

泌盐植物长叶红砂质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因(*RtSOS1*) 全长 cDNA 的克隆及序列分析

党振华,郑琳琳,冯智,王迎春

(内蒙古大学 生命科学院,内蒙古自治区牧草与特色作物生物技术重点实验室,内蒙古 呼和浩特 010021)

摘要:长叶红砂为内蒙古东阿拉善-西鄂尔多斯地区特有珍稀泌盐、强旱生小灌木,对盐渍荒漠环境具有极强适应性。利用 RT-PCR 和 RACE 技术从该植物中分离出质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因(*RtSOS1*)。该 cDNA 全长为 3 829 bp,开放阅读框为 3 438 bp,编码一个含 1 145 个氨基酸的蛋白质,推测分子量为 126.76 kDa。氨基酸序列的生物信息学分析推测,该蛋白 N 端含有 11 个跨膜结构域,C 端为一个长约 700 个氨基酸的亲水性尾,具有磷酸化和自我抑制结构域。同源性比对和系统发育分析证实,*RtSOS1* 与其他植物的质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白亲缘关系较近。

关键词:长叶红砂;质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因;全长 cDNA 克隆

中图分类号:Q78 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2013)03-0001-06

Cloning and Sequence Analysis of the Plasma Membrane Na^+/H^+ Antiporter cDNA in Recretohalophyte *Reaumuria trigyna* Maxim.

DANG Zhen-hua, ZHENG Lin-lin, FENG Zhi, WANG Ying-chun

(Inner Mongolia University College of Life Sciences, Key Laboratory of Herbage & Endemic Crop Biotechnology in Inner Mongolia, Huhhot 010021, China)

Abstract: *Reaumuria trigyna* Maxim. is an endangered small shrub with the features of a recretohalophyte. This species is endemic to the Eastern Alxa Western Ordos area and developed distinctive strategies to adapt to the semi-desert and salty soil environment. A full-length cDNA of the plasma Na^+/H^+ antiporter (*RtSOS1*) was isolated from this species by using RT-PCR and RACE technologies. The 3 829 bp sequence comprised a 3 438 bp open reading frame encoding an 1 145 amino acids protein with the molecular weight of 126.76 kDa. Bioinformatics analyze reveals that *RtSOS1* composed of 11 transmembrane domains within its N terminal portion and a hydrophilic cytoplasmic tail with the length approximately 700 amino acids in its C-terminal portion. In the C-terminal region, the phosphorylation domain and the auto-inhibited domain are found. The Homology comparison and phylogenetic analysis showed that *RtSOS1* is related to plasma membrane Na^+/H^+ antiporter in other plant species.

Key words: *Reaumuria trigyna* Maxim.; *SOS1*; cDNA cloning

质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白(Salt overly sensitive 1, *SOS1*)是目前知道的唯一一种介导 Na^+ 外排的膜整合蛋白,该蛋白依赖质膜 H^+ -ATPase 产生的质子驱动力实现 Na^+ 逆浓度梯度的运输,在植物抵御盐胁迫中发挥重要作用^[1-3]。该蛋白编码基因的缺失可致使植物对盐极度敏感、内吞作用受抑、液泡形状和功能异常以及胞内 pH 值失衡^[4-5]。通过缺失突变体功能互补和过量表达 *SOS1* 基因则可恢复

或提高转化植株的耐盐性,大大限制 Na^+ 在胞质中的积累^[2,6-8]。目前,*SOS1* 基因已从多种植物中获得,包括首次发现该蛋白的大麦、甜土植物拟南芥、水稻、番茄、小麦等,盐生植物盐芥、冰叶日中花、海蓬子、盐地碱蓬、胡杨等^[2,6,9-19]。然而,针对该基因功能的研究大多还集中在少数模式植物上。Flowers^[20]曾提出,一些非模式植物的相关基因在增强植物抗逆性上具有更突出的表现。盐生植物是生存在

收稿日期:2013-04-22

基金项目:国家自然科学基金主任基金项目(31140020);内蒙古自然科学基金重大项目(2012ZD05)

作者简介:党振华(1982-),男,内蒙古包头人,在读博士,主要从事植物抗逆分子生物学研究。

通讯作者:王迎春(1966-),女,内蒙古呼和浩特人,博士,教授,主要从事植物生理生态及分子生物学研究。

高盐环境下的植物群体,能更有效的维持体内离子稳态,是获得耐盐基因的好材料^[21]。因此,从盐生植物中获得 *SOS1* 基因并深入研究其盐响应调控机理,对进一步了解植物耐盐机理,获得优质耐盐功能基因意义重大。

