

## 大叶藻耐盐机理的研究进展

邓文浩, 吕新芳\*

山东大学(威海)海洋学院, 山东威海264209

**摘要:** 大叶藻(*Zostera marina*)是典型的海洋盐生植物和重要的盐生植物资源, 本文从形态、生理和分子三个方面叙述了大叶藻对高盐环境的响应。传统研究多以形态结构的适应和生理机制的调节为主; 随着高通量测序技术的不断发展和大叶藻基因组序列信息的相继公布, 涉及其分子机制方面的研究日渐增多, 为研究典型耐盐植物的耐盐机理提供研究基础。

**关键词:** 大叶藻; 耐盐机理; 形态适应; 生理适应; 分子适应

全球盐碱地面积近10亿 $\text{hm}^2$ , 且世界耕地面积的近四分之一( $3.4 \times 10^8 \text{hm}^2$ )为盐渍土壤(Tanji 1990), 另有约20%的灌溉农业用地会受到不同程度次生盐碱化的影响(Chinnusamy等2005)。中国盐碱地面积约0.27亿 $\text{hm}^2$ , 由于人为破坏的因素又造成了近670万 $\text{hm}^2$ 的土地发生了次生盐碱化(吕贻忠和李保国2006), 且盐渍土壤面积占可耕地面积的约四分之一(郝金标等2006)。土壤盐碱化已成为限制农作物产量的主要因素(Munns 2002)。采用物理方法改善土壤的盐碱度可引发次生盐碱化, 易重新反盐且代价昂贵。因此, 研究典型耐盐植物的耐盐机理并提取其耐盐基因进行作物改良具有更加广泛的意义(Flowers和Colmer 2008)。然而, 海洋中的耐盐植物以进化上较为低等的藻类为主, 由于进化地位差异较大, 亲缘关系较远, 其耐盐基因在高等陆生农作物中难以应用。但海洋中存在一种特殊的高等植物类群——海草, 因其与农作物亲缘关系较近, 其耐盐基因与陆地农作物具有潜在的高度相似性, 容易直接被应用到陆地植物的作物改良中, 应用前景巨大。

大叶藻是生长在潮间带的经典海洋盐生植物, 属单子叶显花被子植物, 营沉水生活, 由陆生光合生物在进化过程中再次进入海洋进化而来, 在其逐渐向海洋环境过渡进化的过程中, 产生了一套高效的抗盐基因, 且具有不同于陆地被子植物的形态特征和生理机制, 特殊的进化过程使其形成了一套特殊的耐盐机制(Larkum等2006)。大叶藻的耐盐能力远高于陆生耐盐植物, 而其在进化上的地位又远高于海洋中的其他低等耐盐植物(例如藻类), 因此大叶藻是研究海洋高等植物耐盐机理的绝佳材料。

### 1 大叶藻耐盐机理研究进展

植物对盐度的响应历来备受科学家的关注, 从陆生植物对土壤盐度的适应到海洋植物对海洋盐度的适应, 都引起了科学家的广泛研究。盐度是影响海草存活、生长和分布的关键生态因子之一(Salo和Pedersen 2014), 全世界约五分之一的耕地和近一半的灌溉土地会受到盐度的影响, 高盐土壤造成植物中离子不平衡和高渗透胁迫, 进而导致如氧化损伤等次级胁迫(马欣荣2005)。海草可耐受高盐海水、短期盐度波动、低光强和海水中接收到的异于陆生被子植物的光谱等(李红2015)。海草被证明从细胞内离子浓度(包括有机渗透调节物质等)到细胞壁弹性等多方面形成多种适应盐度波动的机制; 另外, 短期和长期的盐度波动导致大叶藻具备不同的生理响应(Touchette 2007)。目前, 对于海草这一群体如何适应高盐度海水的理解还处于起步阶段, 对其耐盐机理也有了初步的认识。

大叶藻是海草的典型代表物种之一, 为多年生海草, 属被子植物门(Liliopsidal), 单子叶植物纲(Monocotyledoneae), 沼生目(Helobiae), 大叶藻科(Zosteraceae), 大叶藻属(*Zostera*)。大叶藻沿北半球沿海广泛分布, 通常在沿海或岛屿周围较浅的水域中形成较大的群落(Den 1970)。我国大叶藻的分布也十分广泛, 包括山东、河北、辽宁的沿海地区(赵可夫等2013), 沿海人民称之为海带草。

