

## 北林陈少良：NMT发现盐胁迫下耐盐杨树根吸氧更多促线粒体呼吸以激活H<sup>+</sup>泵促排Na<sup>+</sup>

### 基本信息

- 主题：NMT发现盐胁迫下耐盐杨树根吸氧更多促线粒体呼吸以激活H<sup>+</sup>泵促排Na<sup>+</sup>
- 期刊：Tree Physiology
- 影响因子：3.665
- 研究使用平台：NMT植物耐盐创新平台
- 标题：NaCl-altered oxygen flux profiles and H<sup>+</sup>-ATPase activity in roots of two contrasting poplar species
- 作者：北京林业大学陈少良、马秀英、邓晨、李金克

### 检测离子/分子指标

O<sub>2</sub> , Na<sup>+</sup> , H<sup>+</sup>

### 检测样品

胡杨 (Populus euphratica)、群众杨 (Populus popularis) 的根，距根尖100、600、1100、1600、2100、2600、10000、10500、11000、11500、12000、12500 μm根表上的点。

### 中文摘要 (谷歌机翻)

维持线粒体呼吸对于H<sup>+</sup>泵ATP在盐胁迫下排出Na<sup>+</sup>至关重要。本文研究了NaCl胁迫对胡杨 (耐盐) 和群众杨35-44 (盐敏感) O<sub>2</sub>吸收、线粒体呼吸和H<sup>+</sup>-ATPase活性的影响。与群众杨相比，胡杨根系在NaCl胁迫 (150 mM) 下表现出更强的Na<sup>+</sup>外排能力。用Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>染色进行的细胞化学分析表明，在长期 (LT) 增加盐胁迫 (50-200 mM NaCl, 4周) 的过程中，胡杨根细胞比盐敏感的杨树保留了更高的H<sup>+</sup>水解活性。质子泵的长期持续激活需要通过有氧呼吸来提供持久的能量 (ATP)。利用非损伤微测技术 (NMT) 对盐胁迫下根系O<sub>2</sub>吸收的种类、空间和时间差异进行了研究。虽然盐诱导的O<sub>2</sub>瞬态动态变化与高渗冲击 (255 mM甘露醇) 引起的O<sub>2</sub>的剧烈下降有明显区别，但胡杨在NaCl实时处理 (150 mM) 时的吸氧量下降幅度小于群众杨。短期 (ST) 处理 (150 mM NaCl, 24 h) 刺激了胡杨根系O<sub>2</sub>的内流，LT处理胡杨根系O<sub>2</sub>的内流速率沿根轴增加，而群众杨的根系O<sub>2</sub>内流速率则随盐度的增加而下降。在ST和LT胁迫期间，高浓度NaCl (150、200 mM) 处理下，O<sub>2</sub>内流速率的空间定位表明，根尖区比伸长区更易受到影响。药理学实验表明，当线粒体呼吸抑制剂NaN<sub>3</sub>抑制O<sub>2</sub>的吸收时，盐渍化的根中的Na<sup>+</sup>外排和H<sup>+</sup>-ATPase活性会受到相应的抑制。因此研究认为，稳定的线粒体呼吸使胡杨根细胞的H<sup>+</sup>-ATPase能在盐环境下维持Na<sup>+</sup>稳态。

## 离子/分子流实验处理

1. 150 mM NaCl或255 mM等渗甘露醇实时处理。
2. 短期胁迫 (ST) : 150 mM NaCl胁迫24 h。
3. ST胁迫之后, 2 mM NaN<sub>3</sub> (线粒体呼吸抑制剂) 处理20 min。
4. 长期胁迫 (LT) : NaCl浓度从第一周的50 mM开始, 每周增加50 mM, 最后一周达到200 mM。

## 离子/分子流实验结果

利用NMT在通常观察到峰值的根尖区和伸长区检测O<sub>2</sub>流速。流速数据显示, 两种杨树根系均有O<sub>2</sub>的净流入, 但群众杨的流速比胡杨的流速大3042 pmol cm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> (图1)。根尖区 (距根尖0.1-2.6 mm) O<sub>2</sub>内流速率大于伸长区 (距根尖10.0-12.5 mm, 图1)。

