

# 外源 ATP 对盐胁迫下油菜幼苗生长的影响

赖 晶 李巧丽 张小花 梁娟红 张腾国\*

(西北师范大学生命科学院, 兰州 730070)

**摘 要** 研究了外源 ATP 处理对盐胁迫下油菜幼苗生长的影响,探讨了过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )和钙离子( $\text{Ca}^{2+}$ )作为信号分子在 ATP 对油菜幼苗耐盐性调控过程中的作用。结果表明:与单独 NaCl 处理相比,ATP+NaCl 处理降低了油菜幼苗死细胞数量、ROS( $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和  $\text{H}_2\text{O}_2$ )含量、离子( $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ )含量、MDA 含量及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比和相对电导率,增加了叶片中叶绿素、脯氨酸、可溶性糖含量和抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性,提高了抗氧化酶基因(CAT、SOD、APX、GR)、NADPH 氧化酶基因(RBOHD、RBOHF)、P5CS1 基因、MAPK 激酶基因(MAPK3、MAPK6)、耐盐基因(NHX1、SOS1)转录;与 ATP+NaCl 处理相比,ATP+NaCl+抑制剂(DPI、DMTU 和 EGTA)处理下油菜幼苗中相对电导率、MDA、叶绿素、脯氨酸、可溶性糖含量和抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性及上述基因表达量均呈不同程度降低,表明外源 ATP 可提高 NaCl 胁迫下油菜叶片细胞活性、ROS 含量、离子含量、叶绿素含量、渗透调节物质、抗氧化酶活性及相关基因的表达量,缓解膜质损伤。此外, $\text{H}_2\text{O}_2$ 和  $\text{Ca}^{2+}$ 信号分子也参与了 ATP 增强油菜幼苗耐盐性过程的调控。

**关键词** 油菜; 外源 ATP; 盐胁迫;  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $\text{Ca}^{2+}$

**Effects of exogenous ATP on the growth of *Brassica campestris* seedlings under salt stress.**  
LAI Jing, LI Qiao-li, ZHANG Xiao-hua, LIANG Juan-hong, ZHANG Teng-guo\* (College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China).

**Abstract:** We examined the effects of exogenous ATP treatment on the growth of *Brassica campestris* seedlings under salt stress, and clarified the roles of signal molecules, hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) and calcium ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) in the ATP regulation of salt tolerance. The results showed that, compared with the single NaCl treatment, ATP+NaCl treatment decreased the number of dead cells, ROS ( $\text{O}_2^{\cdot-}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) content, ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) content, MDA content,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio, and relative electrical conductivity. The chlorophyll, proline, soluble sugar content, antioxidant enzyme (SOD, POD, CAT, APX) activity, transcriptional regulation of antioxidant enzyme genes (CAT, SOD, APX, GR), NADPH oxidase genes (RBOHD, RBOHF), P5CS1 gene, MAPK kinase genes (MAPK3, MAPK6), and salt tolerance genes (NHX1, SOS1) were all elevated. Compared with ATP+NaCl treatment, the relative electrical conductivity, MDA, chlorophyll, proline, soluble sugar, the activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, CAT, APX), and the expression of the above genes were decreased when treated with ATP+NaCl+inhibitors (DPI, DMTU and EGTA). These results indicated that exogenous ATP application could increase cell activity, ROS content, ion content, chlorophyll content, osmotic regulator, antioxidant enzyme activity and related gene expression in *B. campestris* under salt stress. In addition, signal molecules of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{Ca}^{2+}$  were involved in the ATP regulation of enhancing salt tolerance in *B. campestris*.

**Key words:** *Brassica campestris*; exogenous ATP; salt stress;  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $\text{Ca}^{2+}$ .

当植物遭受盐胁迫时,会抑制植物的生长发育,影响植物的呼吸作用、光合作用以及生物量的合成。这种危害主要来源于植物体内活性氧(ROS)的产生以及盐离子导致的渗透胁迫。过量的 ROS 会破坏植物细胞膜的完整性,降低膜的渗透势和代谢酶活性等,严重时会引起植株死亡,但适量浓度的 ROS 可以作为信号分子和调节剂(Petrov *et al.*, 2015)。植物体内多余 ROS 的清除主要有酶清除系统和非酶清除系统。酶清除系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及过氧化氢酶(CAT)等,非酶系统主要包括抗坏血酸、谷胱甘肽和维生素等抗氧化物质,抗氧化酶活性和抗氧化物质含量的高低,可反映出植物的抗氧化能力(Gill *et al.*, 2010)。在遭受盐胁迫过程中植物主要依靠吸收和积累无机盐离子来调节细胞渗透势和离子浓度,防止细胞脱水。盐环境会导致细胞内  $\text{Na}^+$  大量增加,破坏了胞内的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  平衡,也影响  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  的分布。在植物抵御胁迫过程中,离子稳态的建立是一个重要的防御策略,细胞质维持正常的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  是植物生存所必须的(Yang *et al.*, 2018)。

$\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  被广泛认为是参与盐胁迫信号转导的信号分子。 $\text{Ca}^{2+}$  在植物抗逆中的主要作用是稳定细胞壁、细胞膜,维持细胞内外离子平衡,调控植物内部的生化反应,诱导抗逆基因表达,增强植物对不利环境的适应能力(龚伟等, 2011)。盐处理还产生瞬时钙信号,直接或间接激活盐敏感(SOS)途径,通过调节植物体内离子平衡来调控耐盐信号的转导过程。有研究表明,  $\text{Ca}^{2+}$  是通过钙调蛋白作用于 SOS 途径调节小麦  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  的吸收和外排(李青松等, 2009)。促分裂原活化蛋白(MAP)激酶级联途径在植物抗盐胁迫过程中同样发挥重要作用,该途径通过调节抗逆相关基因的表达、使下游的酶类、转录因子等磷酸化激活而实现信号的级联放大(Cargnello *et al.*, 2011)。如 MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 级联途径参与盐胁迫下拟南芥的信号反应过程(Xu *et al.*, 2008)。在抗逆境胁迫过程中,MAP 激酶信号转导途径、NADPH 氧化酶及  $\text{H}_2\text{O}_2$  产生之间的交互作用和调控关系。如 MEK21-NTF6 和 MEK2-SIPK/TF4 两条 MAP 级联途径调节激发子 INF1 诱导的烟草 RBOHB 依赖性氧爆发,并且这种调节机制主要是在转录水平激活 *RBOH* 基因的表达(Aziz *et al.*, 2004)。在拟南芥中, *AtRBOHD* 基因参与逆境胁迫诱导的 ROS 的产生,该过程可能受到

*MPK8* 的负调控(Takahashi *et al.*, 2011)。NADPH 氧化酶是植物逆境胁迫中  $\text{H}_2\text{O}_2$  产生的主要来源,同时  $\text{H}_2\text{O}_2$  又可以诱导 *Rboh* 基因的表达(张腾国等, 2019)。

三磷酸腺苷(ATP)是一种高能化合物,作为生物体中所必需的直接能源,参与细胞的物质代谢和能量代谢,还可以作为激酶、腺苷酸环化酶和 ATP 酶的底物,对植物的生长发育有着重要的影响(Choi *et al.*, 2014)。Song 等(2006)研究表明,在植物中,胞外 ATP 可能是参与  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的下游应激反应的重要信号分子,而  $\text{H}_2\text{O}_2$  主要来源于 NADPH 氧化酶。冯汉青等(2014)发现,外源 ATP 可以通过刺激 NADPH 的活性来减轻水杨酸(SA)诱导的烟草悬浮细胞损伤。Demidchik 等(2003)发现,外源 ATP 通过刺激 NADPH 氧化酶诱导  $\text{H}_2\text{O}_2$  产生,  $\text{H}_2\text{O}_2$  作为下游的重要信号分子,可以诱导 MAP 激酶基因的表达。Jeter 等(2004)研究表明,外源 ATP 在调节植物耐受性过程中,MAP 激酶家族很可能作为信号转导过程中的重要部分,通过调节功能蛋白的磷酸化而调控细胞内的生理反应。这些研究表明,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、NADPH 氧化酶、MAP 激酶级联途径均参与了 ATP 对植物生长发育的调节,但其具体调节机制还不清楚。 $\text{Ca}^{2+}$  在植物抗逆中发挥重要的作用,但  $\text{Ca}^{2+}$  是否参与 ATP 对植物抗逆性的调控需要进一步研究。