大叶藻是一年或多年生的海洋高等被子植物,

收稿 2017-10-13 修定 2018-04-24

资助 山东省自然科学基金培养基金(ZR2014DP006)和威海市海洋研究院项目(1070413421424)。

\* 通讯作者(lvxinfang@hotmail.com)。

其对高盐海水的适应一直是研究的重点。近些年来, 科研工作者分别从形态特征、显微结构、分子水平等方面对其耐盐机理进行研究, 为陆生植物盐胁迫响应机制的探讨、耐盐基因的进一步研究以及海草床的修复工程提供实验基础。

## 2 大叶藻对高盐环境的形态适应

大叶藻对海洋高盐环境的形态适应研究主要集中在对解剖结构的分析上。大叶藻的叶片状若海鳗, 是无机碳和其它营养元素的主要吸收部位, 叶顶钝圆, 全缘, 有5~7条平行叶脉(原永党等2010)。叶表皮细胞未成熟时胞壁较薄, 随成熟不断增厚, 表皮随之降解为薄薄的一层, 质膜外侧覆盖一层坚硬的物质, 起到保护叶片的作用(Jagels 1983)。在透射电镜下观察大叶藻的叶片, 发现叶表皮细胞的细胞壁与海水接触一侧显著增厚(叶春江和赵可夫2002)。Arai等(1991)发现未成熟叶片组织由紧紧包裹在外部的叶鞘层保护, 其细胞对盐度十分敏感, 但是具有传递细胞特性的成熟细胞却有着很高的耐盐性。实验观察发现, 大叶藻成熟叶表皮细胞中含有非球形的原生质体, 这一特点能使大叶藻承受更大范围渗透势和盐度的变化, 而未成熟叶表皮细胞中原生质为球形(叶春江和赵可夫2002)。非球形原生质体表面有许多凹陷, 可加速光合作用并促进 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 等向内层叶肉细胞的转移(Arai等1991)。大叶藻成熟叶片的原生质体大多数不是球形, 这也是大叶藻耐受高盐海水的一个重要原因。由此可见, 大叶藻的叶片在对海洋沉水生活的长期适应过程中形成了一些独特结构, 这也是大叶藻长期适应高盐环境的结果。

叶春江和赵可夫(2002)对根的超微结构进行观察, 发现其与叶表皮细胞之间存在较多不同之处: 根部表皮细胞的细胞壁增厚结构发生在各个侧面上, 而不是只有与海水的接触侧; 同时根表皮细的中央大液泡将细胞质挤成薄薄一层。原永党等(2010)发现大叶藻的须根存在较多气体空腔。有研究表明, 大叶藻幼苗根部气道直径和海水的盐度存在一定的正相关关系, 推测可能是不同切片位置造成的, 或是盐度影响了大叶藻的通气组织所致(明奕2011)。盐度的变化与大叶藻通气组织增大有无必然联系以及大叶藻通气组织的增大

对其耐盐性的影响, 都还有待进一步研究。研究其对盐渍逆境的适应性, 发现大叶藻的叶和根部的细胞渗透势约等于或稍低于海水, 从而可以从海水中吸收水分, 造成这一结果的主要原因是根部机械组织和细胞间蜡质层在吸水过程中对盐分进行了过滤(叶春江和赵可夫2002)。

原永党等(2010)对大叶藻生殖枝及花序进行了显微观察, 于函等(2007)还对大叶藻花序进行了扫描电镜观察。上述研究发现, 大叶藻生殖枝可以伸至透明度相对较大的水面层, 使肉穗花序和种子都位于水面层, 有利于其生殖; 显微镜下可以观察到佛焰苞着生花序轴的壁也存在较大的气体空腔, 有利于其沉水漂浮生活。研究表明盐度可影响大叶藻种子的萌发、幼苗的形成发育和存活以及其幼苗的光合、呼吸作用速率, 且降低盐度会促进大叶藻种子的萌发, 提高萌发率(刘云龙和张学雷2016)。大叶藻幼苗可适应的盐度范围较窄, 这可能是因为相较于种子期和成熟期, 幼苗期对盐度的变化具有更高的敏感性(Strazisar等2015)。我国研究者结合植株的形态学特征、幼苗存活率和生长率的适宜性分析同样得出大叶藻实生幼苗可适应较窄盐度范围的结论, 这与Salo和Pedersen(2014)的结论相一致(徐强等2015)。

