

植物蛋白激酶与作物非生物胁迫抗性的研究

朱婷婷¹, 王彦霞², 裴丽丽¹, 谢传磊³, 陈明¹, 陈隽¹, 周永斌¹, 马有志¹, 徐兆师¹

(¹中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程/农业部麦类生物学与遗传育种重点实验室, 北京 100081;

²石家庄市农林科学研究院/河北省小麦工程技术研究中心, 石家庄 050041; ³陆军通信训练基地五大队, 北京 102400)

摘要: 干旱、盐碱、高温等非生物逆境胁迫严重影响作物生长发育、产量和品质。在遭受非生物逆境的威胁时, 植物通过信号受体, 可感知、转导胁迫信号, 启动一系列抗逆相关基因的表达, 最终缓解或抵御非生物逆境胁迫对植物造成的危害。其中, 蛋白激酶和蛋白磷酸酯酶的磷酸化/去磷酸化作用在植物感受外界胁迫信号的分子传递过程中起到开关的作用。正常情况下, 蛋白激酶磷酸化开启信号转导途径, 启动相应的抗逆基因表达反应; 当信号消失后, 蛋白激酶去磷酸化将信号转导途径关闭, 达到调控植物正常生长的目的。因此, 蛋白激酶在调控感受胁迫信号、启动各种非生物逆境胁迫响应中起到了极其重要的作用。近年来, 对植物蛋白激酶参与非生物胁迫响应的研究倍受关注。本文阐述了不同类型蛋白激酶在改良作物非生物胁迫抗性上的应用, 为进一步研究提供资料。

关键词: 植物; 非生物胁迫; 蛋白激酶; 抗逆机制

Research Progress of Plant Protein Kinase and Abiotic Stress Resistance

ZHU Ting-ting¹, WANG Yan-xia², PEI Li-li¹, XIE Chuan-lei³, CHEN Ming¹,

CHEN Jun¹, ZHOU Yong-bin¹, MA You-zhi¹, XU Zhao-shi¹

(¹Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Triticeae Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081;

²Shijiazhuang Academy of Agricultural and Forestry Sciences/Research Center of Wheat Engineering Technology of Hebei, Shijiazhuang 050041; ³The 5th Group, Army Communication Training Base, Beijing 102400)

Abstract: Abiotic stresses such as drought, salinity and high temperature stress seriously affect plant growth, yield and quality of crops. Stress response is a complex process involving multiple genes, multiple signal transduction pathways and various gene expression products in plants. Under adversity stresses, plants recognize and transmit stress signals, activate the expression of functional genes, and finally to alleviate or defend against the damage which abiotic stress had made to plants. Among them, the phosphorylation and dephosphorylation of protein kinases and phosphatases make a role of switch in response to external stress. In general, phosphorylation of protein kinases open signal transduction pathway, starting the expression of corresponding resistance genes, and when signal disappears, it will shut off to phosphorylation, achieving the purpose of regulating plant normal growth. The study found that many protein kinases in plants responding to signal transduction pathway and abiotic stresses, such as receptor-like protein kinase, mitogen activated protein kinase, calcium dependent protein kinase, calcineurin B-like protein interacting protein kinase and sucrose non-fermenting-1-related protein kinase. Protein kinases have a large number of population, which has rich diversity in its function. Different family kinases have different functions, or even the same family of protein kinases have different functions. Protein kinase is composed of multiple functional domains, such as protein kinase catalytic domain, transmembrane domain, calmodulin domain, which lead to functional specificity. Studies have found a great quantity of protein kinases which can increase the resistance to drought and salt stresses

收稿日期: 2016-12-07 修回日期: 2017-03-08 网络出版日期: 2017-06-13

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170613.0829.004.html>

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2014ZX0800916B、2016ZX08002-002); 国家自然科学基金(31371620)

第一作者主要从事作物分子生物学研究。E-mail: zhutingting@163.com

通信作者: 徐兆师, 主要从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail: xuzhaoshi@caas.cn

in wheat, rice and maize. In this paper, the effects of CBLs, CIPKs and CDPKs on the regulation of salt stress in plant root cells and the MAPK cascade pathways were taken as examples to illustrate the molecular mechanism of protein kinase in response to abiotic stresses. Therefore, protein kinases play an extremely important role in growth and a variety of responses to stresses in plants. In recent years, the research of plant protein kinases involved in abiotic stress responses gains much attention. In this paper, we discussed the application of different types of protein kinases in the improvement of abiotic stress resistance of crops, providing information for further research.

Key words: plant; abiotic stress; protein kinase; resistant mechanism

在自然生长条件下,植物生长遭受各种胁迫条件的危害,其中干旱、盐碱和高温是限制作物产量的主要的非生物胁迫因素,对农作物生长、发育、结实造成了严重的影响,是全球减产的重要原因^[1-2]。当前,全球农业生产都面临着严重的水资源缺乏问题,我国干旱和半干旱土地占全国总耕地面积一半以上,并且大部分是没有灌溉条件的旱地,目前以至未来我国作物生产面临的很大威胁就是缺水。我国受干旱威胁的耕地面积为3.26亿亩,每年由于缺水造成粮食减产100亿kg以上,损失达200多亿元^[3]。此外,我国是盐碱地大国,主要分布在西北、东北等地区,盐碱荒地和影响耕地的盐碱地总面积超过5亿亩,其中可以恢复正常农业发展的占中国耕地总面积10%以上。土壤含盐量过高会导致土壤溶液水势降低,减弱植物的吸水能力,引起体细胞水分外渗,影响植物的生长速率,最终导致死亡^[4-6]。众所周知,植物只有在一定温度范围内才能维持正常生长,高温胁迫是全球农业生产的一个威胁,其破坏力与气候变化息息相关。当植物处于干旱状态或特殊发育时期如花粉发育时,高温的影响是致命性的^[7-8],高温环境会缩短整个生长周期,影响作物生长时对光的感应以及碳同化(光合作用、蒸腾作用等)过程,进而导致农作物产量降低。因此,研究植物对干旱、高盐 and 高温等非生物胁迫的抵御反应,对于探索植物抗逆性,维持其在逆境环境中的生长生存、稳定农业可持续发展具有非常重要的意义。