土壤盐渍化是目前世界面临的主要环境问题之一(刘自刚等, 2017)。我国北方地区降水量偏低,植被覆盖率低,土壤荒漠化和盐渍化程度严重。鉴于生态环境恶劣,在北方地区种植冬油菜不但可以增加冬季地表植被覆盖率,而且冬油菜成熟早,有利于发展复种、增加播种面积、提高经济效益(孙万仓等, 2010)。本研究选用“陇油 8 号”白菜型油菜为实验材料,以  $\text{NaCl}$ 、ATP+ $\text{NaCl}$  处理及用不同抑制剂 DPI、DMTU、EGTA 预处理再 ATP+ $\text{NaCl}$  处理油菜,探究  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{Ca}^{2+}$  对 ATP 增强油菜抗氧化能力及相关基因(*RbohD/F*、*MAPK3/6*、*NHX1* 和 *SOS1*)表达的影响,为研究油菜的抗盐性机制提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料处理

供试油菜(*Brassica campestris* L.)品种为‘陇油 8 号’,由甘肃农业大学提供。实验于 2018 年 6 月至 2019 年 5 月在西北师范大学生命科学学院进行。

选取颗粒饱满、大小均一的油菜种子,经消毒后

在(25±1)℃的培养箱中黑暗萌发 12 h,将已发芽的种子播种于装有混和营养土(营养土:蛭石:珍珠岩=3:1:1)的塑料小花盆中,置于 16 h/8 h(光照/黑暗)、150 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)的光照培养架培养至第 4 片真叶长出,选取长势良好的油菜幼苗,以第 3 片真叶作为实验材料。

实验材料处理:(1)NaCl 胁迫处理:将油菜幼苗的根浸泡在含 200 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 的 1/8 的 MS 营养液中处理 9 h;(2)ATP 处理:油菜幼苗叶片喷洒 50 mL 的 25 μmol·L<sup>-1</sup> 外源 ATP 溶液,处理时间为 9 h;(3)ATP+NaCl 处理:油菜幼苗根浸泡于 200 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 的 1/8 MS 营养液中,同时向叶片喷洒 50 mL 的 25 μmol·L<sup>-1</sup> ATP 溶液,处理时间为 9 h;(4)抑制剂+ATP+NaCl 处理:油菜幼苗根分别置于含有 NADPH 氧化酶抑制剂 DPI(10 μmol·L<sup>-1</sup>)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除剂 DMTU(40 μmol·L<sup>-1</sup>)及 Ca<sup>2+</sup>螯合剂 EGTA(5 mmol·L<sup>-1</sup>)的溶液中浸泡 12 h,然后用蒸馏水反复冲洗根部的抑制剂溶液,再 ATP+NaCl 复合处理 9 h。

1.2 油菜叶片中 ROS 及离子含量的测定方法

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 染色参照 DAB 染色方法(Gao *et al.*, 2013);O<sub>2</sub><sup>-</sup>染色参照 Scarpeci 等(2008)的方法;细胞活性测定采用 Evans blue 染色法,具体参照 Yamamoto 等(2001)的方法;Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>离子含量使用南京建成生物工程研究所试剂盒测定,采用紫外分光光度法。

1.3 生理指标的测定

叶绿素含量提取参照 Feng 等(2014)的方法;游离脯氨酸采用酸性茚三酮显色法,可溶性糖采用蒽酮法测定(Zhao *et al.*, 2009);相对电导率和 MDA 含量测定参照 Du 等(2011)的方法;POD、CAT、SOD、APX 活性的测定具体参照 Dhindsa 等(2005)的方法。以 U·mg<sup>-1</sup> protein 表示以上酶活性单位。

1.4 实时荧光定量 PCR

油菜幼苗总 RNA 的提取采用 TaKaRa MiniBEST Plant RNA Extraction Kit 试剂盒,以提取的总 RNA 为模板,参照反转录试剂盒 PrimeScript<sup>TM</sup> RTreagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time)(TaKaRa 公司)合成 cDNA。以反转的 cDNA 为模板,表 1 中 *Actin* 为管家基因引物,利用 Primer 5.0 和 Primer Express 3.0 软件设计基因特异性引物 *CAT*、*SOD*、*APX*、*GR*、*P5CS1*、*MAPK3*、*MAPK6*、*RBOHD*、*RBOHF*、*NHX1*、*SOS1*基因引物(表1),采用

表 1 实时荧光定量 PCR 引物  
Table 1 The primers of real-time PCR

基因 Gene	引物 Primer	序列 Sequence(5' to 3')
<i>RBOHF</i>	RBOHF-F	CCAACAGTTTCATCCCTA
	RBOHF-R	GTGGCTTTAGGTTTCTTC
<i>RBOHD</i>	RBOHD-F	CACTAGCTCGCCGTAATAACATCTC
	RBOHD-R	CCTCCATCTTCGCTCTTTGTCC
<i>MAPK3</i>	MAPK3-F	CACGGAGGACAGTTCATAAGCTAC
	MAPK3-R	TCCAACACAGAGCAAAACGATG
<i>MAPK6</i>	MAPK6-F	TCATACGCTCTAACCAAGGCTTATC
	MAPK6-R	AAGAGGAGGTTGCTCGGTTTC
<i>SOS1</i>	SOS1-F	AGACACCTATTGCGAGGCAC
	SOS1-R	AGAGACGTATGCCATCCCT
<i>NHX1</i>	NHX1-F	AGTGTGCGAACTGCCTTCGT
	NHX1-R	AAGGCGGTGATGGATTCGTT
<i>P5CS1</i>	P5CS1-F	GCTGAGCTATTCCTTCGCCA
	P5CS1-R	CCTGCCTGTGCTTATTCCCA
<i>SOD</i>	SOD-F	TCACTGACAGCCAGATTCCTC
	SOD-R	CCTGCGTTTCCAGTAGACAA
<i>CAT</i>	CAT-F	GCCGAACCCGAAAAACAAA
	CAT-R	GTCATCAAACATCCAGCACCA
<i>APX</i>	APX-F	CCCATTCGGAACAATGAGGT
	APX-R	ACAGCCACAACACCAGCAAG
<i>GR</i>	GR-F	CTTATGGTGGTGAACITGAGGATG
	GR-R	AAAATGTGCTTGCGCGTGT
<i>Actin</i>	Actin-F	TGTGCCAATCTACGAGGGTTT
	Actin-R	TTTCCCGCTCTGCTGTGTTG

定量试剂盒 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup>的操作步骤,在实时荧光定量 PCR 仪上进行 RT-PCR 反应,定量检测体系为 25 μL,具体体系为 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> 12.5 μL,上、下游引物各 1 μL,cDNA 模板 2 μL,ddH<sub>2</sub>O 8.5 μL。反应程序为:95℃预变性 30 s;95℃变性 5 s,60℃退火 20 s,40 次循环;55~95℃每 30 s 升高 0.5℃,81 个循环。每个处理 3 个平行,按照 2<sup>-ΔΔCt</sup>法分析基因的相对表达量。