## 3 大叶藻对高盐环境的生理适应

### 3.1 渗透调节

盐害主要分为离子胁迫(ion stress)和渗透胁迫(osmotic stress)两个方面, 为了保持在低水势时对水分的吸收, 植物必须积累无机离子或合成有机物质作为渗透调节剂(osmolytes), 以适应环境中的低渗透势。渗透调节是海草的耐盐机理中重要的一部分(Beer等1980), 研究发现大叶藻是通过无机离子与有机溶质的共同作用完成其渗透调节的, 即渗透调节是多物质共同作用的结果(叶春江和赵可夫2002)。经分析, 大叶藻叶片中 $\text{Na}^+$ 浓度明显高于 $\text{Cl}^-$ 浓度, 而实际当中海水中的两者之间的差异要小的多, 所以这种 $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ 之间的不平衡不是环境中 $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ 之间的不平衡造成的, 推测是因为细胞对 $\text{Cl}^-$ 的选择性更高, 或存在其它未知的阴离子, 它可以和 $\text{Na}^+$ 相互平衡, 使细胞呈电中性。

大叶藻还可通过离子区域化作用进行耐盐调

节,其发生在细胞内,包括叶肉细胞和叶表皮细胞,即相关离子会由叶表皮细胞进一步向叶肉薄壁细胞定向转移积累。研究发现作为大叶藻离子储存库的茎部其 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 远没有饱和,可适应更大盐度海水(明奕2011)。陆生盐生植物的离子区域化主要是发生于细胞内的,但大叶藻“离子区域化”不仅发生在细胞内,还包括可跨越细胞的 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 由叶表皮细胞向叶肉细胞再进一步向茎部薄壁细胞中定向转移和积累。据报道喜盐草属植物(*Halophila stipulacea*)和眼子菜科植物二药藻(*Halodule Uninervis*)将进入其叶表皮细胞(光合细胞)的 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 转入表皮下层细胞(几乎不含叶绿体)内(Beer等1980),这种光合与非光合细胞间的离子区域化作用与陆生盐生植物对盐离子的胞内区域化(由胞质进入液泡内)有很大差异。

有研究者发现大叶藻对短期和长期的盐度波动生理响应不同。对短期盐度波动的响应来自于对无机盐离子和有机渗透调节物质(如脯氨酸,糖类,有机酸等)的调节(Touchette 2007)。短期盐度波动会在一定程度上降低光合作用量子产率,但经过数天调整后会逐渐适应变化(Murphy等2003)。另一方面,在长期盐度波动环境下,海草的光饱和和光合速率( $P_{\max}$ )会受到显著影响(Shafer等2011),盐度、光照和温度和还会影响海草的碳固定、细胞呼吸和细胞内渗透压调节等一系列生理指标(Kaldy 2012)。Biebl和McRoy (1971)研究了大叶藻的光合作用和呼吸作用在不同温度和盐度胁迫下的变化规律,发现大叶藻对温度和盐度均具有较高的耐受性。

### 3.2 代谢酶的耐盐性

研究发现,高盐环境可使海草叶表皮细胞中碳同化酶的活性降低,但仍具有相当高的活性(Beer等1980),由此推断,海草传递细胞样的叶表皮细胞在高盐环境中保持较高的碳同化率至少是通过两个途径来完成的:即已进入表皮细胞的 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 向非光合细胞中的转移和碳同化酶的耐盐性这两个方面。这是一个非常重要的发现,因为以往发现的所有陆生盐生植物(除嗜盐古细菌之外)的胞内酶都不具有耐盐性(Flowers 1972)。嗜盐古细菌的胞内酶具嗜盐性,即酶的高催化活性的表达是以满足一定条件的盐度为前提的(Yeo 1998);海草中的胞内酶是否具有普遍耐盐性以及大叶藻中的