长叶红砂(*Reaumuria trigyna* Maxim.) ,隶属于柽柳科(Tamaricaceae) 琵琶柴属(*Reaumuria* Linn.) ,是起源于第三纪的强旱生小灌木、双子叶泌盐盐生植物,被学术界称为“活化石”,被列为内蒙古自治区珍稀濒危植物^[22]。其生存地为中国八大生物多样性中心之一的东阿拉善-西鄂尔多斯荒漠区,该地区具有高盐(可达 0.4%)、干旱(年平均降水量为 140.9 ~ 302.2 mm)、低温(年平均温度为 6.0 ~ 9.2 °C) 等特点^[23]。该植物适应其恶劣生境条件的独特生理表现之一是其叶片表面分布大量多细胞盐腺,该盐腺可功能性外排盐离子,在高盐生境下维持其体内 K^+/Na^+ 平衡发挥重要作用^[24]。可以推测,长叶红砂在长期适应和进化过程中形成了独特或高效的 Na^+ 转运机制, *SOS1* 可能与此特性密切相关。本研究利用 RT-PCR 结合 cDNA 末端快速扩增(RACE) 技术,克隆长叶红砂 *SOS1* 基因并对其进行序列分析,为开展长叶红砂离子转运和调节的分子机制研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料和试剂

试验所用长叶红砂种子于 2009 年 9 月采自内蒙古自治区东阿拉善-西鄂尔多斯地区,挑选饱满种子在 10% 次氯酸钠浸泡 15 min,灭菌 ddH₂O 冲洗 3 遍,播种于装有 40 mL MS 培养基的 150 mL 三角瓶中。暗培养 72 h 后在 25 °C、湿度 70%、16 h:8 h 光照/黑暗的条件下进行光照培养。以培养 72 d 的长叶红砂幼苗为试验试材。

RNA 提取试剂盒(Plant Plus RNA Regent) 购自北京天根生化科技有限公司; *Taq* DNA 聚合酶、DNase I、RNase inhibitor、pMD19-T 载体及 DNA Marker 购自 TaKaRa 公司;大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,购自北京全式金生物技术有限公司;反转录试剂盒为 Invitrogen 公司的 M-MLV Reverse Transcriptase Kits; cDNA 全长扩增使用 Clontech 公司的 SMARTerTM RACE cDNA Amplification Kit; DNA 凝胶回收试剂盒购自 Axygen 公司;其他试剂均为进口分装或国产分析纯。PCR 引物合成及测序由北京六合华大基因科技股份有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 长叶红砂总 RNA 的提取 长叶红砂总 RNA 的提取参照 Plant Plus RNA Regent 说明书进行。所提总 RNA 在 37 °C 下用 RNase-free DNase I 处理 45 min 去除残留 DNA。用 Nanovue plus 微量紫外分光光度计检测其浓度和质量。1% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。

1.2.2 长叶红砂 *SOS1* 基因保守区的获得 根据 GenBank 上公布的拟南芥、水稻、大麦等植物的 *SOS1* 基因的氨基酸序列,利用 ClustalX 软件进行多序列同源性比对。根据比对结果寻找 2 段高度保守的区域,用 Primer premier 5.0 软件设计简并引物(DEF: 5'-TCCYTGATGAATGATGGGAC-3', DER: 5'-ACCATTTCCCARAARAARTGATG-3'),预计扩增长度为 365 bp。以所提总 RNA 为模板,经 M-MLV Reverse Transcriptase 将 1 μ g RNA 反转录为 cDNA,并最终将其稀释为 20 ng/ μ L。25 μ L RT-PCR 反应体系中加入 2 mmol/L Mg^{2+} 、200 μ mol/L dNTP、引物各 1.0 μ mol/L, *Taq* DNA 聚合酶 1.0 U, 20 ng 模板 cDNA。扩增条件为:94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 46 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。将 PCR 扩增得到的目的片段与 pMD-19T 载体连接并转化大肠杆菌感受态细胞,挑选阳性菌落鉴定后测序。测序结果用 NCBI 网站的 BLASTN 程序进行同源性比对分析。