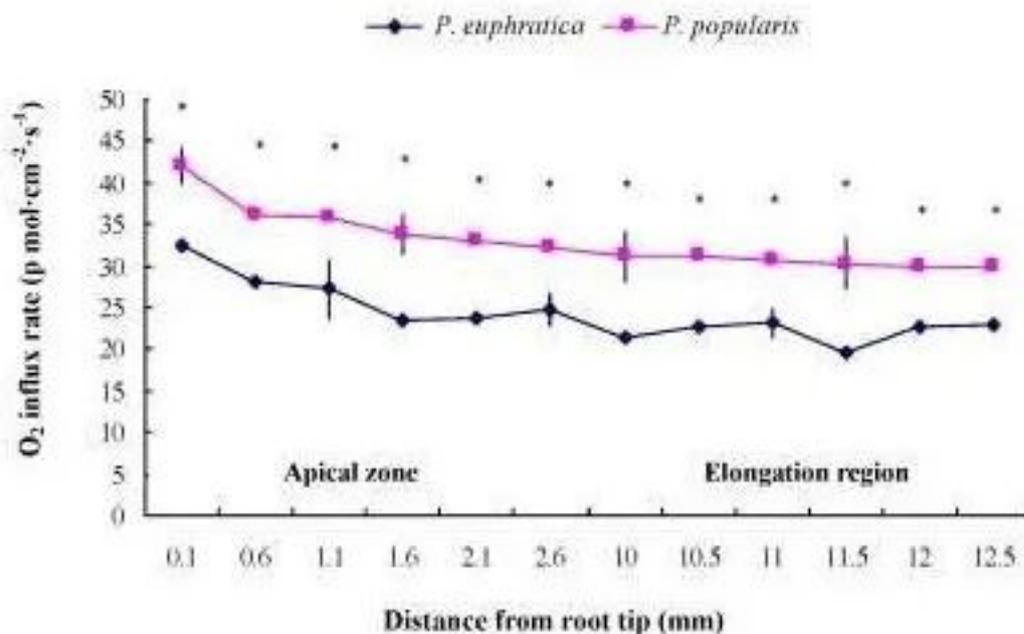


Figure 1.

图1. 胡杨和群众杨根尖区和伸长区O<sub>2</sub>内流。

在距根尖1.1 mm的根尖区检测O<sub>2</sub>流速对NaCl或高渗胁迫 (甘露醇) 的响应。NaCl (150 mM) 的加入使两种杨树的O<sub>2</sub>流速立即降低, 且随着盐胁迫时间的延长, 流速逐渐降低 (图2A)。与耐盐杨树相比, 盐敏感的群众杨O<sub>2</sub>内流速率下降的更为明显 (图2A, B)。NaCl实时胁迫10 min后胡杨O<sub>2</sub>流速趋于稳定, 而群众杨O<sub>2</sub>流速持续下降, 直至观察时间结束 (图2A)。

# 文献电子报

高渗处理的杨树根系O<sub>2</sub>实时动态变化与NaCl实时处理的根系不同。在受到255 mM甘露醇引起的等渗胁迫后，胡杨和群众杨的O<sub>2</sub>内流立即减少48.57%，随后在记录期间内保持恒定（图2C）。实时流速数据显示，高渗处理对O<sub>2</sub>内流产生了比盐离子更明显的限制作用（图2B, D）。