1.5 数据分析

利用 Excel 2010 和 SPASS 17.0 软件进行数据处理、统计分析,数据均为平均值±标准差,采用单因素(one-way ANOVA)和 Duncan 法进行方差分析和多重比较(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)和细胞活性的影响

植物在正常条件下,细胞内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为信号分子参与植物生长调节,而受到胁迫时,过量的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



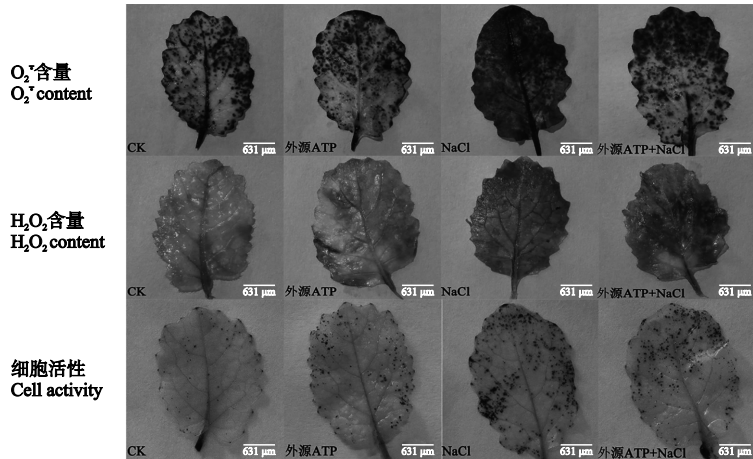


图 1 ATP 处理对盐胁迫下油菜叶片中  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和细胞活性的影响  
Fig.1 Effects of ATP on  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  and cell activity in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

会引起细胞的氧化损伤。由图 1 可知,与 CK 相比,单独 NaCl 处理后  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量达到最高;与单独 NaCl 处理相比,ATP+NaCl 处理下  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量明显减少。表明 ATP 处理减少了 NaCl 胁迫下油菜叶片中 ROS 的积累量,缓解了盐胁迫对油菜幼苗的氧化损伤。

用 Evans blue 染色法检测了不同处理下油菜叶片细胞膜的完整性。与 CK 相比,单独 NaCl 处理下,油菜幼苗叶片的细胞活性相对降低;与单独 NaCl 处理相比,ATP+NaCl 处理下油菜幼苗的细胞活性相对增加。表明 NaCl 和 ATP+NaCl 处理均会影响油菜幼苗叶片细胞的相对活性,且盐胁迫能够导致油菜幼苗活细胞的失活,而 ATP 处理能够显著缓解盐胁迫对活细胞造成的损伤。

2.2 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中离子含量的影响

植物受到盐胁迫会影响细胞膜的完整性和选择透过性,进而影响细胞内外离子的流动。从表 2 可看出,与 CK 相比,NaCl 处理下油菜叶片中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  含量及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  都呈不同程度地上升,分别上升为 CK 的 1.14、2.42、1.66 和 2.91 倍,而  $\text{K}^+$  含量显著降低;与单独 NaCl 胁迫相比,ATP+NaCl 处理下  $\text{Na}^+$  含量和  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  降低, $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量升高。上

述结果表明,盐胁迫导致油菜中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  含量积累,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  增高,由于离子选择性的影响,也会影响  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等必需元素的摄取,降低  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  含量;ATP 处理缓解了盐胁迫导致油菜中  $\text{Na}^+$  积累,升高了  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  含量,降低  $\text{Cl}^-$  含量及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ,从而维持油菜细胞内离子正常的摄取和运输。

2.3 ATP 对盐胁迫下油菜叶片膜损伤程度的影响

图 2 表明,单独 NaCl 处理下,油菜叶片中相对电导率和 MDA 含量分别提高到 CK 的 2.86 倍和 4.69 倍;ATP+NaCl 处理与单独 NaCl 胁迫相比,相对电导率、MDA 含量均有明显的降低,分别降低了约 56.53% 和 68.24%;与 ATP+NaCl 处理相比,DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理下油菜叶片相对电导率和 MDA 含量均明显升高,相对电导率分别上升了 47.35%、77.39% 和 95.41%,MDA 含量分别上升了 28.13%、21.58% 和 17.87%。表明盐胁迫使相对电导率和 MDA 含量均不同程度的升高,造成油菜幼苗细胞膜的损伤,而 ATP 处理显著缓解了盐胁迫对油菜幼苗的膜损伤,且该缓解过程受到 DPI、DMTU、EGTA 的抑制, $\text{Ca}^{2+}$  和依赖于 NADPH 氧化酶的  $\text{H}_2\text{O}_2$  均可能参与了 ATP 缓解盐胁迫过程的调控。

表 2 ATP 对盐胁迫下叶片中离子含量的影响  
Table 2 Effect of ATP on ion contents in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

处理 Treatment	$\text{Ca}^{2+}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	$\text{Na}^+$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	$\text{K}^+$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	$\text{Cl}^-$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	$\text{Na}^+/\text{K}^+$
CK	47.12±5.15 b	14.95±0.53 c	432.1±21.12 ab	18.36±1.16 c	0.035±0.003 c
ATP	68.92±6.21 a	15.41±0.84 c	469.4±6.47 a	18.89±1.16 c	0.033±0.002 c
NaCl	53.59±2.08 b	36.11±2.61 a	352.74±12.29 c	30.55±1.54 b	0.102±0.003 a
ATP+NaCl	55.7±2.99 ab	21.1±1.41 b	402.11±2.56 b	56.15±3.22 a	0.052±0.009 b

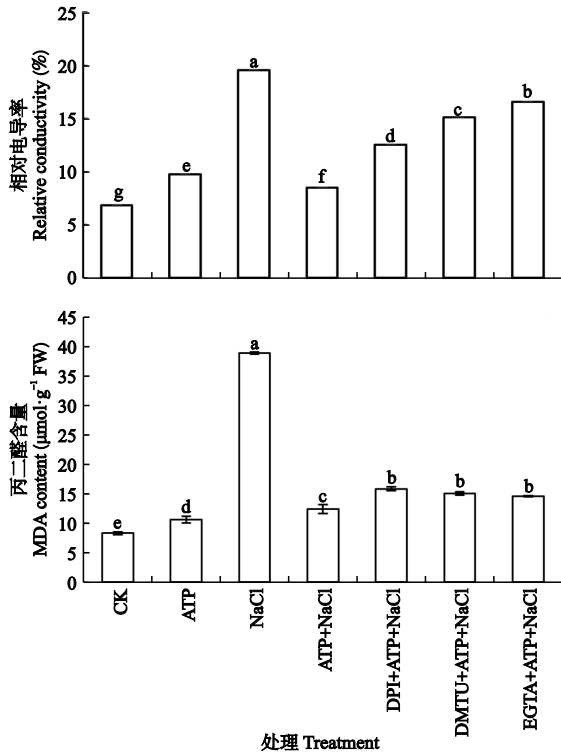


图 2 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中相对电导率和丙二醛含量的影响

Fig.2 Effects of ATP on relative electrical conductivity and MDA content in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

#### 2.4 ATP 对盐胁迫下油菜叶片叶绿素含量的影响

从图 3 可以看出,与 CK 相比,NaCl 处理下油菜叶片叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素 a+b 含量分别降低了 32.43%、48.98%、35.62%;与单独 NaCl 胁迫相比,ATP+NaCl 处理下油菜叶片叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素 a+b 含量均明显升高,分别升高到 1.26、