代谢酶对盐度的响应机制还有待进一步研究。

叶春江和赵可夫(2002)发现海草的耐盐性与其代谢酶的耐盐性具有一定的关联性,其他一些研究者也发现一些海草的代谢酶具有相当的耐盐性(Beer等1980)。但叶春江和赵可夫(2002)发现在体外大叶藻叶片中的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase, PEPC)对盐度并不敏感,而苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)却相反,表明不但体外较高的盐度对其活性有抑制作用而且体内增高的盐离子水平已对其活性产生了抑制作用。他们认为仅一两种酶对盐度的不敏感(如大叶藻中的PEPC)对植物的耐盐性并没有很大的科学意义,因而对“海草的耐盐性至少是由于其代谢酶的耐盐性造成的”这一说法存有疑议。对于代谢酶的耐盐性与植物耐盐性的关系众说不一,普遍认为代谢酶对植物的耐盐性有一定的影响,但并非因果关系,至少目前的研究还没有证据可以证明两者之间存在直接的因果关系,因而对于“海草的耐盐性是由代谢酶耐盐性引起的”这一说法存在争议。

## 4 大叶藻对高盐环境的分子适应

大叶藻作为高等植物却能够在高盐度的海水环境中生存,而且具有比其它陆生盐生植物更高的耐盐能力,其耐盐机制很早就引起了科学家的关注。不论其形态还是生理上对高盐的适应性,究其根本还是由其稳定的遗传特性决定的。分子生物学技术和手段的应用已从模式生物的研究逐渐扩展到海草研究领域,这将有助于阐明大叶藻耐盐的分子机制。与模式生物相比,大叶藻的分子生物学研究起步较晚(陈思婷和邱广龙2017),其在分子层面上对高盐的适应性也在逐渐成为研究的热点。

高通量测序技术发展迅速,对大叶藻的相关研究从形态生理生态学等宏观水平也逐渐上升到分子基因组的水平。Olsen等(2016)在Nature杂志上首次公布了大叶藻的基因组序列信息,将其基因组与植物界中13种代表性植物的基因组进行比对分析后发现,大叶藻在进化过程中丢失了一些基因家族,包括与气孔、萜类合成、乙烯信号以及紫外保护等相关的基因;与此同时,大叶藻获得

了一些新的基因来适应海洋环境, 例如光捕获蛋白等。大叶藻基因组为202.3 Mbp, 有趣的是, 另外一种海草植物——波喜荡草(*Posidonia oceanica*)的基因组为大叶藻的5倍(Barghini等2015), 这表明大叶藻和波喜荡草在分子水平上差异甚大。然而, 该研究并没有发现与大叶藻适应高盐环境相关的基因或代谢途径。该研究为大叶藻转录组测序提供了可靠的完整的比对数据库, 极大推动大叶藻分子生物学的研究, 为我们解析大叶藻的耐盐分子机理提供了基础保障。

2008~2011年间, 陆续有文献报道了运用高通量测序技术获得大叶藻响应不同温度胁迫的转录组信息, 为预测大叶藻如何响应全球气候变暖下引起的温度增高提供了重要的理论基础(Wissler等2009; Franssen等2011; Reusch等2008)。另外, 研究者通过对比两个具有代表性的海草物种大叶藻、波喜荡草和其他陆生植物的转录组, 结果发现虽然2个海草物种之间的直系同源基因共表达有着显著的相似性, 但仍有很多直系同源基因表现出显著差异性, 正是这些差异的显著程度反映了其自主进化的适应机制和适应类似生活环境是表现出的非平行、系谱特异性等(Wissler等2011; York等2013)。

有研究认为质膜上的 $H^+$ -ATPase是大叶藻耐盐的关键因子(Fukuhara等1996; Pak等1995)。Pak等(1995)利用细胞化学技术发现其成熟叶表皮细胞的 $H^+$ -ATPase活性远高于未成熟叶表皮细胞。西班牙科学家Fernández (1999)提出了大叶藻的“质子泵和钠外排”的耐盐机理, 通过电生理实验证明其质膜上存在着 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白且活性很高。大叶藻质膜上存在 $Na^+/H^+$ 反转运酶, 可以维持一个较高的 $Na^+$ 电化学梯度, 说明 $Na^+$ 的内流或外流在大叶藻耐盐性的发挥具有重要作用(Fernández等1999)。大叶藻茎部的 $Na^+$ 和 $Cl^-$ 远未饱和, 能够适应更高盐度的海水(明奕2011), 推测大叶藻中分离的 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白基因很可能具有更强大的 $Na^+/H^+$ 的逆向转运功能。Muramatsu等(2002)证实了大叶藻细胞质膜上存在具有耐盐性的ATPase活性, 在维持细胞内较低的钠钾比中起到了重要的作用。卢美凤(2015)从大叶藻中成功克隆出液泡膜 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白基因(*Zom NHX2*基因),