1.2.3 长叶红砂 *SOS1* 基因全长的获得 对测序结果进行 BLAST 在线分析,确认其为 *RtSOS1* 保守区段后,设计 3' RACE 引物(P3: 5'-TGTGATGACTTTGGGAATGTTCTATGCTGC-3') 和 5' RACE 引物(P5: 5'-GGCCAAGTACCATTGATAGAA-3')。参照 Clontech 公司的 SMARTerTM RACE cDNA Amplification 试剂盒操作方法,以长叶红砂 cDNA 为模板,结合试剂盒内提供的锚定引物进行 *RtSOS1* 基因 3' 和 5' 末端的扩增。PCR 扩增程序为 95 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 共 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min。将扩增得到的片段测序后用 Geneious 5.5.7 软件拼接在一起,得到 *RtSOS1* 基因的全长 cDNA 序列,随后设计上游引物 5'-TCCCTGAAACAGCATACACGACGAGT-3' 和下游引物 5'-GCTGTGATGGATTCAAGAAGCGTGG-3' 扩增全长 cDNA。

1.2.4 长叶红砂 *SOS1* 基因的生物信息学分析 对 *RtSOS1* 基因全长序列进行 BLASTX 同源性比较,利用 NCBI 的 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 识别开放阅读框序列并翻译

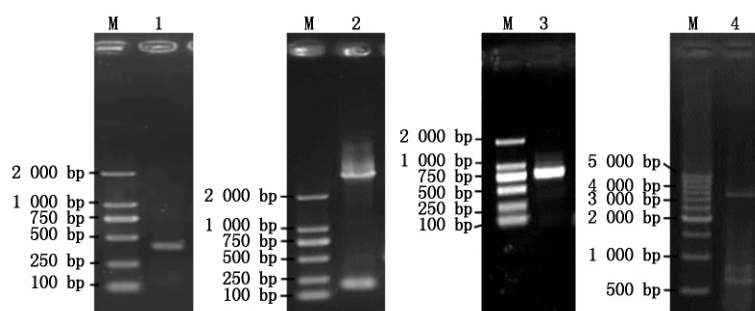
推测出氨基酸序列,对推测的氨基酸序列利用 Ex-PASy 数据库的 ProtParam 软件(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>)在线分析 *RtSOS1* 的基本性质。*RtSOS1* 的功能结构域用 Conserved Domain Search Service(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)在线分析预测。*RtSOS1* 蛋白跨膜预测及亲水性分析分别由 TMPRED(http://ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)完成。系统进化树用 MEGA 5.05 软件的邻近法(Neighbor joining, NJ 法)构建,Bootstrap 值设置为 1 000。

2 结果与分析

2.1 长叶红砂 *SOS1* 基因全长 cDNA 的克隆

根据已报道其它植物 *SOS1* 基因保守区设计简并引物,经 RT-PCR 扩增得到一个与预期 365 bp 相

符的 cDNA 片段(图 1-1)。经测序和 BLAST 同源性比对,证实这个 cDNA 片段与已报道的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因具有较高的同源性,说明该片段是长叶红砂 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 cDNA 的一部分。以此片段为基础设计基因特异性引物,利用 RACE 技术分别获得了长叶红砂 *SOS1* 基因的 3'端和 5'端序列(图 1-2, 3)。阳性克隆测序结果显示,3'端和 5'端片段的长度分别为 2 911, 789 bp。将上述 3 个核苷酸序列拼接后,获得了长叶红砂 *SOS1* 基因的全长 cDNA,其长度为 3 829 bp,该序列的 5'端和 3'端分别存在 114, 277 bp 的非翻译区,开放阅读框长度为 3 438 bp。随后扩增出包含全部开放阅读框的 cDNA 片段(3 489 bp, 图 1-4)。此基因命名为 *Rt-SOS1*, GenBank 中的登陆号为 KC292265。



1. 保守区扩增结果; 2. 3'-RACE 结果; 3. 5'-RACE 结果; 4. 全长 cDNA 扩增结果; M. 标准 DNA 分子量。

1. Conserved region amplification of *RtSOS1*; 2. Amplification result of the 3'-RACE; 3. Amplification result of the 5'-RACE;