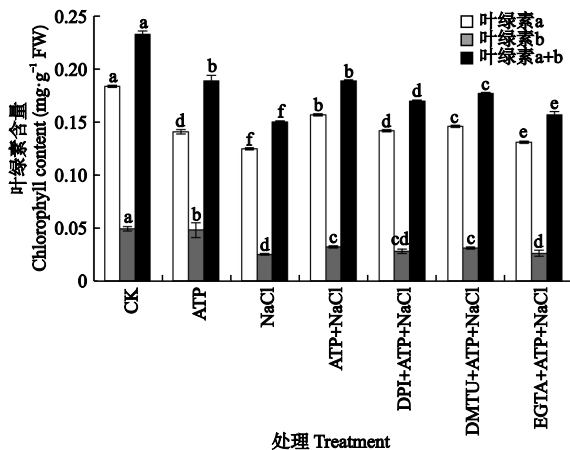


图 3 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中叶绿素含量的影响

Fig.3 Effects of ATP on chlorophyll content in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

1.28 和 1.26 倍;与 ATP+NaCl 处理相比,DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理下,油菜叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素 a+b 含量均降低,且差异达到显著水平,其中 DPI+ATP+NaCl 处理下油菜叶片叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素 a+b 含量分别下降了 9.55%、12.5% 和 10.05%,DMTU+ATP+NaCl 处理分别下降了 7.00%、3.13% 和 6.35%,EGTA+ATP+NaCl 处理分别下降了 16.56%、18.75% 和 16.93%。表明外源 ATP 可以增加盐胁迫下油菜叶片叶绿素含量积累,增强油菜幼苗的光合作用,且 DPI、DMTU、EGTA 可抑制外源 ATP 对油菜叶片叶绿素的影响。

#### 2.5 ATP 对盐胁迫下油菜叶片渗透调节物质的影响

图 4 表明,与 CK 相比,NaCl 胁迫下油菜叶片中脯氨酸含量和可溶性糖含量均有不同程度地升高,分别升高到 16.06 和 1.64 倍;与单独 NaCl 胁迫相比,ATP+NaCl 处理油菜叶片中脯氨酸和可溶性糖含量分别升高到 2.58 和 1.47 倍;与 ATP+NaCl 处理相比,DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理下,油菜叶片中脯氨酸和可溶性糖含量均降低,且差异显著。表明 ATP 可诱导盐胁迫下油菜叶片脯氨酸和可溶性糖的合成,且 DPI、DMTU、EGTA 可消除外源 ATP 诱导油菜叶片脯氨酸和可溶性糖合成的影响。

#### 2.6 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中抗氧化酶的影响

如图 5 所示,单独 NaCl 处理下油菜叶片的 4 种抗氧化酶活 SOD、POD、CAT、APX 活性均显著增加,分别达到 CK 的 1.6、2.04、2.15 和 1.54 倍;与单独 NaCl 处理相比,ATP+NaCl 处理下,SOD、POD、CAT、APX 4 种抗氧化酶活性分别升高到 1.12、1.17、1.26 和 2.16 倍,且差异显著,表明 ATP 处理显著增加油菜幼苗的抗氧化酶活性,清除盐胁迫下积累的 ROS,增强油菜耐盐性。为进一步研究胞外 ATP 对油菜幼苗的影响是否依赖于  $H_2O_2$  和  $Ca^{2+}$ 。通过 DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理后,油菜叶片中 SOD、POD、CAT、APX 四种抗氧化酶活性与 ATP+NaCl 处理相比明显降低,且 EGTA 预处理后抗氧化酶活性降低程度低于 DPI、DMTU 预处理程度,表明 DPI、DMTU、EGTA 均能抑制盐胁迫下 ATP 诱导油菜幼苗抗氧化酶活性的增加,且 EGTA 的抑制效果没有 DPI、DMTU 明显。表明 ATP 处理升高了油菜叶片的抗氧化酶活性,维持盐胁迫下 ROS 稳态,且依赖于 NADPH 氧化

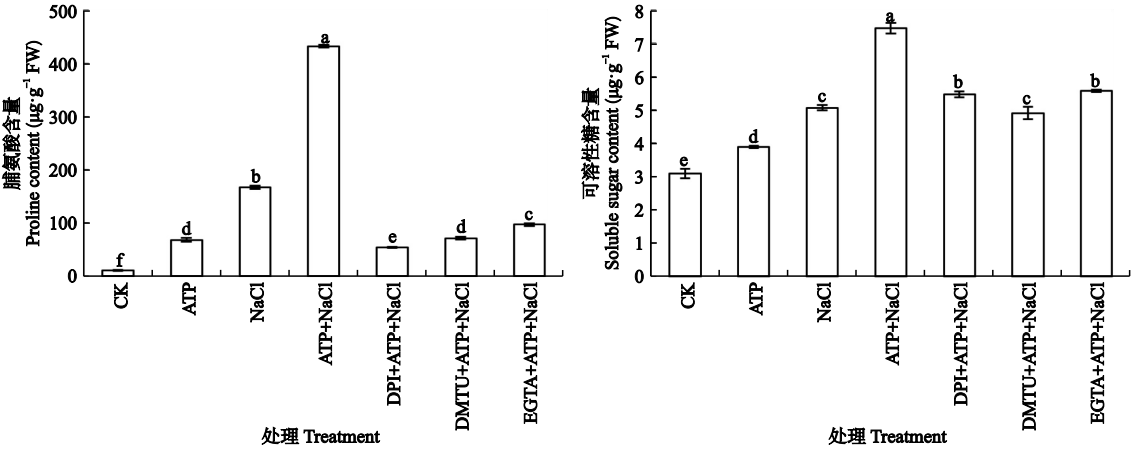


图 4 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中脯氨酸和可溶性糖含量的影响  
Fig.4 Effects of ATP on the content of proline and soluble sugar in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

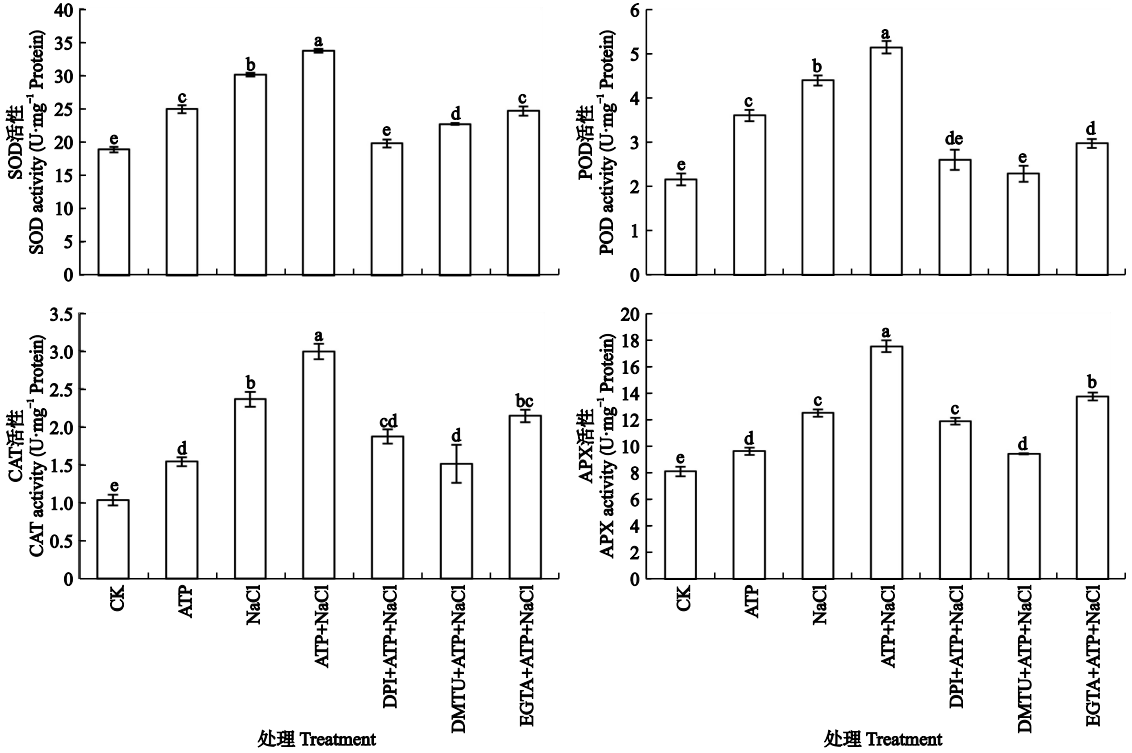


图 5 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中抗氧化酶活性的影响  
Fig.5 Effects of ATP on the activities of enzymes in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