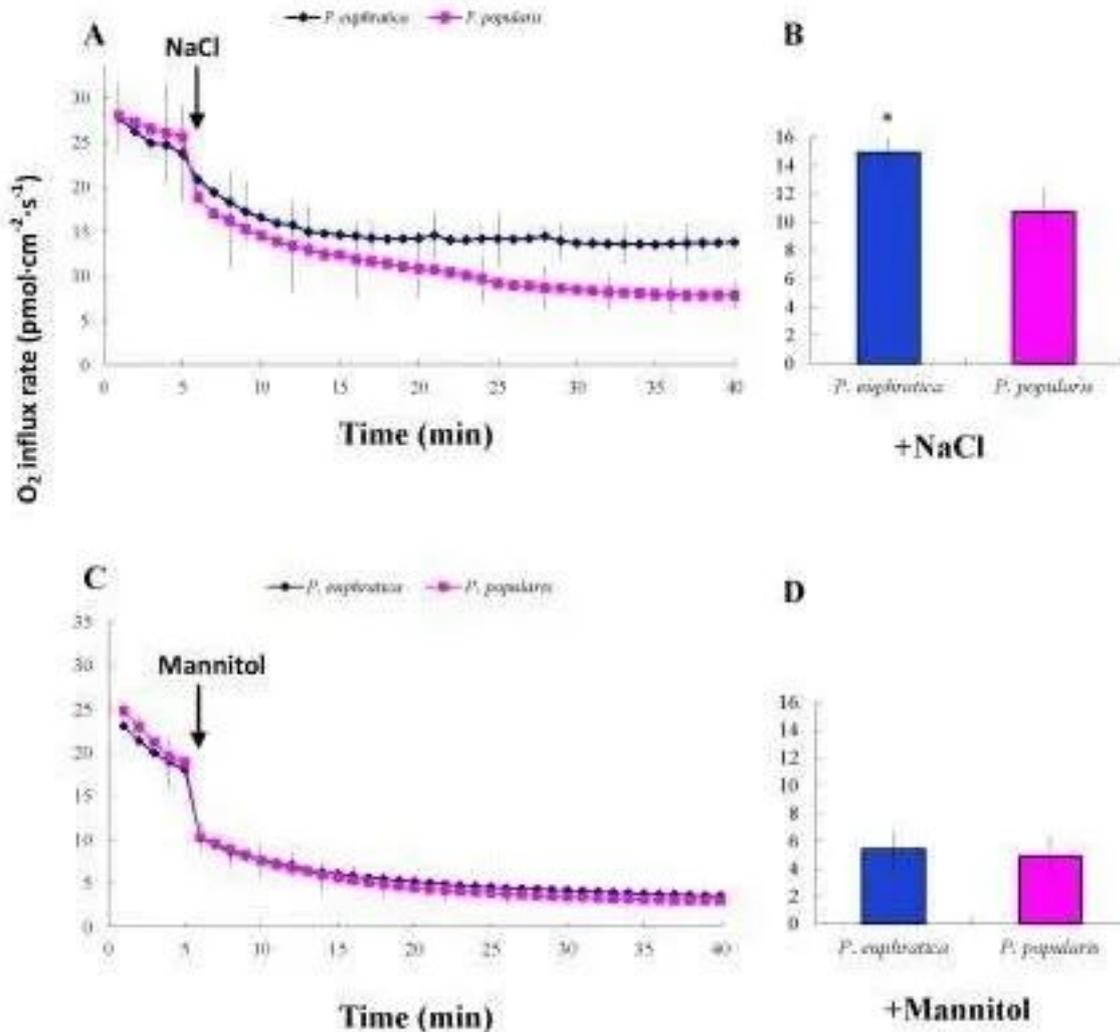


Figure 2.

图2. NaCl和高渗胁迫实时处理对胡杨和群众杨根部O<sub>2</sub>实时动态变化的影响。

150 mM NaCl短期（ST, 24 h）处理后，胡杨根系稳态O<sub>2</sub>流速的模式与群众杨不同。研究观察到ST处理后的胡杨根系氧内流速率增加（图3A）。在群众杨根系中，NaCl处理降低了根尖区的O<sub>2</sub>流速，但在伸长区的O<sub>2</sub>流速变化不明显（图3B）。为确定盐刺激的胡杨根系O<sub>2</sub>内流是否是线粒体呼吸被激活的结果，采用线粒体呼吸抑制剂NaN<sub>3</sub>抑制细胞色素途径。抑制剂NaN<sub>3</sub>显著降低了NaCl胁迫下胡杨根中O<sub>2</sub>的内流（图3C），表明ST处理激活了胡杨根细胞的线粒体呼吸。抑制剂NaN<sub>3</sub>能够显著降低ST处理下群众杨根系中O<sub>2</sub>的内流速率（图3D），表明植物的线粒体呼吸受到严重抑制。