植物逆境胁迫应答反应是一个涉及多基因、多信号传导途径及多基因表达产物的复杂过程,其中蛋白激酶通过感知外界胁迫信号,改变细胞内一系列离子或分子浓度,启动相应的生理生化反应来减缓逆境胁迫对植物的伤害^[9]。植物从感知非生物逆境胁迫信号、传递信号至作出响应等一系列信号传导过程当中,蛋白激酶作为开关发挥着重要作用。植物通过对底物蛋白的磷酸化或去磷酸化作用激活或者抑制其活性,启动或关闭信号的传递,从而促进或抑制非生物逆境胁迫相关基因的表达,以达到抵

御非生物逆境胁迫的目的。近年来,关于蛋白激酶的功能及其具体作用机制的研究已成为植物分子生物学等领域的研究热点。由于蛋白激酶种类繁多,群体数量大,因而在其功能上具有丰富的多样性,不同家族的蛋白激酶具有不同的功能,甚至同一家族内的蛋白激酶也具有不同的功能。因此,研究蛋白激酶在改良作物非生物胁迫抗性上的功能和机理对促进作物生产有着重要意义。本文旨在探索蛋白激酶在提高作物非生物胁迫抗性上的作用,并提出了今后的研究重点,为进一步了解和研究作物抗逆提供资料。

1 蛋白激酶的分类

蛋白激酶是一类催化特定蛋白质的酶,其丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基可发生共价磷酸化^[10],它能够改变蛋白质分子的氨基酸残基,使其发生磷酸化或自磷酸化作用来调控下游的信号传递网络。蛋白质的磷酸化和去磷酸化决定蛋白质的构象和酶活,影响细胞内信号的传递,从而对外界刺激作出相应的反应。根据其底物特异性主要分为五大类:丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、酪氨酸蛋白激酶、组氨酸/精氨酸/赖氨酸蛋白激酶、半胱氨酸蛋白激酶和天冬酰胺基/谷氨酰胺基蛋白激酶^[11],但是目前研究最多的是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和酪氨酸蛋白激酶。

蛋白激酶参与多种植物生理生化信号转导机制,按其功能性可分为:类受体蛋白激酶(RLK, receptor-like protein kinase),组成植物信号转导网络,参与调控生长发育^[12];促分裂原活化蛋白激酶(MAPK, mitogen activated protein kinase),构成MAPK级联信号途径,转导环境刺激信号^[13];钙离子依赖的蛋白激酶(CDPK, calcium dependent protein kinase),感受钙离子,促进植物调控自身代谢^[14];钙调磷酸酶B类蛋白互作蛋白激酶(CIPK, calcineurin B-like protein interacting protein kinase),钙离子感受器,传递胁迫信号^[15];蔗糖非酵解型蛋白激酶(SnRK,

sucrose non-fermenting-1-related protein kinase) 等。

2 植物蛋白激酶与作物非生物胁迫抗性

环境胁迫对于作物生产影响日益严重,如何减少环境胁迫对农业生产的损失显得尤为重要。蛋白激酶因其种类繁多、功能多样已成为植物分子生物学等领域的研究热点,将蛋白激酶与作物抗逆的研究结合有着举足轻重的意义。目前已经证实一些蛋白激酶参与植物应对非生物逆境胁迫的响应过程,包括 RLKs、CDPKs、CIPKs 和 SnRKs 等。

2.1 RLKs 参与作物抵抗非生物胁迫

RLKs 基因家族是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在植物中广泛存在,在拟南芥中有 610 个成员,在水稻中 1132 个成员^[16]。RLKs 具有调控植物发育、提高抗病性、感知激素信号和自交不亲和的保守区。大部分 RLKs 是质膜蛋白,也有小部分出现在其他位置,比如细胞壁相关激酶(WAKs, the wall-associated kinases)定位在细胞壁的果胶层^[17]。典型的 RLK 蛋白包含蛋白激酶催化结构域(PKC, protein kinase catalytic domain)、跨膜结构域(TM, transmembrane domain)和细胞外配体结构域(ECLB, extracellular ligand-binding domain)^[18]。PKC 位于细胞内,是植物信号级联放大传递下游信号的核心,主要通过磷酸化和去磷酸化作用来改变蛋白电荷或蛋白构象,以促进或抑制下游基因的表达。TM 是信号传输装置,由 22~28 个氨基酸组成,连接细胞内和细胞外,并向胞内传递信号。ECLB 是信号组合的关键,不同的 RLKs 有不同的 ECLB,其多样性使得 RLKs 具有不同的功能,且大部分 ECLB 包含具有信号识别作用的 N-末端信号肽^[19]。

RLK 所含有的蛋白结构使其在植物感知转导信号中发挥重要作用,此外,在作物应对多种非生物逆境胁迫响应过程中也扮演着重要的角色。水稻是重要的粮食作物,也是研究单子叶植物的模式植物。表达谱分析不同组织中水稻 RLK 基因,发现与种子发育有关,并且参与了水稻对非生物逆境胁迫及植物激素的响应过程^[20]。脱落酸(ABA, abscisic acid)是应对多种环境刺激调控植物响应的最主要的植物激素,ABA 在 RLK 应对干旱的响应中具有重要作用。FON1 是水稻中富亮氨酸重复的受体蛋白激酶,不仅参与调控植物的营养生长和生殖生长,还可通过改变 ABA 响应基因的表达水平介导水分胁迫响应和种子萌发^[21]。过表达 *FON1* 的转基因植株

