相比,盐生植物进化出了更加丰富的盐胁迫特异响应机制。高通量的植物盐胁迫应答转录组学研究从整体上揭示了盐胁迫相关代谢和信号网络应答机制,发现盐生植物可以通过全面调节膜和物质转运、胁迫防御、基因表达与蛋白质代谢,以及多种物质代谢(糖和糖醇)过程,在盐胁迫条件下维持机体相对正常代谢水平,适应盐胁迫环境。然而,由于转录过程中存在可变剪切、蛋白质翻译后修饰、蛋白质相互作用、蛋白质亚细胞定位等调控机制^[23],转录组研究并不能全面揭示植物体内应对盐胁迫的分子机制,还需要利用蛋白质组学研究策略对盐生植物蛋白质水平变化进行深入研究。

7 参考文献

- [1] ASKARI H, EDQVIST J, HAJHEIDARI M, et al. Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (8): 2542-2554.
- [2] WANG W, VINOCUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance [J]. *Planta*, 2003, 218 (1): 1-14.
- [3] TADA Y, KASHIMURA T. Proteomic analysis of salt-responsive proteins in the mangrove plant, *Bruguiera gymnorhiza* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50 (3): 439-446.
- [4] MAHAN M J, SLAUCH J M, MEKALANOS J J. Selection of bacterial virulence genes that are specifically induced in host tissues [J]. *Science*, 1993, 259 (5095): 686-688.
- [5] WANG Z L, LI P H, FREDRICKSEN M, et al. Expressed sequence tags from *Thellungiella halophila*, a new model to study plant salt-tolerance [J]. *Plant Science*, 2004, 166 (3): 609-616.
- [6] WONG C E, LI Y, WHITTY B R, et al. Expressed sequence tags from the Yukon ecotype of *Thellungiella* reveal that gene expression in response to cold, drought and salinity shows little overlap [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 58 (4): 561-574.
- [7] WONG C E, LI Y, LABBE A, et al. Transcriptional profiling implicates novel interactions between abiotic stress and hormonal responses in *Thellungiella*, a close relative of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 140 (4): 1437-1450.
- [8] ZHANG Y Y, LAI J, SUN S, et al. Comparison analysis of transcripts from the halophyte *Thellungiella halophila* [J]. *Integr Plant Biol*, 2008, 50 (10): 1327-1335.
- [9] WANG Y, CHU Y, LIU G, et al. Identification of expressed sequence tags in an alkali grass (*Puccinellia tenuiflora*) cDNA library [J]. *Plant Physiol*, 2007, 164 (1): 78-89.
- [10] WANG Y, YANG C, LIU G, et al. Development of a cDNA microarray to identify gene expression of *Puccinellia tenuiflora* under saline-alkali stress [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45 (8): 567-576.
- [11] ZOUARI N, BEN SADD R, LEGAVRE T, et al. Identification and sequencing of ESTs from the halophyte grass *Aeluropus litoralis* [J]. *Gene*, 2007, 404 (1-2): 61-69.
- [12] ZHANG L, MA X L, ZHANG Q, et al. Expressed sequence tags from a NaCl-treated *Suaeda salsa* cDNA library [J]. *Gene*, 2001, 267 (2): 193-200.
- [13] DIEDHIOU C J, POPOVA O V, GOLLDACK D. Transcript profiling of the salt-tolerant *Festuca rubra* ssp. *litoralis* reveals a regulatory network controlling salt acclimatization [J]. *Plant Physiol*, 2009, 166 (7): 697-711.
- [14] JHA B, AGARWAL P K, REDDY P S, et al. Identification of salt induced genes from *Salicornia brachiata*, an extreme halophyte through expressed sequence tags analysis [J]. *Genes Genet Syst*, 2009, 84 (2): 111-120.
- [15] GAO C, WANG Y, LIU G, et al. Expression profiling of salinity-alkali stress responses by large-scale expressed sequence tag analysis in *Tamarix hispida* [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 66 (3): 245-258.
- [16] TESTER M, LEIGH R A. Partitioning of nutrient transport processes in roots [J]. *Exp Bot*, 2001, 52 (Spec Issue): 445-457.
- [17] ZHU J K. Salt and drought stress signal transduction in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2002 (53): 247-273.
- [18] QIU Q S, BARKLA B J, VERA E R, et al. Na⁺/H⁺ exchange activity in the plasma membrane of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132 (2): 1041-1052.
- [19] BEGUIN P, AUBERT J P. The biological degradation of cellulose [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1994, 13 (1): 25-58.
- [20] OU L T, THOMAS J E, JING W. Biological and chemical degradation of tetraethyl lead in soil [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1994, 52 (2): 238-245.
- [21] CUSHMAN J C, BOHNERT H J. Genomic approaches to plant stress tolerance [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000 (3): 117-124.
- [22] 林栖凤, 李冠一. 植物耐盐性研究进展 [J]. *生物工程进展*, 2000, 20 (2): 20-25.
- [23] CHEN S X, HARMON A C. Advances in plant proteomics [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (20): 5504-5516.