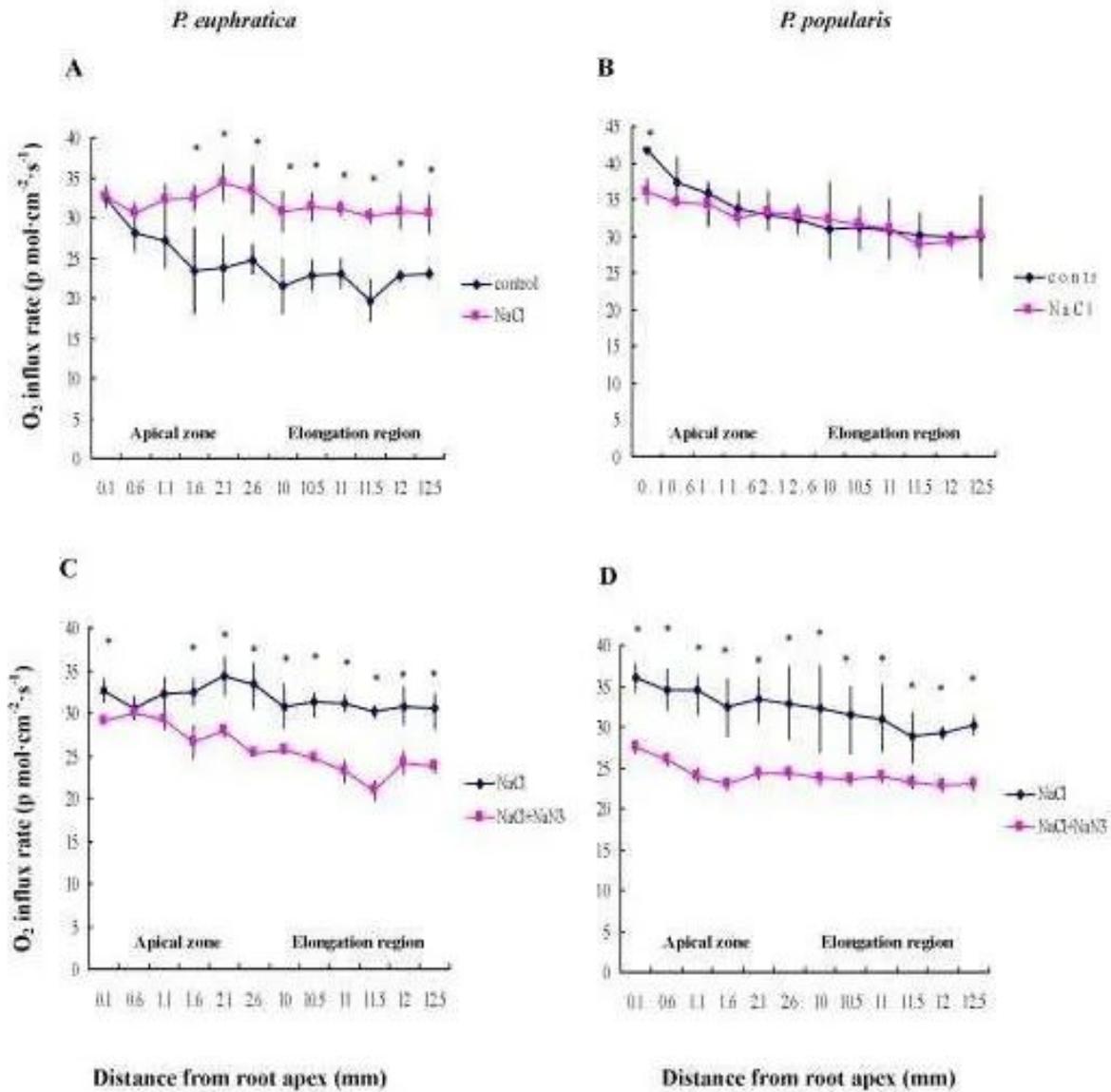


Figure 3.

图3. NaCl和线粒体呼吸抑制剂 (NaN<sub>3</sub>) 对胡杨和群众杨根部稳态O<sub>2</sub>流速的影响。

群众杨是一种盐敏感树种，因此在4周的处理中以50、100、150、200 mM递增的方式增加盐分。在增加盐分处理期间每周检查稳态O<sub>2</sub>流速。胡杨和群众杨在50 mM NaCl胁迫1周后，沿根轴O<sub>2</sub>内流速率增加，尽管耐盐杨树受到了更明显的刺激（图4A, B）。然而，在第2周100 mM NaCl胁迫下，群众杨不存在盐刺激的O<sub>2</sub>吸收（图4D）。本研究注意到，暴露在较高盐度下，即第3周150 mM NaCl和第4周200 mM NaCl，引起了群众杨中O<sub>2</sub>内流速率的显著下降，且这种影响在根尖区更为明显（图4F, H）。与盐敏感杨树相比，在盐胁迫期间，胡杨表现出沿根轴的O<sub>2</sub>内流增加，但刺激效果随盐度的增加而下降（图4A, C, E, G）。