抗旱性增强, H_2O_2 和丙二醛含量降低。在转录水平上,胁迫相关基因和 ABA 响应基因(如 *LEA3*、*OsbZIP46*、*APX3*、*APX5* 和 *CATB*)表达上调。FON1 还可磷酸化 ABA 信号通路的关键成分,激活 ABA 的信号,诱导干旱胁迫的响应。

此外,野生大豆 *GsSRK* 是一个丝氨酸/苏氨酸受体蛋白激酶,受 ABA、旱和盐诱导表达,相对于野生拟南芥,*GsSRK* 过表达株系在盐胁迫下表现为较高的叶绿素含量、更低的离子渗透,表明其在盐胁迫反应中起作用^[22]。RPK1 是结合在膜上的受体蛋白激酶,过表达 RPK1 蛋白的转基因拟南芥植株抗旱性增强,功能缺失突变体 *rpk1-1* 对水分减少高度敏感^[23]。温度、旱、盐和 ABA 处理可以改变 *GsLRPK* 的转录水平,拟南芥中过表达 *GsLRPK* 能提高冷响应标记基因的表达,增强其抗冷性^[24]。

2.2 CDPKs 参与作物抵抗非生物胁迫

CDPKs 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由可变的 N-末端结构域及多个功能域组成,如蛋白激酶催化区、自抑制结构域和 C-末端可变区的钙调蛋白结构域^[25]。N-末端结构域高度可变,常含有棕榈酰化位点或豆蔻酰化位点,这与亚细胞定位及 Ca^{2+} 缺失情况下催化结构域激酶活性抑制有关^[26],CDPK 功能的特异性由这些可变结构域决定。钙调蛋白域通常包含 1~4 个结合 Ca^{2+} 的 EF 手结构,并通过结合 Ca^{2+} 来激活 CDPKs 的功能^[27]。

研究发现 CDPKs 在多种作物应对旱、盐和低温等非生物逆境的抵抗过程中起作用。例如,*VaCPK20* 的过表达增加了拟南芥干旱和低温胁迫下的成活率,结果表明 *VaCPK20* 可能作为调节因子参与寒冷和干旱胁迫反应通路^[28]。过表达 *AtCPK6* 拟南芥植株对盐/旱胁迫有更强的抗性,其作用机制是影响脯氨酸和丙二醛的含量,实时荧光定量 PCR 表明过表达植株中胁迫诱导的基因表达量也有所变化,这些结果说明 *AtCPK6* 正向调控拟南芥的盐/旱胁迫^[29]。生理分析表明,*OsCPK9* 通过提高气孔关闭和改善植物的渗透调节能力来提高植物对干旱胁迫的耐受性,此外,*OsCPK9* 还可增加逆境应答基因的转录水平^[30]。玉米 *ZmCPK4* 转录本受多种胁迫和信号分子诱导,*ZmCPK4*-GFP 融合蛋白的瞬时表达显示其定位在细胞膜,过表达 *ZmCPK4* 的转基因拟南芥植株在种子萌发、幼苗生长和气孔运动方面表现对 ABA 的敏感性,且增强了对干旱胁迫的抗性。实验结果表明 *ZmCPK4* 在响应干旱胁迫的过程中也参与了 ABA 诱导的气孔关闭,其信号交叉关

系还有待进一步探索^[31]。

2.3 MAPKs 参与作物抵抗非生物胁迫

MAPKs 是 MAPK 级联途径的重要组分,根据氨基酸序列的系统发育关系和磷酸化结构域可将植物 MAPKs 分为 A、B、C 和 D 四组,A、B 和 C 组成员的磷酸化位点含有 TEY 基序,而 D 组成员含有 TDY 基序并形成更遥远的分支^[32]。不同物种基因组中含有的 MAPK 基因数量有所差异,如拟南芥基因组有 20 个,水稻基因组至少含有 17 个,白杨中含有 21 个,番茄中含有 16 个^[33-35]。

MAPKs 对于维持植物正常生长发育至关重要,参与了多种非生物逆境胁迫响应过程。玉米 D 组 ZmMPK17 定位于细胞核,Northern 杂交分析表明 ZmMPK17 参与外源信号分子如 ABA、过氧化氢、水杨酸、茉莉酸和乙烯诱导的低温胁迫。低温处理过表达 ZmMPK17 的烟草植株,发现其通过较少活性氧的积累维持抗氧化防御系统的稳定,以提高植株耐寒性^[36]。生理参数分析表明,ZmMAPK1 的过表达可以增加干旱胁迫时拟南芥植株中脯氨酸含量,降低丙二醛含量,并防止高温胁迫时叶绿素损失、清除产生的活性氧;ZmMAPK1 的过表达增强了拟南芥在干旱和高温胁迫下的成活率,这为进一步探索 MAPK 响应植物逆境分子机制提供了新的见解^[37]。试验分析水稻 MAPK 基因家族发现,OsmAPK5 受非生物胁迫如干旱、盐和低温等诱导表达,而且 OsmAPK5 增强了过表达植株幼苗的抗旱性、耐盐性和抗冷性^[38]。过表达 SpMPK3 增强了转基因拟南芥在早、盐等渗透胁迫下的萌发率及抗氧化能力^[39]。