4. Amplification result of the full-length cDNA; M. DNA Marker.

图 1 长叶红砂 *SOS1* 基因全长 cDNA 的扩增

Fig. 1 The full-length cDNA cloning of *RtSOS1*

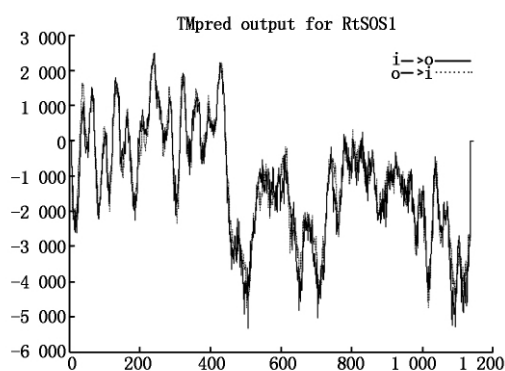


图 2 *RtSOS1* 的疏水性/亲水性预测

Fig. 2 Hydrophobicity/hydrophilic prediction for *RtSOS1*

2.2 *RtSOS1* 氨基酸序列的生物信息学分析

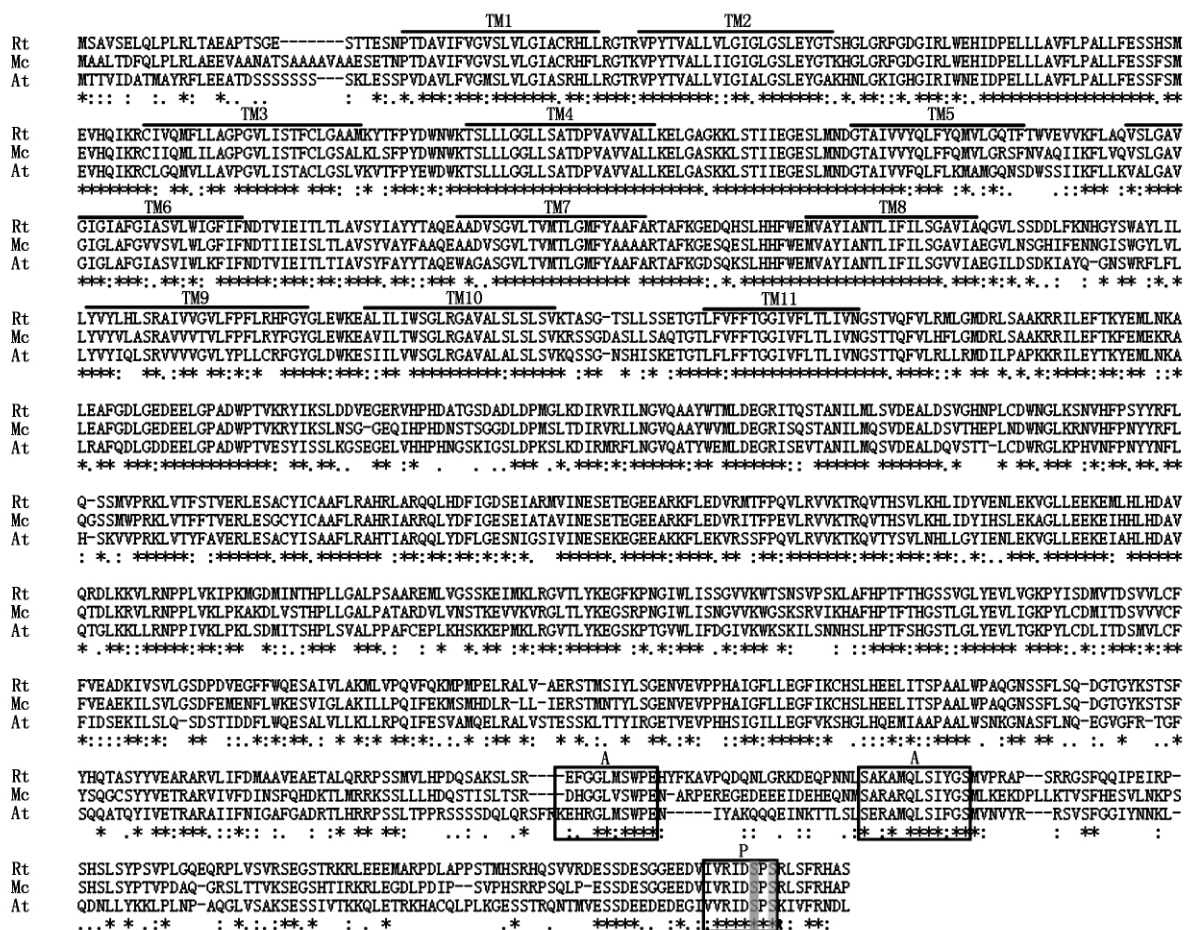
根据长叶红砂 *SOS1* 的开放阅读框推导出该基因编码一个含有 1 145 个氨基酸残基的蛋白质,分子量为 126.76 kDa,理论等电点 pI 为 6.10。利用 NCBI 的保守区搜索工具在线分析 *RtSOS1* 氨基酸序列,发现其 N 端具有 NhaP(氨基酸 26 ~ 561)、 Na^+/H^+ Exchanger(氨基酸 32 ~ 435)、b cpa1(氨基酸 21 ~