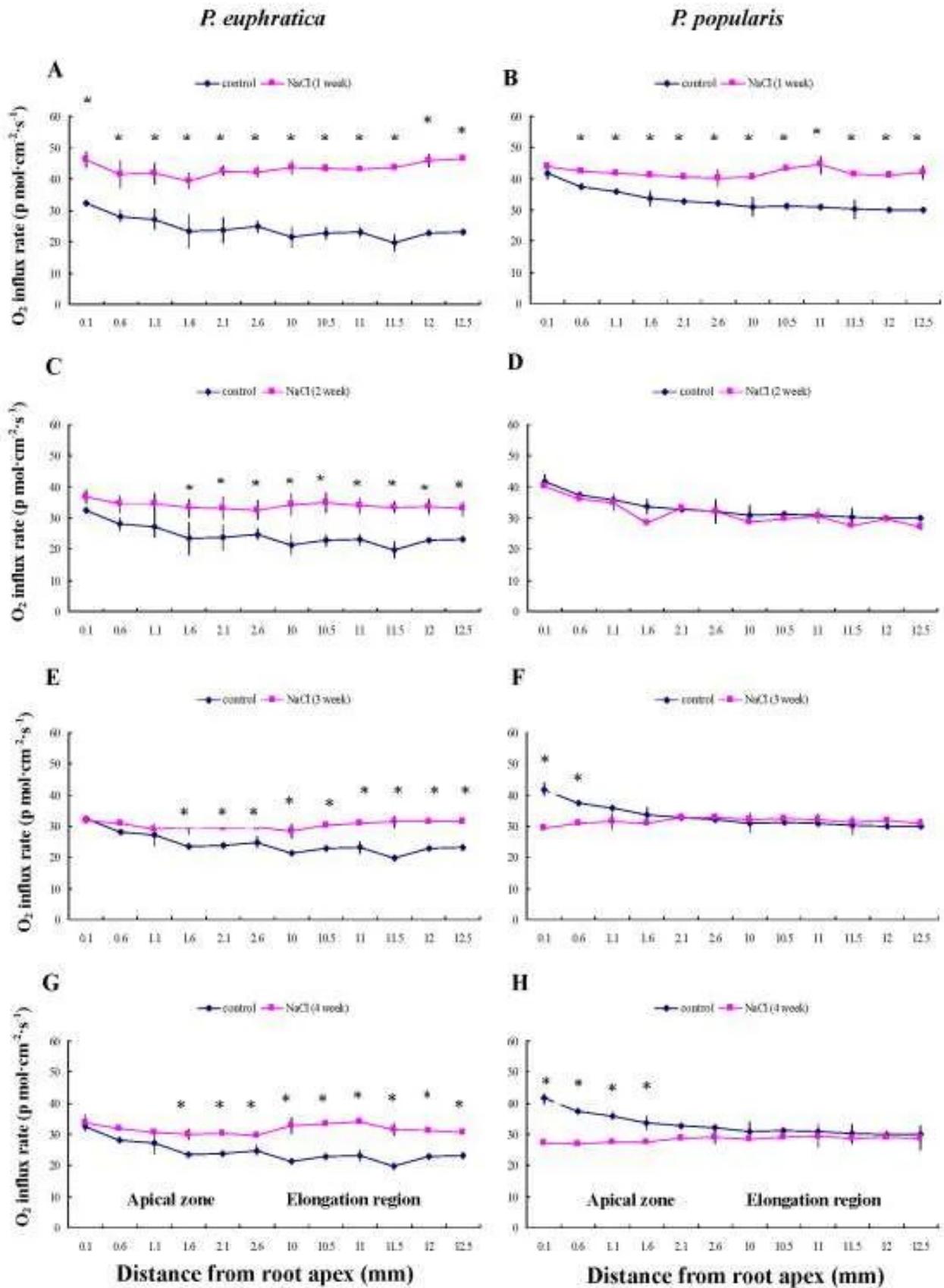


Figure 4.