2.4 SnRKs 参与作物抵抗非生物胁迫

SnRKs 在植物中广泛存在,根据其蛋白结构可分为 SnRK1、SnRK2 和 SnRK3 三个亚家族^[40]。目前对于 SnRK2 的研究比较深入,主要参与植物对非生物胁迫的响应,并与 ABA 依赖性的植物发育密切相关。根据能否被 ABA 激活可将 SnRKs 分为 3 类:不被 ABA 激活、激活作用很弱、激活作用强^[41]。分析不同物种间 SnRK2s 的进化同源性发现,小麦、水稻和玉米 SnRK2 家族分别含有 10、10 和 11 个成员^[42-44],其中被 ABA 强烈诱导的 TaSnRK2s 亚族参与 ABA 调控的胁迫响应。ABA 依赖性胁迫信号途径包括 PYR/PYL/RCARs-PP2C-SnRK2 途径,其在非生物胁迫响应中起到重要作用^[42]。PYR/PYL/RCAR 为 ABA 受体,ABA 缺失时,A 蛋白磷酸酶 2C (PP2C, group-A protein phosphatases 2C) 通过去磷酸

化作用抑制 SnRK2;植物受到环境胁迫时,细胞中 ABA 累积,高浓度的内源 ABA 被 PYR/PYL/RCARs 蛋白识别,PP2C 活性被抑制,SnRK2 蛋白通过磷酸化作用触发 ABA 响应基因的表达,从而在应对环境胁迫中发挥作用。

表达模式分析显示小麦 TaSnRK2.7 基因在根中表达量很高,对聚乙二醇、NaCl 和低温胁迫有响应。将 TaSnRK2.7 转入拟南芥中进行功能分析,发现其参与碳水化合物代谢,调控渗透势,增强光合系统 II 活性,促进植物根系生长发育,增强对多种非生物逆境的抗性^[45]。水稻 SAPK9 基因属于 OsSnRK2s 家族,SAPK9 转录本在干旱胁迫和 ABA 处理时表达上调;相比基因沉默株系和非转基因植株,转基因株系生理指标(保水性、可溶性糖和脯氨酸含量、气孔关闭、膜稳定性)的变化使其具有更好的抗旱性,证明 SAPK9 在增强作物抗旱性和提高作物产量方面具有潜在价值^[46]。烟草 NtSnRK2.7 和 NtSnRK2.8 基因均参与 ABA 响应,NtSnRK2.7 对低温和盐胁迫响应较快,NtSnRK2.8 对渗透胁迫比较敏感,说明 NtSnRK2.7 和 NtSnRK2.8 以不同的方式应对环境逆境^[47]。

2.5 其他蛋白激酶参与作物抵抗非生物胁迫

CIPKs 在植物中广泛存在,主要参与 Ca²⁺ 调控的信号转导,并在生物胁迫、非生物胁迫和营养缺失的响应中起作用^[48]。钙调磷酸酶 B 类蛋白(CBLs)与 CIPKs 构成一个复杂的信号网络,介导植物应对非生物胁迫的响应。分析拟南芥 CIPK21 的功能发现其在多种非生物胁迫下表达量上调,并且通过调节细胞液泡膜内离子和水平衡来应对盐胁迫,CIPK21 功能缺失突变体 *cipk21* 对高盐和渗透压力条件极为敏感^[49]。HbCIPK2 受盐、早、ABA 诱导表达,过表达 HbCIPK2 可恢复拟南芥突变体 *sos2-1* 对盐胁迫的高敏感性,增强野生型拟南芥的耐盐性;HbCIPK2 通过维持体内 Na⁺/K⁺ 平衡来保护根细胞活性,推测其可能参与短芒大麦草的盐信号通路^[50]。在聚乙二醇、ABA 和 H₂O₂ 处理时,小麦 TaCIPK2 基因表达上调;TaCIPK2 与 TaCBL1、2、3、4 相互作用,转基因植株在渗透胁迫和干旱胁迫下具有更高的成活率,表明其在干旱胁迫反应中起到了积极的调节作用^[51]。K. Zhu 等^[52]发现大豆 CIPK 基因家族的大部分基因受干旱诱导表达,这为揭示 CIPK 在大豆抗旱上的功能研究提供了基础。

其他胁迫相关的蛋白激酶在植物响应干旱、高盐等不良环境因素时也发挥着重要的作用。比如,

拟南芥渗透胁迫激活蛋白激酶 SRK2C 通过促进逆境应答基因,如 RD29A、COR15A 等的上调显著影响抗旱性,且其基因敲除突变体表现对干旱的高敏感性^[53]。

3 蛋白激酶响应植物非生物胁迫抗性的分子机制

大量研究表明蛋白激酶参与多种环境胁迫信号响应,但是在感知、传递胁迫信号时具体的作用机制还有待进一步探索。本文以 CBLs、CIPKs 和 CDPKs 在植物根细胞应对盐胁迫调控中的作用以及 MAPK 级联途径为例,简要阐述蛋白激酶在非生物逆境胁迫响应调控中的分子机制。

植物根细胞应对盐胁迫时会产生一系列复杂的调控网络(图 1)。土壤中含有较高的盐离子时会使根细胞处于高渗胁迫下,植物响应盐胁迫的过程就是抵抗 Na⁺ 侵害的过程。首先,Na⁺ 通过阳离子通道(NSCC)或其他未知的跨膜转运蛋白进入细胞。植物胁迫信号感应与 Ca²⁺ 通道有关,钙调蛋白(CaM, calmodulin)、CBL 和 CDPK 是植物中存在的感知钙离子的重要基因家族。CaM 和 CBL 通过 Ca²⁺ 诱导的蛋白构象改变传递信号,CDPK 具有 Ca²⁺ 感知和响应作用^[54]。Na⁺ 进入细胞后,信号识别系统被激活,如 Ca²⁺、ROS 和激素信号转导级联放大。CBLs、CIPKs、CDPKs 是 Ca²⁺ 信号通路的一部分,在感知胁迫信号过程中起到关键作用。信号识