酶的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 Ca<sup>2+</sup> 的清除剂和抑制剂可消除外源 ATP 对盐胁迫下油菜幼苗抗氧化酶活性的提高。  
2.7 外源 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中抗氧化酶基因表达的影响

图 6 表明,单独 NaCl 胁迫都提高了油菜叶片中 CAT、SOD、APX、GR 基因表达量,分别提高到 CK 的 1.77、1.71、2.22、3.78 倍;ATP+NaCl 处理油菜叶片 CAT、SOD、APX、GR 基因表达均比 NaCl 胁迫有明显上升,分别达到 NaCl 胁迫的 1.36、1.5、1.28 和 1.19

倍。DPI、DMTU、EGTA 预处理后,再进行 ATP 和盐胁迫处理下油菜叶片 CAT、SOD、APX、GR 基因表达量与 ATP+NaCl 处理相比均显著降低,表明油菜叶片 CAT、SOD、APX、GR 基因表达受到 ATP、NaCl 和 ATP+NaCl 处理的诱导,ATP 显著提高了 NaCl 胁迫下 CAT、SOD、APX、GR 基因转录水平,DPI、DMTU、EGTA 预处理后再 ATP+NaCl 处理,油菜叶片 CAT、SOD、APX、GR 基因表达量受到抑制,并且 CAT、SOD、APX 基因转录水平的变化趋势与上述 CAT、

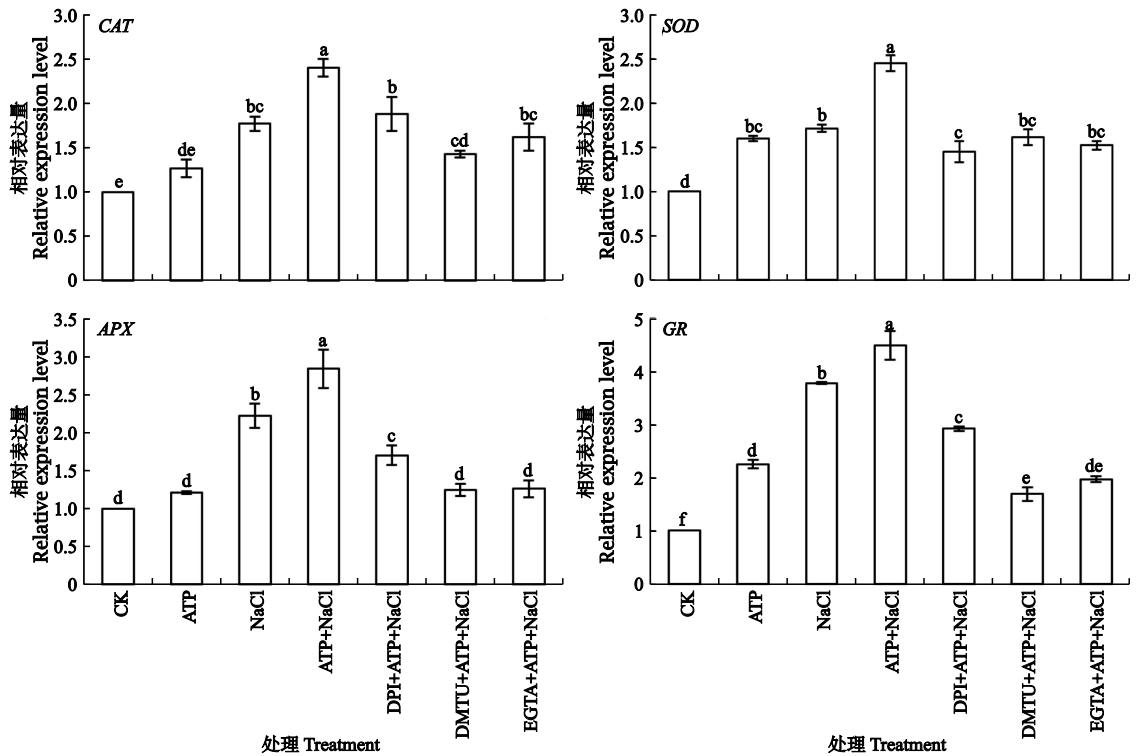


图 6 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中 *CAT*、*SOD*、*APX*、*GR* 基因表达的影响

Fig.6 Effects of ATP on the expression level of *CAT*, *SOD*, *APX*, *GR* in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

*SOD*、*APX* 酶活性水平变化趋势基本一致。

## 2.8 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中抗逆相关基因表达的影响

图 7 表明,植物在遭受逆境时触发一系列基因的表达,如 *MAPK3*、*MAPK6*、*RBOHD*、*RBOHF*、*NHX1*、*SOS1*,外源 ATP 显著增加了这些基因在盐胁迫下的诱导。与 CK 相比,NaCl 胁迫下油菜叶片 *MAPK3* 和 *MAPK6* 基因表达量均有不同程度地提高,分别提高到 3.47 和 2.13 倍;与单独 NaCl 相比,ATP+NaCl 处理下 *MAPK3* 和 *MAPK6* 基因表达量分别升高到 1.26 和 1.50 倍;与 ATP+NaCl 处理油菜叶片相比,DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理后 *MAPK3* 和 *MAPK6* 基因的转录水平均明显降低。表明 DPI、DMTU、EGTA 可抑制外源 ATP 对盐胁迫下油菜幼苗 *MAPK3* 和 *MAPK6* 基因的表达诱导。同样,外源 ATP 可以显著增加盐胁迫下 *RBOHD* 和 *RBOHF* 基因的表达,DPI、DMTU 和 EGTA 可以抑制盐胁迫下 ATP 对 *RBOHD* 和 *RBOHF* 基因表达的诱导。

植物在遭受盐胁迫时触发一系列耐盐基因(如 *NHX1* 和 *SOS1*)的表达。NaCl 胁迫下油菜叶片 *NHX1* 和 *SOS1* 基因的表达显著升高,分别升高到

CK 的 1.80 和 2.39 倍;ATP+NaCl 处理下 *NHX1* 和 *SOS1* 基因表达量与单独 NaCl 处理相比显著升高,分别升高到 1.39 和 1.71 倍;DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理下,油菜叶片 *NHX1* 和 *SOS1* 基因的表达量与 ATP+NaCl 处理相比均明显降低。表明油菜叶片 *NHX1* 和 *SOS1* 基因的表达受到 NaCl 胁迫的诱导,而外源 ATP 进一步提高了 NaCl 胁迫下油菜叶片中 *NHX1* 和 *SOS1* 基因的表达,且该过程受到 DPI、DMTU、EGTA 的抑制。