632)、a cpa1(氨基酸 48 ~ 570)等保守结构域;C 端有 cNMP(氨基酸 757 ~ 847)、CAP ED(氨基酸 739 ~ 853)和 Crp(氨基酸 733 ~ 949)保守结构域,说明该基因属于 Na^+/H^+ 转运蛋白家族成员,是阳离子逆向转运蛋白家族的一个亚类。疏水性分析表明,该蛋白 N 端具有高度疏水性,可能含有 11 个跨膜结构域,C 端为一个长约 700 个氨基酸的亲水性尾(图 2)。

同源性 BLAST 比对结果表明,该 cDNA 序列与多个物种编码 *SOS1* 蛋白的 mRNA 具高度同源性。其中,同源性最高的是双子叶植物冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*, AM746987)、葡萄(*Vitis vinifera*, GU004542)、海松菜(*Suaeda japonica*, AB198179)和海蓬子(*Salicornia brachiata*, EU879059),同源性依次为 73.4%, 72.4%, 72.0%, 70.0%;其次是大叶补血草(*Limonium gmelinii*, ACF05808)、胡杨(*Populus euphratica*, DQ517530)、霸王(*Zygophyllum xanthoxylum*, GU177864)和番茄(*Solanum lycopersicum*, CAG30524),同源性依次为

69.8% 68.6% 67.5% 67.3%。与模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, AF256224) 和盐芥 (*Thellungiella halophila*, EF207775) 的同源性分别为 63.9% 63.8%。与单子叶植物水稻 (*Oryza sativa*, AY785147), 小麦 (*Triticum aestivum*, AY326952) 和

星星草 (*Puccinellia tenuiflora*, EF440291) 的同源性依次为 62.9% 62.1% 61.7%。此外, 还发现不同植物 SOS1 的 N 端保守度较高, C 端相对较低, 但磷酸化结构域, 磷酸化位点 (S) 以及自我抑制结构域高度一致 (图 3)。



TM 是 transmembrane 的缩写; 黑线下表示 TMPRED 预测的 RtSOS1 跨膜结构 TM1-TM11;

方框 A 代表 SOS1 的自我抑制结构域; 方框 P 代表 SOS1 的磷酸化结构域; 磷酸化位点 (S) 用阴影表示。

TM represents the transmembrane; The predicted transmembrane domains (TM1-TM11) are under the black line; Amino acids in the box A represent the auto-inhibited domain of RtSOS1; Amino acids in the box P represent the phosphorylation domain; Two phosphorylation sites (S) are shaded.

图 3 RtSOS1 氨基酸序列与其他代表性植物的同源比对结果

Fig. 3 Comparison of the amino acid sequences between RtSOS1 with other representative plants

系统进化树分析显示 RtSOS1 与其他双子叶植物质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白亲缘关系较近, 与单子叶植物的亲缘关系较远, 与苔藓植物小立碗藓最远 (图 4)。上述分析均在一定程度上证明 RtSOS1 为长叶红砂质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的编码基因。

3 讨论

长叶红砂是东阿拉善-西鄂尔多斯荒漠区典型的强旱生泌盐盐生植物, 对盐渍、干旱、低温等恶劣环境具有极强适应性。该植物叶片表面具有独特的盐腺结构。盐腺泌盐特性显示, 长叶红砂盐腺可功能性外排盐离子, 外排量与生境土壤含盐总量呈正相关, Na^+ 、 Cl^- 外排量较大, K^+ 、 Mg^{2+} 相对较小, 在高