别蛋白激酶激活之后,将高渗透信号转移至下游转录因子如 NAC、WRKY、MYB 等,这些转录因子通过基因表达水平的改变影响植物耐盐性,最终通过 SOS 途径将 Na⁺ 排出细胞或者将 Na⁺ 转移至液泡中,以减少毒性离子对细胞的伤害,维持细胞的正常功能^[55]。烟草中过表达小麦 TaCIPK14 基因发现,在盐胁迫条件下,细胞内叶绿素、糖含量增加,过氧化氢酶活性增强,过氧化氢、丙二醛含量下降,离子渗透减少。TaCIPK 的过表达还能提高种子萌发率,促进根的生长,降低 Na⁺ 浓度,增强植株对盐胁迫的抗性^[15]。

MAPK 级联途径是存在于包含酵母、动植物等所有真核生物中高度保守的信号转导模式,调控多种细胞外刺激信号在细胞内的传递和放大,以产生相应的生理生化响应。MAPK 激酶(MAPK kinase, MAPKK)、MAPKK 激酶(MAPKK kinase, MAPKKK)是 MAPK 途径的重要组分,通常 MAPKKK 或 MAPKK 通过保守区丝氨酸和酪氨酸残基的磷酸化作用激活 MAPK^[13]。植物受到环境胁迫时会激活 MAPK 级联途径,ROS 是植物维持正常代谢发挥细胞功能信号途径中重要的次级信使(图 2)^[56]。植物感知非生物胁迫信号,将信号传递给 ROS,然后通过一系列磷酸化作用,信号级联放大,依次被传递给 MAPKKK、MAPKK、MAPK,调控相关基因的表达,促使植物响应逆境胁迫^[57]。烟草中过表达棉花 GhMKK3 基因可增强对干旱的耐受性,RNA 序列和实

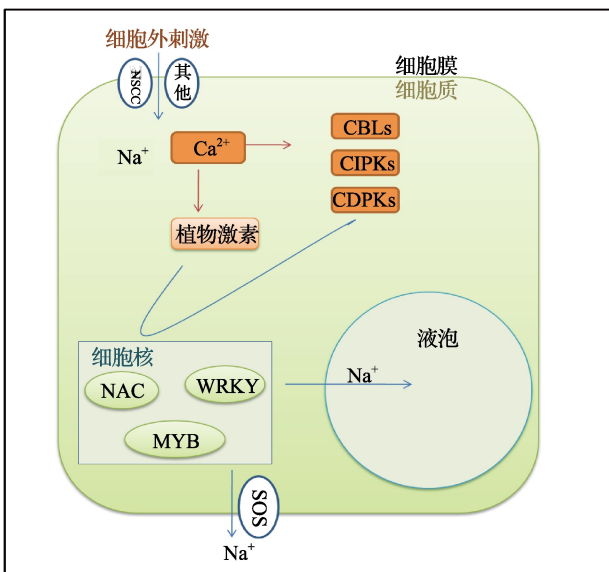


图 1 植物根细胞响应盐胁迫信号时 Na⁺ 转移机制^[47]
Fig. 1 Mechanism of Na⁺ transport in response to salt stress in plant root cells^[47]

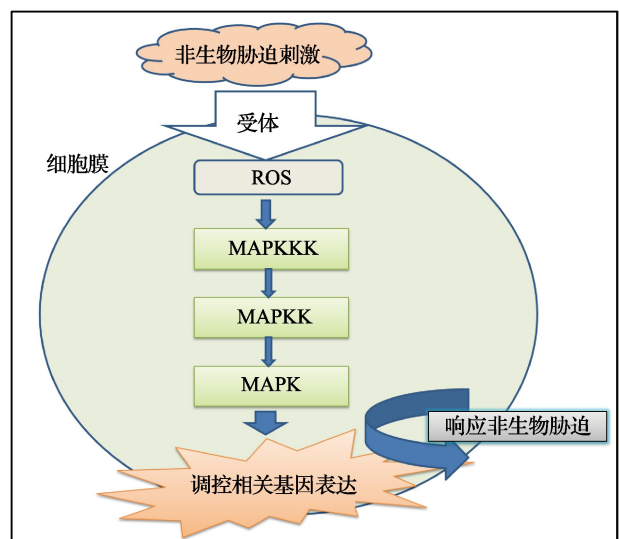


图 2 ROS 调控的 MAPK 信号通路响应非生物胁迫示意图
Fig. 2 Schematic representation of ROS regulation of MAPK signaling pathway in abiotic stresses

时荧光定量 PCR 结果表明 *GhMKK3* 通过调控气孔响应和根毛生长应对非生物胁迫。棉花干旱胁迫条件下, ABA 和干旱诱导的 MAPK 途径由 *GhMKK3*、*GhMPK7* 和 *GhPIP1* 组成^[13]。

4 展望

植物的整个生命周期会遭受许多环境胁迫及自然灾害, 粮食作物、果树、蔬菜以及其他与农业生产相关的经济作物, 其产量质量会受到直接影响。干旱、高盐和高温是影响作物生产的主要的非生物逆境因素, 这些胁迫严重影响了各种农作物和经济作物的生长^[58]。植物响应非生物逆境胁迫时会产生多种生理生化变化, 产生多种渗透调节物质如可溶性糖、糖醇、脯氨酸、有机酸、甜菜碱、海藻糖等, 保护细胞中的酶和小分子物质免受活性氧的破坏^[59]。同时, 在植物体内生长素、ABA、油菜素内酯等激素通过调节其活性、浓度和分布来缓解逆境对植物细胞的影响。