吡咯喹-5-羧酸合成酶(*P5CS*)是谷氨酸途径合成脯氨酸的关键酶。如图 7 所示,ATP 和 NaCl 胁迫处理都不同程度地诱导油菜叶片中 *P5CS1* 基因的表达,分别达到 CK 的 1.82 和 3.59 倍;ATP+NaCl 处理下,*P5CS1* 基因表达量与单独 NaCl 胁迫相比提高了 29.53%;与 ATP+NaCl 处理相比,DPI+ATP+NaCl、DMTU+ATP+NaCl、EGTA+ATP+NaCl 处理不同程度地抑制了油菜叶片 *P5CS1* 基因的表达,分别下降了 34.62%、23.44%和 48.82%。表明 *P5CS1* 基因的表达受到盐胁迫的诱导,且 ATP 预处理可以提高盐胁迫下 *P5CS1* 基因的表达。此外 *P5CS1* 基因的表达受到 DPI、DMTU、EGTA 抑制,与上述脯氨酸含量变化趋势基本一致。

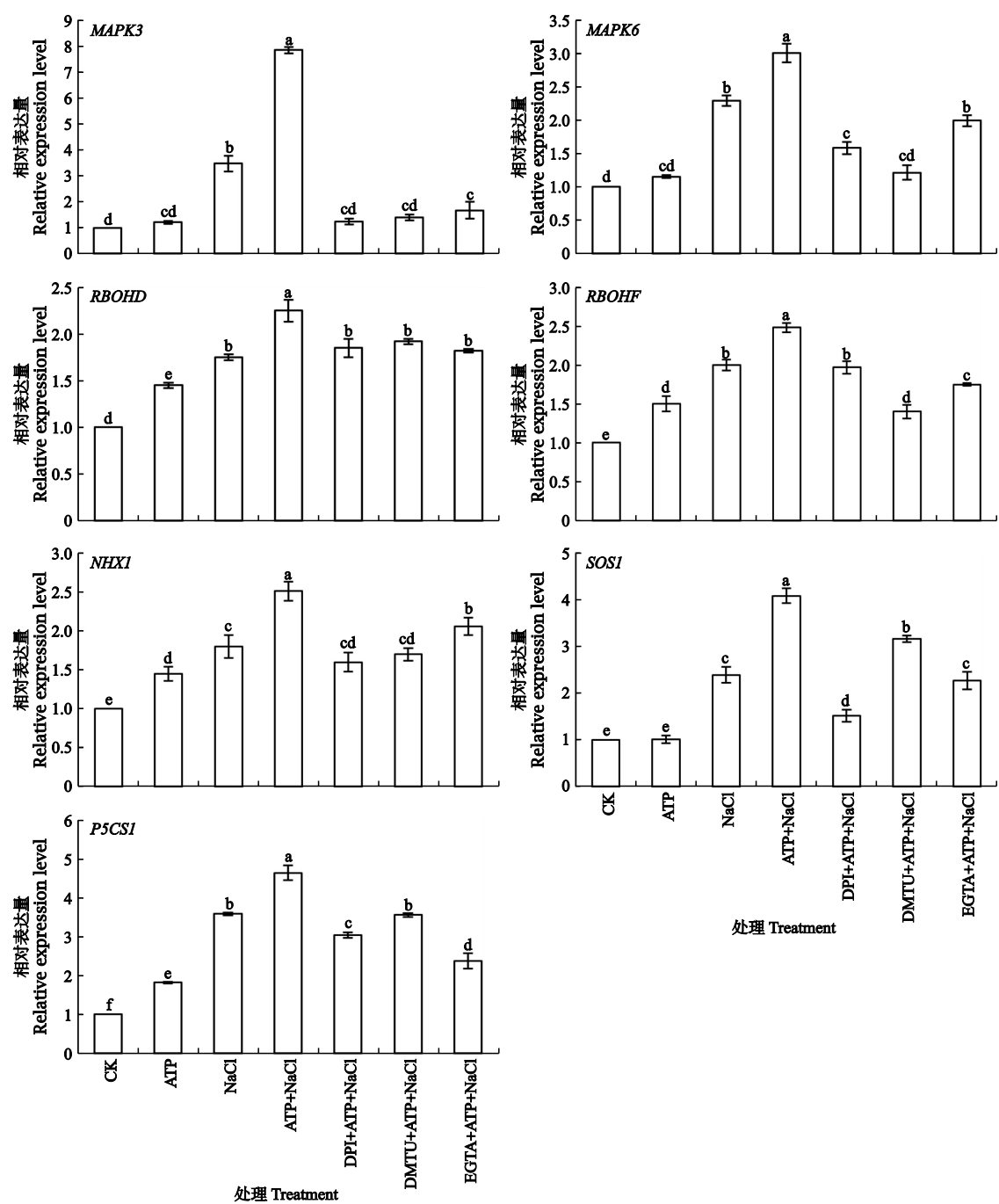


图 7 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中 *MAPK3*、*MAPK6*、*RBOHD*、*RBOHF*、*NHX1*、*SOS1*、*P5CS1* 基因表达的影响  
Fig.7 Effects of ATP on the expression of *MAPK3*, *MAPK6*, *RBOHD*, *RBOHF*, *NHX1*, *SOS1* and *P5CS1* in *Brassica campestris* leaves under NaCl stress

3 讨论

高盐胁迫下植物渗透势发生改变,离子动态平衡被破坏,原生质中的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$ 、 $\text{Cl}^{-}$  含量上升,  $\text{K}^{+}$  含量下降,引起  $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$  升高 (Kudla *et al.*, 2010)。正常生长条件下,植物体内 ROS 的产生和消除之间存在一种动态平衡,但这种动态平衡很容易受到盐胁迫

的干扰。植物体中  $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$  的升高和大量 ROS 的积累最终会引发细胞程序性死亡 (Huh *et al.*, 2002),而且 ROS 的积累也会诱导质膜中不饱和脂肪酸的过氧化,引起膜脂损伤。当植物在逆境条件下生长,体内的抗氧化酶和抗氧化物质发挥着重要作用,使自身的 ROS 含量维持在一个相对稳定的水平,从而保护生物膜的完整性,维持细胞的氧化还原



平衡。研究发现,外源施加  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  能够提高干旱胁迫下油菜叶片中的叶绿素含量 (Akram *et al.*, 2017)。 $\text{H}_2\text{O}_2$  处理可以诱导玉米胚芽鞘和胚根中脯氨酸的快速积累,并调节脯氨酸代谢和 *P5CS* 基因表达 (Yang *et al.*, 2009)。也有研究表明,外源  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理可以降低初生根中内源  $\text{H}_2\text{O}_2$  水平,提高 CAT、APX 和 POD 等活性以及抗坏血酸 (ASC) 等 ROS 清除物质的含量 (Jung *et al.*, 2008)。 $\text{Ca}^{2+}$  也会影响植物质膜上 NADPH 氧化酶活性,从而影响活性氧的积累。有研究发现,适量浓度的 ATP 可以触发植物的防御反应,而过高浓度 ATP 会导致植物细胞的死亡 (Feng *et al.*, 2014); 而且 ATP 可以缓解干旱或者低温对当归造成的负生理影响,保护植物的正常生长 (张牡丹等, 2019)。外源施用 ATP 可以通过调节蔗糖代谢中酶的活性来维持南果梨果实的品质并延缓衰老,南果梨果实的品质与贮藏期间的蔗糖代谢有关 (Duan *et al.*, 2019)。Sun 等 (2012) 研究发现,使用外源 ATP 处理可以提高 NaCl 胁迫下胡杨细胞活力,也会诱导  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累。 $\text{Al}^{3+}$  胁迫可能通过抑制钙离子通道而破坏了细胞内  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{Ca}^{2+}$  之间的协同关系,外源 ATP 对  $\text{Al}^{3+}$  诱导  $\text{H}_2\text{O}_2$  上升的缓解作用可能是由于其提升了细胞的抗氧化能力 (达梦婷等, 2019)。在本研究中,与对照相比,NaCl 胁迫处理下的油菜叶片中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  含量及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  上升, $\text{K}^+$  含量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量下降,叶片中  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^-$  的积累量、死细胞数量、脯氨酸和可溶性糖含量、*P5CS1* 基因表达量、抗氧化酶 (SOD、POD、CAT、APX) 酶活、抗氧化酶基因 (*CAT*、*SOD*、*APX*、*GR*) 表达增多,相对电导率及 MDA 含量升高。ATP+NaCl 处理与单独 NaCl 胁迫处理相比较油菜叶片中  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  含量增加, $\text{Na}^+$  含量和  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  降低,也降低了油菜叶片中  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^-$  的积累、死细胞数量、相对电导率和 MDA 含量,提高了脯氨酸和可溶性糖含量、*P5CS1* 基因和抗氧化酶基因表达量以及抗氧化酶活。抑制剂 (DPI、DMTU、EGTA) +ATP+NaCl 处理相比较于 ATP+NaCl 处理,油菜叶片中 *P5CS1* 基因和抗氧化酶基因表达均被抑制,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量、脯氨酸和可溶性糖含量及抗氧化酶酶活均降低。以上结果说明,外源 ATP 处理可以维持盐胁迫下油菜叶片中的离子平衡,缓解油菜的氧化损伤。 $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{Ca}^{2+}$  参与到 ATP 对盐胁迫下油菜叶片中叶绿素含量、脯氨酸合成及抗氧化防御系统的调控中,增强油菜的耐盐性。