生物信息学分析表明*ZomNHX2*基因具有 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白基因高度保守区域, 与其他植物的 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白基因具有较高同源性, 其中与马蔺同源性最高; 利用半定量RT-PCR技术对其进行基因表达特异性分析, 发现该基因在叶中表达量高于其在茎中表达量。

李红(2015)认为离子区域化作用对大叶藻 $Na^+$ 和 $Cl^-$ 的定向积累至关重要。明奕(2011)发现 $Na^+$ 和 $Cl^-$ 通过离子区域化作用由叶表皮细胞进一步向叶肉薄壁细胞、液泡中定向转移积累。研究者利用RNA转录本5'末端转换机制(*switching mechanism 5' end of RNA transcript method, SMART*)构建了大叶藻叶片组织在不同盐度胁迫下的全长cDNA文库, 发现一系列耐盐相关的功能基因, 为预测大叶藻耐盐分子机制提供了理论基础(Kong等2013; 李红2015)。刘利民(2011)也曾经采用SMART方法构建了不同盐度条件下大叶藻所对应的全长cDNA文库, 并对文库中部分单克隆的5'末端进行测序和生物信息学分析。该文库的构建和EST序列的分析为大叶藻抗逆基因的研究提供了基础; Kong等(2014)通过高通量测序分析了大叶藻对环境胁迫的转录组特性, 比较分析了其与不同物种间(如条斑紫菜、水稻)的直系同源关系, 为研究大叶藻是如何适应海洋高盐沉水生活的提供了新的视角。但是上述成果由于比对数据库的缺陷, 导致分析中还存在大量功能未知的新基因, 并且没有证实参与大叶藻耐盐过程的基因或途径。

## 5 大叶藻与陆生盐生植物的异同点

综上所述, 大叶藻与大多数陆生盐生植物的耐盐机理既存在共性, 又具有其独特的一面。大叶藻与陆生盐生植物的共同特点是: 无机渗透调节剂主要是在叶肉细胞中积累, 而有机渗透调节剂的积累主要是发生在叶表皮细胞的胞质中, 所以其渗透调节涉及到多种物质, 是其共同作用的结果(叶春江和赵可夫2002)。与陆生盐生植物不同, 大叶藻光合细胞中的液泡很小, 其质膜上的 $H^+$ -ATPase (与 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白相偶联进行 $Na^+$ 的外排)可能远比其液泡膜上的 $H^+$ -ATPase (与 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白相偶联将 $Na^+$ 区域化转运至液泡中)重要, 即主要是通过质膜 $H^+$ -ATPase和 $Na^+/H^+$ 逆

向转运蛋白的共同作用来拒盐(exclusion)的(马欣荣2005)。另外,陆生盐生植物的离子区域化主要发生于细胞内,但大叶藻的离子区域化不仅发生在胞内,还包括叶表皮细胞与叶肉细胞间的区域化。研究表明茎部作为大叶藻对有毒离子的储藏库远未被 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 所饱和,能够轻松应对海水盐度。沉水生活的鳗草以 $\text{NH}_4^+$ 为主要氮源,可直接进入GS/GOGAT(谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶)循环合成氨基酸和蛋白质,此过程比陆生植物高效并且节省能量(Touchette和Burkholder 2007)。而且,与其它众多陆生耐盐植物不同的是,大叶藻的胞内酶在长期适应海洋高盐沉水环境的过程中可能已经具备了一定的耐盐性。

## 6 展望

目前对大叶藻形态学解剖结构以及生理生态学方面的研究较为清楚,如大叶藻和它附生动、植物之间的互生关系,作为指示植物可检测环境污染等方面的研究,以及限制其生长的生态因子的研究。由于大叶藻基因组研究的相对匮乏和滞后,对大叶藻耐盐分子机理的研究相对较少,主要集中在形态结构和生理调节的响应等方面。随着高通量测序技术的不断发展以及2016年大叶藻全基因组序列信息的公布,大叶藻耐盐分子机理的研究将会是未来的热点。除了对其进行分子水平上的研究,还应同时结合全面的基础生理学方面的研究,目前在这一方面还存在很多不足。例如在实验室中对大叶藻进行培养(移栽和组织培养等),至今没有得到较为满意的结果,即使是由种子开始的培养都没有获得成功。今后可以加大其实实验室培养方面的研究,建立一套规范的实验室培养技术,从而使其成为一种实验室模式植物,为后续进行深度的系统化研究提供基础。另外,对大叶藻及其亲缘关系较近的陆生植物进行系统比较研究,找出造成耐盐性差异的关键所在,从而丰富对高等植物耐盐机理的认识。