图4. 长期增加NaCl对胡杨和群众杨根部O<sub>2</sub>流速的影响。

# 文献电子报

木本植物和草本植物的耐盐性在很大程度上是由Na<sup>+</sup>从细胞质中排出所介导的。为证实盐环境下胡杨根细胞稳定的线粒体呼吸是否能激活H<sup>+</sup>-ATPase以维持Na<sup>+</sup>稳态，本研究在盐胁迫下，检测了线粒体呼吸抑制剂NaN<sub>3</sub>对Na<sup>+</sup>外排和体内H<sup>+</sup>-ATPase活性的影响。NaCl (150 mM, 24 h) 引起两种杨树根尖Na<sup>+</sup>外排显著增加 (图5A)。值得注意的是，在NaCl处理下胡杨根系的Na<sup>+</sup>外排速率明显高于群众杨 (图5A)。然而，抑制剂NaN<sub>3</sub>显著降低了NaCl胁迫下根系Na<sup>+</sup>外排速率 (图5A)，表明线粒体呼吸受到抑制后，Na<sup>+</sup>外排减少。在无盐对照条件下，NaN<sub>3</sub>没有明显改变Na<sup>+</sup>流速，这在两种杨树中几乎无法检测到 (图5A)。

用NMT研究了NaCl胁迫下根中PM H<sup>+</sup>-ATPase的活性。NaCl处理 (150 mM, 24 h) 使H<sup>+</sup>的净内流速率在两个杨树根系中增加 (图5B)，这是Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>跨PM逆向转运所致的 (图5A, B)。NaN<sub>3</sub>增加了盐刺激下的H<sup>+</sup>内流 (图5B)，而抑制剂处理的根系中没有相应的增加Na<sup>+</sup>外排 (图5A)。因此，抑制剂引起的H<sup>+</sup>内流主要是由质膜H<sup>+</sup>-ATPase产生的H<sup>+</sup>外排减少引起的。此外，NaN<sub>3</sub>导致两种杨树对照根中H<sup>+</sup>内流的增加 (图5B)，这是由于抑制剂处理下根中H<sup>+</sup>泵活性降低所致。