随着基因工程研究的深入, 研究者对于植物抗逆不再驻足于生理生化变化, 分子水平的探索引起更大的关注, 蛋白激酶在植物应对非生物逆境抗性上的应用得到广泛的重视。目前已发现多种蛋白激酶参与了植物应对干旱、高盐和低温等非生物胁迫的响应, 小麦、玉米和水稻等作物中含多种类型蛋白激酶可提高植物抗性, 同一蛋白激酶可能与多种胁迫信号相关, 如水稻 *OsMAPK5* 基因增强了过表达植株幼苗的抗旱性、耐盐性和抗冷性^[38], 野生大豆 *GsSRK* 基因受 ABA、早和盐诱导表达^[22], 林烟草 *NsYLIPK3* 在高盐、低钾条件下表达上调, 可能与 *NsYLIPK9* 互作形成信号通路, 激活下游靶蛋白, 促进对非生物逆境胁迫的响应^[60]。植物遭受早、盐和高温和非生物逆境时会导致体内激素水平的改变, 某种激素或者不同激素共同作用来提高植物抗逆性, 蛋白激酶可以通过调节激素水平影响作物抗性。*SnRK2.2*、*SnRK2.3* 和 *SnRK2.6* 蛋白激酶通过磷酸化作用激活转录因子 ABA 应答元件结合因子, 从而正向调控 ABA 信号响应^[61]。CDPKs 通过调控 ABA 信号和减少活性氧物质的积累来降低非生物胁迫对植物的伤害, 如水稻中, *OsCDPK14* 磷酸化下游基因 *OsDi19-4*, 改变 ABA 相关基因的表达量, 正向调控 ABA 响应来维持胁迫环境下植物的正常生长^[62]。研究发现蛋白激酶参与体内多种信号途径, 植物通过蛋白相互磷酸化或者自磷酸化来调整其在体内的活性, 进而能在逆境环境下更好的生存。虽然当前

很多研究证明了蛋白激酶提高植物抵抗非生物胁迫上所发挥的重要作用, 但是蛋白激酶参与的不同信号途径错综复杂或有交叉, 不同基因发挥作用的关联性和同一基因抵抗不同胁迫的功能差异性以及各种信号途径的交叉性均有待于进一步研究。

目前关于蛋白激酶在改良作物非生物胁迫抗性上的研究大部分都是发现新基因, 分析该基因在干旱、高温、高盐 and 不同激素处理下的表达模式, 使该基因在模式植物拟南芥或烟草中过表达, 鉴定过表达植株的抗性, 探索该基因对抗逆相关响应因子的关系, 明确该基因可以提高植株对某种非生物胁迫的抗性, 而只有更加深入地研究蛋白激酶的抗性机理, 才能发挥其对改良作物抗逆性所具有的指导意义和实用价值。蛋白激酶通过磷酸化或去磷酸化作用发挥功能, 某一个或某几个氨基酸位点的替换或缺失会导致功能的丧失, 接下来的研究重点应致力于更加精确地定位蛋白激酶发挥作用的氨基酸位点, 通过定点突变的方式多方位探测其功能。鉴定过表达植株抗性时应将基因转入原物种而非模式植物, 这还需要分子试验技术的进步。

纵观当下环境变化规律, 全球日益变暖的趋势对农作物的影响将会越来越明显。植物在营养生长时遭受高温胁迫导致许多生理和代谢的变化, 其中包括体内激素平衡的改变。此外, 高温引起的光合作用和呼吸作用不平衡会导致严重的氧化损伤, 而植物耐热性与高活性的过氧化氢酶和超氧化物歧化酶、高含量的抗坏血酸参与调控有关^[63]。高温胁迫会影响植物种子发芽率和光合效率, 还会通过阻碍花药中花粉粒的发芽来减少小穗数量, 从而影响作物产量^[64]。研究发现多种蛋白激酶基因家族, 如 CDPK、CIPK 等在干旱、盐的抗性上功能显著, 与之相比, 关于蛋白激酶在抵抗高温胁迫的研究并不深入, 发现的抗高温基因较少。高温改变植物细胞膜的流动性, 细胞内 Ca^{2+} 浓度增加, 从而激活 CDPK、MAPK 的活性, 将信号传递至细胞核, 诱导热激相关基因的表达^[65], 但是还需继续解读抗高温基因的具体作用机制。因此, 挖掘更多有应用价值的植物蛋白激酶基因, 深入研究蛋白激酶在高温胁迫下的功能, 探索其抗性机理对提高作物耐热性具有重要意义。

参考文献

- [1] Xu Z S, Chen M, Li L C, et al. Functions of the ERF transcription factor family in plants[J]. Botany, 2008, 86: 969-977
- [2] Xu Z S, Chen M, Li L C, et al. Functions and application of the