近年来,对于如何提高植物(特别是经济作物)的耐盐能力,越来越多的科学家进行了系统的研究,而对盐生植物耐盐机理的探究是实现这一目标的前提和根本保障。人们对高等植物耐盐机理的认识和理解大多源自于对陆生盐生植物的探究,

大叶藻作为少有的海洋高等盐生植物,长期适应高盐的海洋沉水生活,具有不同于陆地盐生植物的独特耐盐机制。我们相信,通过开展对大叶藻这一经典海洋高等盐生植物的研究,会给有关高等植物如何适应盐度这一重大问题带来有益启示和宝贵经验,对于农作物的改良和新型海洋农业作物的培育,甚至是认识陆生单子叶植物的抗盐进化史意义深远。

## 参考文献(References)

- Arai M, Pak JY, Nomura K, et al (1991). Seawater-resistant, non-spherical protoplasts from seagrass leaves. *Physiol Plant*, 83 (4): 551–559
- Barghini E, Mascagni F, Natali L, et al (2015). Analysis of the repetitive component and retrotransposon population in the genome of a marine angiosperm, *Posidonia oceanica* (L.) delile. *Mar Genomics*, 24: 397–404
- Beer S, Eshel A, Waisel Y (1980). Carbon metabolism in sea-grasses. *J Exp Bot*, 31 (123): 1027–1033
- Biebl R, McRoy CP (1971). Plasmatic resistance and rate of respiration and photosynthesis of *Zostera marina* at different salinities and temperatures. *Mar Biol*, 8 (1): 48–56
- Chen ST, Qiu GL (2017). A review of current status of molecular biology in seagrass biology. *Guangxi Sci*, 24 (5): 448–452, 461 (in Chinese with English abstract) [陈思婷, 邱广龙(2017). 海草分子生物学研究进展. *广西科学*, 24 (5): 448–452, 461]
- Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu JK (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Sci*, 45 (2): 437–448
- Den HC (1970). *The sea-grasses of the world*. Chicago: The University of Chicago Press, 45–72
- Fernández JA, García-Sánchez MJ, Felle HH (1999). Physiological evidence for a proton pump and sodium exclusion mechanisms at the plasma membrane of the marine angiosperm *Zostera marina* L. *J Exp Bot*, 50 (341): 1763–1768
- Flowers TJ (1972). The effect of sodium chloride on enzyme activities from four halophyte species of chenopodiaceae. *Phytochemistry*, 11 (6): 1881–1886
- Flowers TJ, Colmer TD (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol*, 179 (4): 945–963
- Franssen SU, Gu J, Bergmann N, et al (2011). Transcriptomic resilience to global warming in the seagrass *Zostera marina*, a marine foundation species. *Proc Nat Acad Sci USA*, 108 (48): 19276–19281
- Fukuhara T, Pak JY, Ohwaki Y, et al (1996). Tissue-specific expression of the gene for a putative plasma membrane  $\text{H}^+$ -ATPase in a seagrass. *Plant Physiol*, 110 (1): 35–42
- Jagels R (1983). Further evidence for osmoregulation in epi-