渗透调节、离子平衡 (特别是  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡) 和抗氧化被认为是植物耐盐性的主要机制,尤其是离子平衡,它被认为是重要的植物耐盐机制。在盐胁迫条件下与离子转运相关的蛋白包括质膜上的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 SOS1、钠钾共转运蛋白 HKT 和液泡膜的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 NHX (Yang *et al.*, 2012)。研究表明, $\text{Na}^+$  诱导的拟南芥中 SOS1 基因表达是由 NADPH 氧化酶诱导产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$  来介导的 (Chung *et al.*, 2008)。SOS3 作为  $\text{Ca}^{2+}$  的传感器,可以与 SOS2 蛋白激酶相互作用,SOS3-SOS2 复合物激活质膜型  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 SOS1 活性,从而重建细胞离子稳态 (Kant *et al.*, 2018)。SOS2 还可以激活液泡  $\text{H}^+$ -ATP 酶和 NHX,将  $\text{Na}^+$  ( $\text{K}^+$ ) 在液泡中区室化,而这种区室化在调节植物对盐胁迫的耐受性中起着至关重要的作用 (Fan *et al.*, 2014)。Demidchik 等 (2009) 提出,胞外 ATP 诱导细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  储存库释放  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,激活质膜 NADPH 氧化酶活性,诱导 ROS 产生,调节拟南芥中 *AtMPK3* 的转录水平。Jeter 等 (2004) 研究发现,外源 ATP 可以通过第二信使 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、NO) 触发下游 MAP 级联途径中的基因表达,提高了 *MEKK1*、*MPK19*、*MPKs* 的表达。在 Zhang 等 (2010) 的研究结果中,油菜素内酯诱导产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$  可以激活 MAP 激酶 ZmMPK5,被激活的 ZmMPK5 又可以诱导 NADPH 氧化酶基因的表达,从而进一步提高  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累。在本研究中,与对照相比,NaCl 胁迫处理显著提高了 *SOS1*、*NHX1*、*RBOHD*、*RBOHF*、*MAPK3*、*MAPK6* 基因的表达,这也说明油菜这 6 个基因在响应 NaCl 胁迫时发挥了作用。ATP+NaCl 处理与单独 NaCl 胁迫处理相比较,*SOS1* 和 *NHX1* 基因、*RBOHD* 和 *RBOHF* 基因、*MAPK3* 和 *MAPK6* 基因的表达均提高,表明喷洒外源 ATP 可以提高 NaCl 胁迫下油菜叶片中 *SOS1*、*NHX1*、*RBOHD*、*RBOHF*、*MAPK3*、*MAPK6* 基因的表达,有利于油菜适应盐环境。与 ATP+NaCl 处理相比较,抑制剂 (DPI、DMTU、EGTA) +ATP+NaCl 处理抑制了 *SOS1*、*NHX1*、*RBOHD*、*RBOHF*、*MAPK3*、*MAPK6* 基因的表达,说明  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  参与到外源 ATP 对盐胁迫下油菜 *SOS1* 和 *NHX1* 基因、*RBOH* 基因和 *MAPK* 基因的表达调控。

综上所述,喷洒外源 ATP 处理能够降低盐胁迫下油菜中  $\text{Na}^+$  吸收及  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , 增加  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{K}^+$  的吸收,提高叶绿素含量和脯氨酸的合成,提高了抗氧化酶活性,清除多余的 ROS,降低了细胞膜质过氧化,

并激活 *P5CS1* 基因表达,调节细胞渗透性,同时诱导盐胁迫下油菜中 *NHX1* 和 *SOS1* 基因、*RBOH* 和 *MAP* 基因表达来调节油菜耐盐性。信号分子  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  也参与到外源 ATP 对盐胁迫下油菜幼苗的调控。