- AP2/ERF transcription factor family in crop improvement [J]. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53:570-585
- [3] 邓楠. 制定农业科技发展纲要, 推动农业科技革命 [J]. *中国农业科技导报*, 1999(2):3-8
- [4] Haseqawa P M, Bressan P A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular response to high salinity [J]. *Plant Biol*, 2000, 51(51):463-499
- [5] Zhu J K. Plant salt tolerance [J]. *Trends Plant Sci*, 2001, 6:66-71
- [6] Boudsocq M, Lauriere C. Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138:1185-1194
- [7] Lobell D B, Schlenker W, Costa-Roberts J. Climate trends and global crop production since 1980 [J]. *Science*, 2011, 333(6042):616-620
- [8] Suzuki N, Rivero R M, Shulaev V, et al. Abiotic and biotic stress combinations [J]. *New Phytol*, 2014, 203(1):32-43
- [9] Liu P, Xu Z S, Lu P, et al. A wheat *PI4K* gene whose product possesses threonine autophosphorylation activity confers tolerance to drought and salt in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(10):2915-2927
- [10] 赵琳琳, 徐启江, 姜勇, 等. 生物和非生物胁迫下的植物细胞中丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号转导 [J]. *植物生理学报*, 2008, 44(1):169-174
- [11] 张春宝, 赵红梅, 赵洪锟, 等. 植物蛋白激酶研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(10):16-21
- [12] 曹玉婷, 丁艳菲, 朱诚. 类受体蛋白激酶与植物非生物胁迫应答 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30(3):241-247
- [13] Chen W, Lu W, He X, et al. The cotton mitogen-activated protein kinase kinase 3 functions in drought tolerance by regulating stomatal responses and root growth [J]. *Plant Cell Physiol*, 2016, 57(8):1629-1642
- [14] 耿帅锋, 赵永亮, 李爱丽, 等. 植物钙依赖性蛋白激酶的进化和功能研究进展 [J]. *河南工业大学学报: 自然科学版*, 2010, 31(5):86-92
- [15] Deng X, Zhou S, Hu W, et al. Ectopic expression of wheat *TaCIPK14*, encoding a calcineurin B-like protein-interacting protein kinase, confers salinity and cold tolerance in tobacco [J]. *Physiol Plantarum*, 2013, 149(3):367-377
- [16] Shiu S H, Karolowski W M, Pan R, et al. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(5):1220-1234
- [17] Lim C W, Yang S H, Shin K H, et al. The *AtLRK10L1.2*, *Arabidopsis*, ortholog of wheat *LRK10*, is involved in ABA-mediated signaling and drought resistance [J]. *Plant Cell Rep*, 2015, 34(3):447-455
- [18] Greeff C, Roux M, Mundy J, et al. Receptor-like kinase complexes in plant innate immunity [J]. *Front Plant Sci*, 2012, 3(4):264-270
- [19] Ye Y, Ding Y, Jiang Q, et al. The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants [J]. *Plant Cell Rep*, 2017, 36(2):235-242
- [20] Gao L L, Xue H W. Global analysis of expression profiles rice receptor-like kinase genes [J]. *Mol Plant*, 2012, 5(1):143-153
- [21] Feng L, Gao Z R, Xiao G Q, et al. Leucinerich repeat receptor-like kinase FON1 regulates drought stress and seed germination by activating the expression of ABA responsive genes in Rice [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2014, 32(6):1158-1168
- [22] Sun X L, Yu Q Y, Tang L L, et al. GsSRK, a G-type lectin S-receptor-like serine/threonine protein kinase, is a positive regulator of plant tolerance to salt stress [J]. *J Plant Physiol*, 2013, 170(5):505-515
- [23] Osakabe Y, Mizuno S, Tanaka H, et al. Overproduction of the membrane-bound receptor-like protein kinase 1, RPK1, enhances abiotic stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(12):9190-9201
- [24] Yang L, Wu K, Gao P, et al. GsLRPK, a novel cold-activated leucine-rich repeat receptor-like protein kinase from *Glycine soja*, is a positive regulator to cold stress tolerance [J]. *Plant Sci*, 2014, 215-216:19-28
- [25] Cheng S H, Willmann M R, Chen H C, et al. Calcium signaling through protein kinases, the *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family [J]. *Plant Physiol*, 2004, 129(2):469-485
- [26] Ishino T, Orito Y, Chinzei Y, et al. A calcium-dependent protein kinase regulates Plasmodium ookinete access to the midgut epithelial cell [J]. *Mol Microbiol*, 2006, 59(4):1175-1184
- [27] Snedden W A, Fromm H. Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plants [J]. *New Phytol*, 2001, 151(1):35-66
- [28] Dubrovina A S, Kiselev K V, Khristenko V S, et al. VaCPK20, a calcium-dependent protein kinase gene of wild grapevine *Vitisamurensis Rupr.*, mediates cold and drought stress tolerance [J]. *J Plant Physiol*, 2015, 185:1-12
- [29] Xu J, Tian Y S, Peng R H, et al. AtCPK6, a functionally redundant and positive regulator involved in salt/drought stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2010, 231(6):1251-1260
- [30] Wei S, Hu W, Deng X, et al. A rice calcium-dependent protein kinase OsCPK9 positively regulates drought stress tolerance and spikelet fertility [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, 14:133
- [31] Jiang S, Zhang D, Wang L, et al. A maize calcium-dependent protein kinase gene, *ZmCPK4*, positively regulated abscisic acid signaling and enhanced drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2013, 71:112-120
- [32] Liu Y, Zhang D, Wang L, et al. Genome-wide analysis of mitogen-activated protein kinase gene family in maize [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2013, 31(6):1446-1460
- [33] Reyna N S, Yang Y. Molecular analysis of the rice MAP kinase gene family in relation to *Magnaporthe grisea* infection [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19(5):530-540
- [34] Nicole M C, Hamel L P, Morency M J, et al. MAP-ping genomic organization and organ-specific expression profiles of poplar MAP kinases and MAP kinase kinases [J]. *BMC Genomics*, 2006, 7:223
- [35] Kong F, Wang J, Cheng L, et al. Genomewide analysis of the mitogen-activated protein kinase gene family in *Solanum lycopersicum* [J]. *Gene*, 2012, 499:108-120
- [36] Pan J, Zhang M, Kong X, et al. *ZmMPPK17*, a novel maize group D MAP kinase gene, is involved in multiple stress responses. [J]. *Planta*, 2012, 235(4):661-676
- [37] Wu L, Zu X, Zhang H, et al. Overexpression of *ZmMAPK1* enhances drought and heat stress in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 2015, 88(4-5):429-443
- [38] Xiong L, Yang Y. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(3):745-759
- [39] Li C, Chang P P, Ghebremariam K M, et al. Overexpression of tomato *SpMPK3* gene in *Arabidopsis* enhances the osmotic tolerance [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 2014, 443(2):357-362
- [40] 孔伟胜, 刘言, 王林娟, 等. 植物 SnRK 家族的研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2016(4):413-422
- [41] Kulik A, Wawer I, Krzywinska E, et al. SnRK2 protein kinases-key regulators of plant response to abiotic stresses [J]. *Omics*, 2011, 15(12):859-872
- [42] Zhang H, Li W, Mao X, et al. Differential activation of the wheat SnRK2 family by abiotic stresses [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7(106):420
- [43] Saha J, Chatterjee C, Sengupta A, et al. Genomewide analysis and evolutionary study of sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2 (*SnRK2*) gene family members in *Arabidopsis* and *Oryza*