盐环境下能保持体内高的 K^+/Na^+ 比^[24]。关于 SOS 信号通路的研究大多集中在模式植物中, 针对具盐腺的泌盐盐生植物的相关研究鲜见报道。长叶红砂作为此类植物的典型代表, 在长期适应环境的过程中, 可能进化出独特的离子调控机制。本研究利用 RT-PCR 和 RACE 技术克隆了该植物质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 (RtSOS1) 的全长 cDNA。该基因全长 3 829 bp, 其开放阅读框编码蛋白长度为 1 145 个氨基酸。生物信息学分析推测, RtSOS1 由含有 11 个跨膜结构域的高度疏水性 N 端和一个长约 700 个氨基酸组成的亲水性尾组成; 系统进化分析显示, RtSOS1 与其他双子叶植物质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白聚为一类, 具有较高亲缘关系, 可能是长

叶红砂离子转运通路中的一个成员。

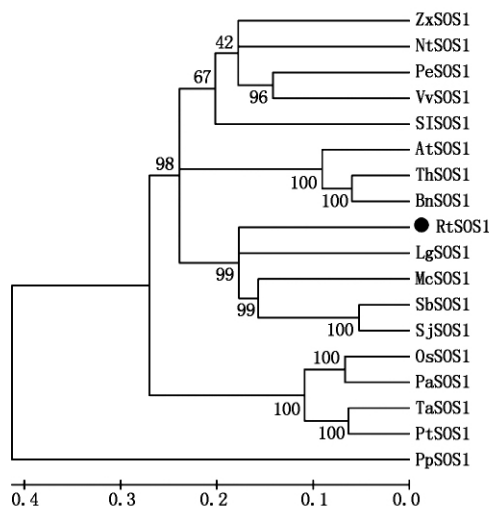


图4 *RtSOS1* 与其他植物 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的系统进化分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of *RtSOS1* and other Na^+/H^+ antiporters

在朱健康等^[25]提出的 SOS 信号通路中, *SOS1* 需经丝氨酸/苏氨酸激酶 (*SOS2*) / Ca^{2+} 结合蛋白 (*SOS3*) 激酶复合体磷酸化, 激活其离子转运活性。大量研究证实, 盐胁迫可激活该离子转运蛋白并诱导其基因的表达, 如拟南芥、水稻、小麦、星星草、胡杨的 *SOS1* 基因均可被盐胁迫诱导, 上调它们的表达量; 过量表达拟南芥、水稻、胡杨等的 *SOS1* 基因可使转化植物更有效的调节胞内 K^+/Na^+ 平衡, 获得更强的耐盐能力; 缺失突变体功能互补实验显示, 拟南芥、水稻、胡杨的 *SOS1* 在弥补受体盐极度敏感缺陷的同时, 还使之较野生型更具耐盐性^[7]。此外, 对 *SOS1* C 末端的研究也取得重大突破, 发现了 *SOS2* 作用的磷酸化结构域(氨基酸 1 131 ~ 1 138, [V/I]VR[V/I]DSPS)、特异性识别位点(S1136)和磷酸化位点(S1138); Francisco 指出, 在正常状态下, *SOS1* 的磷酸化位点被其 C 末端的自我抑制结构域(motif [K/R][D/E]HxGLxSWPE, 氨基酸 1 005 ~ 1 015 和 motif Sx[R/K]Axx[L/I/V]S[I/M][F/Y]GS, 氨基酸 1 033 ~ 1 044) 所封闭, 保持其处于休眠状态^[26]。同源性比对分析显示, *RtSOS1* 与其他植物的氨基酸序列高度一致, 特别是跨膜、磷酸化和自我抑制结构域的氨基酸组成, 预示了该蛋白可能与其他植物 *SOS1* 具有相同的激活和抑制机制, 在长叶红砂离子稳态维持和抵御盐渍环境过程中发挥重要作用。

参考文献:

[1] Zhu J K. Plant salt tolerance [J]. Trends in Plant Sci-

ence 2001 6(2): 66 - 71.