## 参考文献

- 达梦婷,石珍珍,庞海龙,等. 2019. 胞外 ATP 对  $\text{AlCl}_3$  诱导的细胞死亡过程中胞内  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{Ca}^{2+}$  水平的影响及其生理机制分析. 西北植物学报, **39**(6): 1033–1041. [Da MT, Shi ZZ, Pang HL, *et al.* 2019. Extracellular ATP alleviates the aluminium-induced cell death by regulating  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{Ca}^{2+}$  levels. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, **39**(6): 1033–1041]
- 冯汉青,白晶月,管冬冬,等. 2014. 细胞外 ATP 通过刺激 NADPH 氧化酶缓解水杨酸诱导的细胞死亡. 植物生理学报, **50**(11): 1639–1644. [Feng HQ, Bai JY, Guan DD, *et al.* 2014. Extracellular ATP alleviates the salicylic acid-induced cell death by stimulating NADPH oxidase. *Plant Physiology Journal*, **50**(11): 1639–1644]
- 龚伟,王伯初. 2011. 钙离子在植物抵抗非生物胁迫中的作用. 生命的化学, **31**(1): 107–111. [Gong W, Wang BC. 2011. The role of  $\text{Ca}^{2+}$  in plant response to abiotic stress. *Chemistry of Life*, **31**(1): 107–111]
- 李青松,王林权,周春菊,等. 2009. 钙离子及钙调蛋白对不同温度型冬小麦盐分吸收与累积的影响. 西北植物学报, **29**(5): 975–982. [Li QS, Wang LQ, Zhou CJ, *et al.* 2009. Function of calcium ion and calmodulin on sodium uptake and accumulation of winter wheat with different canopy temperature. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, **29**(5): 975–982.]
- 刘自刚,王志江,方 圆,等. 2017. NaCl 胁迫对白菜型冬油菜种子萌发和幼苗生理的影响. 中国油料作物学报, **39**(3): 351–359. [Liu ZG, Wang ZJ, Fang Y, *et al.* 2017. Effect of salt stress on seed germination and seedling physiology of winter rape seed (*Brassica rapa* L.). *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, **38**(3): 351–359.]
- 孙万仓,武军艳,方 彦,等. 2010. 北方旱寒区北移冬油菜生长发育特性. 作物学报, **36**(12): 2124–2134. [Sun WC, Wu JY, Fang Y, *et al.* 2010. Effect of salt stress on seed germination and seedling physiology of winter rapeseed (*Brassica rapa* L.). *Chinese Journal of Oil Crop Science*, **36**(12): 2124–2134.]
- 文锦芬,杨双龙,龚 明. 2011.  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫诱导烟草悬浮细胞脯氨酸积累的生化途径及外源脯氨酸对  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下  $\text{H}_2\text{O}_2$  产生的抑制作用. 植物生理学报, **47**(4): 86–92. [Wen JF, Yang SL, Gong M. 2011. Biochemical pathways of  $\text{Cd}^{2+}$  stress-induced proline accumulation and inhibitory effect of exogenous proline on  $\text{Cd}^{2+}$ -induced  $\text{H}_2\text{O}_2$  production in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) suspension cells. *Plant Physiology Journal*, **47**(4): 392–398.]
- 张牡丹,冯 媛,石珍珍,等. 2019. 干旱和低温胁迫下细胞外 ATP 对当归幼苗叶绿素含量及其荧光特性的调节. 中国中药杂志, **44**(7): 1305–1313. [Zhang MD, Feng Y, Shi ZZ, *et al.* 2019. Regulation of extracellular ATP on-chlorophyll content and fluorescence characteristics of *Angelica sinensis* seedlings under drought and low temperature stress. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **44**(7): 1305–1313]
- 张腾国,赖 晶,李 萍,等. 2019. 不同处理下油菜 *RbohA*、*RbohD* 基因的表达特性分析. 生态学杂志, **38**(1): 173–180. [Zhang TG, Lai J, Li P, *et al.* 2019. Analysis of expression characteristics of *RbohA* and *RbohD* genes in rape under different treatments. *Chinese Journal of Ecology*, **38**(1): 173–180.]
- Akram K, Yasir A, Md H, *et al.* 2017. Attenuation of drought stress in *Brassica* seedlings with exogenous application of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ . *Plants*, **6**: 20.
- Apel K, Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, **55**: 373–399.
- Aziz A, Heyraud A, Lambert B. 2004. Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*. *Planta*, **218**: 767–774.
- Cargnello M, Roux PP. 2011. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, **75**: 50–83.
- Choi J, Tanaka K, Liang Y, *et al.* Extracellular ATP, a danger signal, is recognized by DORN1 in *Arabidopsis*. *Biochemical Journal*, **463**: 429–437.
- Chung JS, Zhu JK, Bressan RA, *et al.* 2008. Reactive oxygen species mediate  $\text{Na}^+$ -induced *SOS1* mRNA stability in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, **53**: 554–565.
- Demidchik V, Nichols C, Oliynyk M, *et al.* 2003. Is ATP a signaling agent in plants? *Plant Physiology*, **133**: 456–461.
- Demidchik V, Shang Z, Shin R, *et al.* 2009. Plant extracellular ATP signalling by plasma membrane NADPH oxidase and  $\text{Ca}^{2+}$  channels. *The Plant Journal*, **58**: 903–913.
- Dhindsa RS, Matowe W. 2005. Drought tolerance in two mosses: Correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, **56**: 685–694.
- Duan B, Ge Y, Li C, *et al.* 2019. Effect of exogenous ATP treatment on sucrose metabolism and quality of *Nanguopear* fruit. *Scientia Horticulturae*, **249**: 71–76.
- Du J, Yuan S, Chen Y. *et al.* 2011. Comparative expression analysis of dehydrins between two barley varieties, wild barley and Tibetan hulless barley associated with different stress resistance. *Acta Physiologiae Plantarum*, **33**: 567–574.
- Fan W, Deng G, Wang H, *et al.* 2014. Elevated compartmentalization of  $\text{Na}^+$  into vacuoles improves salt and cold stress tolerance in sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *Physiologia Plantarum*, **154**: 560–571.
- Feng Z, Zhang L, Yang C, *et al.* 2014. *EF8* is involved in pho-

- toperiodic flowering pathway and chlorophyll biogenesis in rice. *Plant Cell Reports*, **33**: 2003–2014.
- Gao X, Chen X, Lin W, *et al.* 2013. Bifurcation of *Arabidopsis* NLR immune signaling via  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases. *PLoS Pathogens*, **9**: e1003127.
- Gill SS, Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**: 909–930.
- Huh GH, Damsz B, Matsumoto TK, *et al.* 2002. Salt causes ion disequilibrium-induced programmed cell death in yeast and plants. *The Plant Journal*, **29**: 649–659.
- Jeter CR, Tang W, Henaff E, *et al.* 2004. Evidence of a novel cell signaling role for extracellular adenosine triphosphates and diphosphates in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, **16**: 2652–2664.
- Jung SC, Jian KZ, Bressan RA, *et al.* 2008. Reactive oxygen species mediate  $\text{Na}^{+}$ -induced SOS1 mRNA stability in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, **53**: 554–565.
- Kant NK, Kumar G, Lata SPS, *et al.* 2018. A salt overly sensitive pathway member from *Brassica juncea* BJSOS3 can functionally complement  $\Delta\text{Atsos3}$  in *Arabidopsis*. *Current Genomics*, **19**: 60–69.
- Kudla J, Bastic O, Hashimoto K. 2010. Calcium signals: The lead currency of plant information processing. *The Plant Cell*, **22**: 41–563.
- Petrov V, Hille J, Mueller-Roeber B, *et al.* 2015. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Frontiers in Plant Science*, **6**: 69.
- Sadiqov ST, Akbulut M, Ehmedov V. 2002. Role of  $\text{Ca}^{2+}$  in drought stress signaling in wheat seedlings. *Biochemistry*, **67**: 491–497.
- Scarpeci TE, María IZ, Néstor C, *et al.* 2008. Generation of superoxide anion in chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* during active photosynthesis: A focus on rapidly induced genes. *Plant Molecular Biology*, **66**: 361–378.
- Song CJ, Steinebrunner I, Wang X, *et al.* 2006. Extracellular ATP induces the accumulation of superoxide via NADPH oxidases in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **140**: 1222–1232.
- Sun J, Zhang X, Deng S, *et al.* 2012. Extracellular ATP signaling is mediated by  $\text{H}_2\text{O}_2$  and cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  in the salt response of *Populus euphratica* cells. *PLoS One*, **7**: e53136.
- Takahashi F, Mizoguchi T, Yoshida R, *et al.* 2011. Calmodulin-dependent activation of MAP kinase for ROS homeostasis in *Arabidopsis*. *Molecular Cell*, **41**: 649–660.
- Xu J, Li Y, Wang Y, *et al.* 2008. Activation of MAPK kinase 9 induces ethylene and camalexin biosynthesis and enhances sensitivity to salt stress in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry*, **283**: 6996–7006.
- Yamamoto Y, Kobayashi Y, Matsumoto H. 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pear roots. *Plant Physiology*, **125**: 199–208.
- Yang CW, Zhao N, Xu CM, *et al.* 2012. Regulation of ion homeostasis in rice subjected to salt and alkali stresses. *Australian Journal of Crop Science*, **6**: 724–731.
- Yang SL, Lan SS, Gong M. 2009. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *Journal of Plant Physiology*, **166**: 1694–1699.
- Yang Y, Guo Y. 2018. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytologist*, **217**: 523–539.
- Zhao MG, Chen L, Zhang LL, *et al.* 2009. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **151**: 755–767.
- Zhang A, Zhang J, Ye N, *et al.* 2010. ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic  $\text{H}_2\text{O}_2$  in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize. *Journal of Experimental Botany*, **61**: 4399–4411.

---

作者简介 赖 晶,女,1992年生,硕士研究生,从事植物分子生物学研究。E-mail: laij1219@163.com  
责任编辑 李凤芹

---