- dermal leaf cells of seagrasses. *Am J Bot*, 70 (3): 327–333
- Kaldy J (2012). Influence of light, temperature and salinity on dissolved organic carbon exudation rates in *Zostera marina* L. *Aquat biosyst*, 8 (1): 19
- Kong F, Li H, Sun PP, et al (2014). De novo assembly and characterization of the transcriptome of seagrass *Zostera marina* using Illumina paired-end sequencing. *PLoS ONE*, 9 (11): e112245
- Kong F, Zhou Y, Sun PP, et al (2013). Generation and analysis of expressed sequence tags from the salt-tolerant eelgrass species, *Zostera marina*. *Acta Oceanol Sin*, 32 (8): 68–78
- Larkum AWD, Orth RJ, Duarte CM (2006). *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Dordrecht: Springer, 1–23
- Li H (2015). De Novo assembly and characterization of the transcriptome of marine higher plant *Zostera marina* L. using illumina paired-end sequencing (dissertation). Qingdao: Ocean University of China (in Chinese with English abstract) [李红(2015). 海洋高等植物大叶藻 (*Zostera marina* L.)响应环境胁迫的转录组特性分析(学位论文). 青岛: 中国海洋大学]
- Liu LM (2011). Construction of a cDNA library on the leaf of *Zostera marina* L. and analysis of expressed sequence tags (dissertation). Qingdao: Ocean University of China (in Chinese with English abstract) [刘利民(2011). 大叶藻全长cDNA文库构建及表达序列标签分析(学位论文). 青岛: 中国海洋大学]
- Liu YL, Zhang XL (2016). The effects of salinity on seed germination and seedling development of the seagrass, *Zostera marina* L.. *Acta Oceanol Sin*, 38 (02): 104–111 (in Chinese with English abstract) [刘云龙, 张学雷(2016). 盐度对大叶藻种子萌发和幼苗发育的影响. *海洋学报*, 38 (02): 104–111]
- Lu MF (2015). The cloning and analysis of *ZomNHX2* gene from *Zostera marina* and apple tissue culture with a preliminary study of salt resistance (dissertation). Harbin: Harbin Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [卢美凤(2015). 大叶藻*ZomNHX2*基因克隆分析与苹果组培及耐盐初步研究(学位论文). 哈尔滨: 哈尔滨工业大学]
- Lü YZ, Li BG (2006). *Agrology*. Beijing: China Agriculture Press, 356–357 [吕贻忠, 李保国(2006). *土壤学*. 北京: 中国农业出版社, 356–357]
- Ma XR (2005). Preliminary study on the tissue culture and the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene of *Zostera marina* L. (dissertation). Qingdao: Ocean University of China (in Chinese with English abstract) [马欣荣(2005). 大叶藻组织培养及其 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 逆向转运蛋白基因的初步研究(学位论文). 青岛: 中国海洋大学]
- Ming Y (2011). Studies on the biomass dynamic characteristics, the anatomical structures and physiological characteristics of *Zostera marina* L. (dissertation). Qingdao: Ocean University of China (in Chinese with English abstract) [明奕(2011). 大叶藻生物量动态、解剖结构及耐盐生理特性的研究(学位论文). 青岛: 中国海洋大学]
- Munns R (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 25 (2): 239–250
- Muramatsu Y, Harada A, Ohwaki Y, et al (2002). Salt-tolerant ATPase activity in the plasma membrane of the marine angiosperm *Zostera marina* L. *Plant Cell Physiol*, 43 (10): 1137–1145
- Murphy LR, Kinsey ST, Durako MJ (2003). Physiological effects of short-term salinity changes on *Ruppia maritima*. *Aquat Bot*, 75 (4): 293–309
- Olsen JL, Rouzé P, Verhelst B, et al (2016). The genome of the seagrass *Zostera marina* reveals angiosperm adaptation to the sea. *Nature*, 2016, 530 (7590): 331–335
- Pak JY, Fukuhara T, Nitta T (1995). Discrete subcellular localization of membrane-bound ATPase activity in marine angiosperms and marine algae. *Planta*, 196 (1): 15–22
- Reusch TBH, Veron AS, Preuss C, et al (2008). Comparative analysis of expressed sequence tag (EST) libraries in the seagrass *Zostera marina* subjected to temperature stress. *Mar biotechnol*, 10 (3): 297–309
- Salo T, Pedersen MF (2014). Synergistic effects of altered salinity and temperature on estuarine eelgrass (*Zostera marina*) seedlings and clonal shoots. *J Exp Mar Biol Ecol*, 457 (4): 143–150
- Shafer DJ, Kaldy JE, Shennan TD, et al (2011). Effects of salinity on photosynthesis and respiration of the seagrass *Zostera japonica*: a comparison of two established populations in North America. *Aquat Bot*, 95 (3): 214–220
- Strazisar T, Koch MS, Madden CJ (2015). Seagrass (*Ruppia maritima* L.) life history transitions in response to salinity dynamics along the Everglades-Florida Bay ecotone. *Estuaries Coasts*, 38 (1): 337–352
- Tanji KK (1990). *Agricultural Salinity-Nature, Extent and Concerns*. Virginia: ASCE Publications, 1–17
- Touchette BW (2007). Seagrass-salinity interactions: physiological mechanisms used by submersed marine angiosperms for a life at sea. *J Exp Mar Biol Ecol*, 350 (1): 194–215
- Touchette BW, Burkholder JAM (2007). Carbon and nitrogen metabolism in the seagrass, *Zostera marina* L.: environmental control of enzymes involved in carbon allocation and nitrogen assimilation. *J Exp Mar Biol Ecol*, 350 (1): 216–233
- Wissler L, Codoner FM, Gu J, et al (2011). Back to the sea twice: identifying candidate plant genes for molecular evolution to marine life. *BMC Evol Biol*, 11 (1): 8
- Wissler L, Dattolo E, Moore AD, et al (2009). Dr. Zompo: an online data repository for *Zostera marina* and *Posidonia oceanica* ESTs. *Database*, (1): bap009
- Xi JB, Zhang FS, Tian CY (2006). *Halophytes in Xinjiang*. Beijing: Science Press, 32–54 [郗金标, 张福锁, 田长彦]