- [2] Shi H. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na^+/H^+ antiporter [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences 2000 97(12): 6896 - 6901.
- [3] 马清, 包爱科, 伍国强, 等. 质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白与植物耐盐性 [J]. 植物学报, 2011, 46(2): 206 - 215.
- [4] Oh D H, Ali Z, Hyeong C P *et al.* Consequences of *SOS1* deficiency: intracellular physiology and transcription [J]. Plant Signal Behavior 2010 5(6): 766 - 768.
- [5] Oh D H, Lee S Y, Bressan R A *et al.* Intracellular consequences of *SOS1* deficiency during salt stress [J]. Journal of Experimental Botany 2010 61(4): 1205 - 1213.
- [6] Wu Y, Ding N, Zhao X *et al.* Molecular characterization of *PeSOS1*: the putative Na^+/H^+ antiporter of *Populus euphratica* [J]. Plant Molecular Biology 2007 65(1): 1 - 11.
- [7] Xu H, Jiang X, Zhan K *et al.* Functional characterization of a wheat plasma membrane Na^+/H^+ antiporter in yeast [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics 2008 473(1): 8 - 15.
- [8] Martinez-Atienza J, Jiang X, Garciasdeblas B *et al.* Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice [J]. Plant Physiology 2007 143(2): 1001 - 1012.
- [9] Ratner A, Jacoby B. Effect of K^+ , its counter anion, and pH on sodium efflux from barley root tips [J]. Journal of Experimental Botany 1976 27(5): 843 - 852.
- [10] Olias R, Eljakaoui Z, Li J *et al.* The plasma membrane Na^+/H^+ antiporter *SOS1* is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of Na^+ between plant organs [J]. Plant, Cell & Environment 2009 32(7): 904 - 916.
- [11] Zhou G A, Jiang Y, Yang Q *et al.* Isolation and characterization of a new Na^+/H^+ antiporter gene *OsNHAI* from rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mitochondrial DNA, 2006 17(1): 24 - 30.
- [12] Wu C, Gao X, Kong X *et al.* Molecular cloning and functional analysis of a Na^+/H^+ antiporter gene *ThNHX1* from a halophytic plant *Thellungiella halophila* [J]. Plant Molecular Biology Reporter 2009 27(1): 1 - 12.
- [13] Cosentino C, Fischer S E, Bertl A *et al.* Na^+/H^+ antiporters are differentially regulated in response to NaCl stress in leaves and roots of *Mesembryanthemum crystallinum* [J]. New Phytologist, 2010, 186(3): 669 - 680.
- [14] Yadav N S, Shukla P S, Jha A *et al.* The *SbSOS1* gene from the extreme halophyte *Salicornia brachiata* enhances Na^+ loading in xylem and confers salt tolerance in transgenic tobacco [J]. BMC Plant Biology, 2012, 12: 188.

- [15] 王 鹤,张高华,王旭达,等. 獐茅耐盐基因 *SOS1* 的克隆及序列分析 [J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(3): 28–33.
- [16] 赵祥强. 玉米 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *ZmSOS1* 的克隆与鉴定 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(35): 17843–17848.
- [17] 马苏勇,祝建波,王爱英,等. 大叶补血草质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *SOS1* 的克隆及对番茄的遗传转化 [J]. 生物技术通报, 2010, 36(9): 1353–1358.
- [18] 王 澍,任晴雯,樊国盛. 黄瓜质膜型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因(*SOS1*)的克隆与序列分析 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2012, 30(03): 6–10.
- [19] 程玉祥. 星星草质膜型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的克隆和特性分析 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(01): 59–64.
- [20] Flowers T J, Colmer T D. Salinity tolerance in halophytes [J]. New Phytologist, 2008, 179(4): 945–963.
- [21] Türkan I, Demiral T. Recent developments in understanding salinity tolerance [J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 67(1): 2–9.
- [22] 薛 焱,王迎春,王同智. 濒危植物长叶红砂适应盐胁迫的生理生化机制研究 [J]. 西北植物学报, 2012, 32(1): 136–142.
- [23] Dang Z H, Zheng L L, Wang J *et al.* Transcriptomic profiling of the salt-stress response in the wild recretohalophyte *Reaumuria trigyna* [J]. BMC Genomics, 2013, 14: 29.
- [24] 薛 焱,王迎春. 盐生植物长叶红砂泌盐特性的研究 [J]. 中国沙漠, 2008, 28(3): 437–442.
- [25] Shi H, Lee B, Wu S J *et al.* Overexpression of a plasma membrane Na^+/H^+ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Nature Biotechnology, 2002, 21(1): 81–85.
- [26] Quintero F J, Martinez-Atienza J, Villalta I *et al.* Activation of the plasma membrane Na^+/H^+ antiporter Salt Overly Sensitive 1 (*SOS1*) by phosphorylation of an auto-inhibitory C terminal domain [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(6): 2611–2616.