- [J]. *Comput Biol Chem*,2014,49(4):59-70
- [44] Huai J, Wang M, He J, et al. Cloning and characterization of the *SnRK2* gene family from *Zea mays*[J]. *Plant Cell Rep*,2008,27(12):1861-1868
- [45] Zhang H, Mao X, Jing R, et al. Characterization of a common wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaSnRK2.7* gene involvement in abiotic stress responses[J]. *J Exp Bot*,2011,62(3):975-988
- [46] Dey A, Samanta M K, Gayen S, et al. The sucrose non-fermenting 1-related kinase 2 gene *SAPK9* improves drought tolerance and grain yield in rice by modulating cellular osmotic potential, stomatal closure and stress-responsive gene expression[J]. *BMC Plant Biol*,2016,16(1):1-20
- [47] Zhang H, Jia H, Liu G, et al. Cloning and characterization of *NtSnRK2.7* and *NtSnRK2.8* genes involved in abiotic stress responses from *Nicotiana tabacum*[J]. *Acta Physiol Plant*,2014,36(7):1673-1682
- [48] Sanyal S K, Rao S, Mishra L K, et al. Plant stress responses mediated by CBL-CIPK phosphorylation network[J]. *Enzymes*,2016,40:31-64
- [49] Pandey G K, Kanwar P, Singh A, et al. Calcineurin B-Like protein-interacting protein kinase CIPK21 regulates osmotic and salt stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*,2015,169(1):780-792
- [50] Li R, Zhang J, Wu G, et al. HbCIPK2, a novel CBL-interacting protein kinase from halophyte *Hordeum brevisubulatum*, confers salt and osmotic stress tolerance[J]. *Plant Cell Environ*,2012,35(9):1582-1600
- [51] Wang Y, Sun T, Li T, et al. A CBL-interacting protein kinase TaCIPK2 confers drought tolerance in transgenic tobacco plants through regulating the stomatal movement[J]. *PLOS One*,2016,11(12):e0167962
- [52] Zhu K, Fei C, Liu J, et al. Evolution of an intron-poor cluster of the CIPK gene family and expression in response to drought stress in soybean[J]. *Sci Rep*,2016,6(28225):28225
- [53] Umezawa T, Yoshida R, Maruyama K, et al. SRK2C, a SNF1-related protein kinase 2, improves drought tolerance by controlling stress-responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2004,101(49):17306-17311
- [54] Boudsoq M, Sheen J. CDPKs in immune and stress signaling[J]. *Trends Plant Sci*,2013,18(1):30-40
- [55] Deinlein U, Stephan A B, Horie T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms[J]. *Trends Plant Sci*,2014,19(6):371-379
- [56] Jalmi S K, Sinha A K. ROS mediated MAPK signaling in abiotic and biotic stress-striking similarities and differences[J]. *Front Plant Sci*,2014,6:769
- [57] Hamel L P, Nicole M C, Sritubtim S, et al. Ancient signals; comparative genomics of plant MAPK and MAPKK gene families[J]. *Trends Plant Sci*,2006,11(4):192-198
- [58] Boyer J S. Plant productivity and environment[J]. *Science*,1982,218(4571):443-448
- [59] Cechin I, Rossi S C, Oliveira V C, et al. Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit[J]. *Photosynthetica*,2006,44(1):143-146
- [60] 董连红, 史素娟, Nuruzzaman S M Manik, 等. 林烟草蛋白激酶 *NsyCIPK3* 基因的克隆与功能分析[J]. *植物遗传资源学报*,2015,16(3):633-639
- [61] Fujii H, Zhu J K. *Arabidopsis* mutant deficient in 3 abscisic acid activated protein kinases reveals critical roles in growth, reproduction, and stress[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2009,106(20):8380-8385
- [62] Wang L, Yu C, Xu S, et al. OsDi19-4 acts downstream of OsCDPK14 to positively regulate ABA response in rice[J]. *Plant Cell Environ*,2016,39(12):2740-2753
- [63] Fitter A, Hay R K M. *Environmental physiology of plants*[M]. London, UK: Academic Press, 1987
- [64] Jagadish S V K, Muthurajan R, Oane R, et al. Physiological and proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza Sativa* L.)[J]. *J Exp Bot*,2010,61(1):143-156
- [65] 刘克禄, 陈卫国. 植物耐热相关基因研究进展[J]. *植物遗传资源学报*,2015,16(1):127-132