- (2006). 新疆盐生植物. 北京: 科学出版社, 32–54]
- Xu Q, Niu SN, Zhang PD, et al (2015). Salinity suitability of *Zostera marina* seedlings. *Chin J Ecol*, 34 (11): 3146–3150 (in Chinese with English abstract) [徐强, 牛淑娜, 张沛东等(2015). 大叶藻实生幼苗的盐度适宜性. *生态学杂志*, 34 (11): 3146–3150]
- Ye CJ, Zhao KF (2002). Advances in the study on the marine higher plant eelgrass (*Zostera marina* L.) and its adaptation to submerged life in seawater. *Chin Bull Bot*, 19 (2): 184–193 (in Chinese with English abstract) [叶春江, 赵可夫(2002). 高等植物大叶藻研究进展及其对海洋沉水生活的适应. *植物学报*, 19 (2): 184–193]
- Yeo A (1998). Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *J Exp Bot*, 49 (323): 915–929
- York PH, Gruber RK, Hill R, et al (2013). Physiological and morphological responses of the temperate seagrass *Zostera muelleri* to multiple stressors: investigating the interactive effects of light and temperature. *PLoS ONE*, 8 (10): e76377
- Yu H, Ma YH, Zhang Y, et al (2007). Ecological characteristics of eelgrass (*Zostera marina* L.) and its response to environmental changes. *Trans Oceanol Limnol*, (B12): 112–120 (in Chinese with English abstract) [于函, 马有会, 张岩等(2007). 大叶藻的生态学特征及其与环境的关系. *海洋湖沼通报*, (B12): 112–120]
- Yuan YD, Song ZC, Guo CL, et al (2010). Morphological characters and microstructure of *Zostera marina*. *Trans Oceanol Limnol*, (3): 73–78 (in Chinese with English abstract) [原永党, 宋宗诚, 郭长禄等(2010). 大叶藻形态特征与显微结构. *海洋湖沼通报*, (3): 73–78]
- Zhao KF, Li FZ, Zhang FS (2013). *Chinese Halophytes*. Beijing: Science Press, 4–32 [赵可夫, 李法曾, 张福锁 (2013). *中国盐生植物*. 北京: 科学出版社, 4–32]

## Advances in studies on salt-tolerance mechanism of *Zostera marina*

DENG Wen-Hao, LÜ Xin-Fang\*

Marine College, Shandong University, Weihai, Shandong 264209, China

**Abstract:** *Zostera marina* is a typical marine halophyte and an important halophyte resource. In this paper, the responses to the high salinity environment of *Z. marina* were reviewed in three aspects including morphological adaptation, physiological adaptation and molecular adaptation. Most of the traditional studies mainly focus on the adaptation of morphological structure and the regulation of physiological mechanism of *Z. marina*. With the continuous development of the high-throughput sequencing and the publication of the sequence information of genomes of *Z. marina*, the studies on the molecular mechanism of salt-tolerance are increasing, which providing a basis for studying the salt-tolerance mechanism of typical halophyte.

**Key words:** *Zostera marina*; salt-tolerance mechanism; morphological adaptation; physiological adaptation; molecular adaptation

Received 2017-10-13 Accepted 2018-04-24

This work was supported by the Training Fund of National Natural Science Foundation of Shandong (ZR2014DP006), and the project of Institute of Oceanography of Weihai (1070413421424).

\*Corresponding author (lvxinfang@hotmail.com).