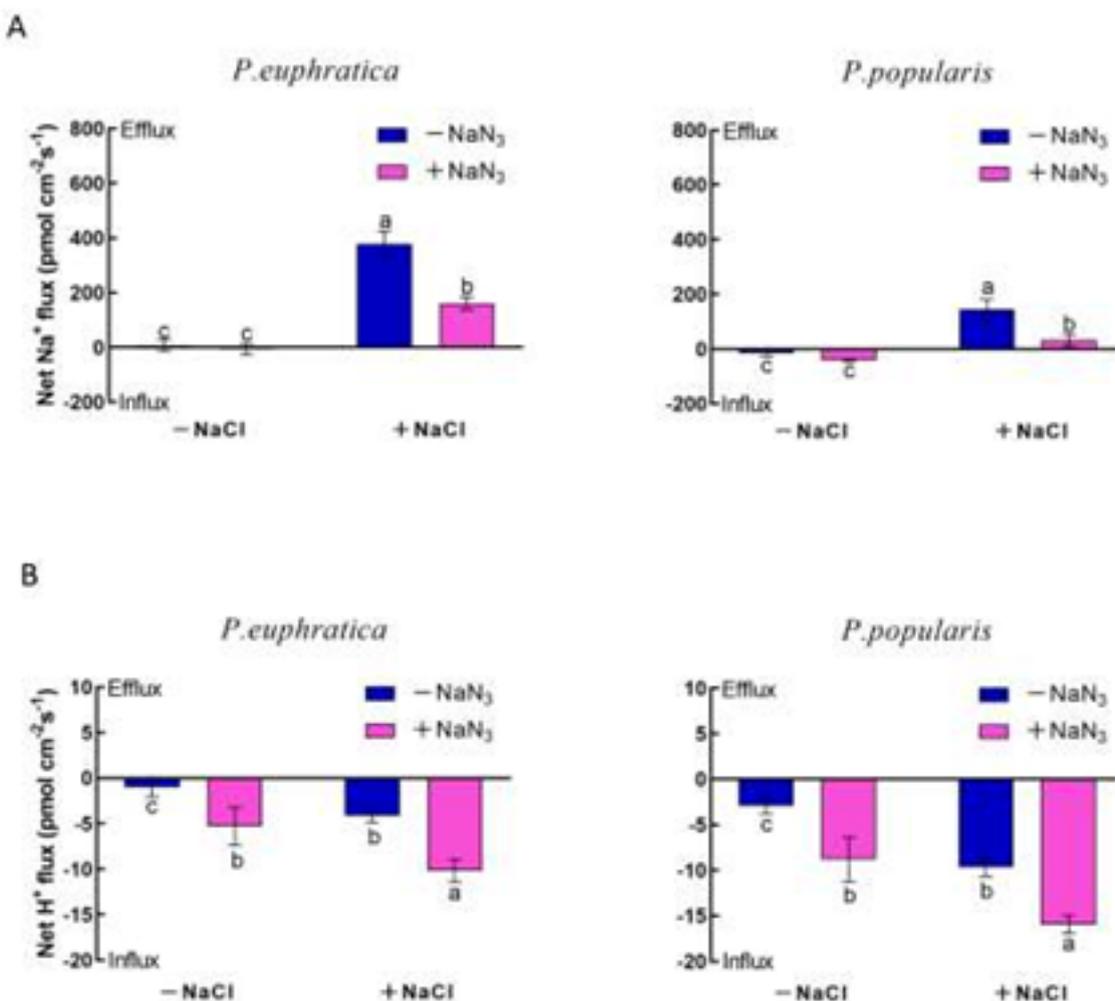


图5. NaCl和线粒体呼吸抑制剂 (NaN<sub>3</sub>) 对胡杨和群众杨根系Na<sup>+</sup>和H<sup>+</sup>稳态流速的影响。

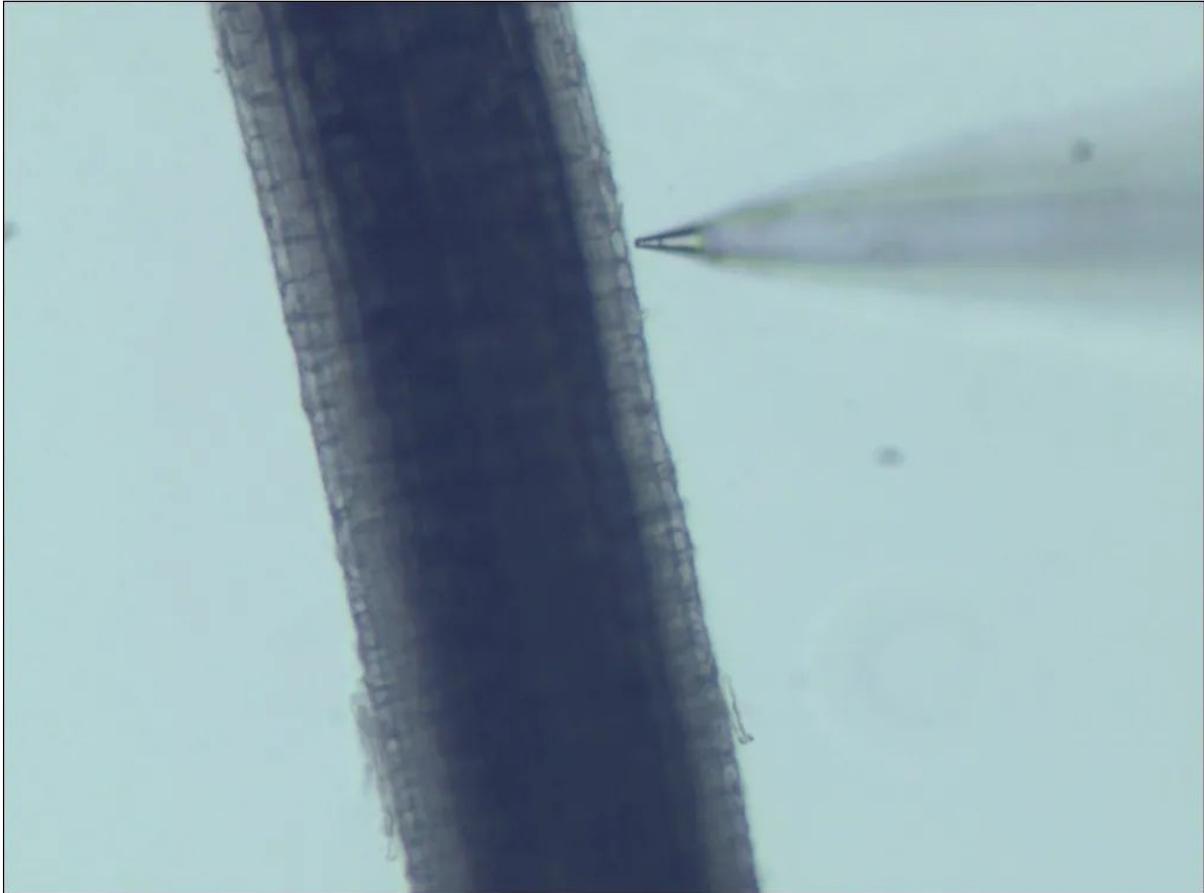


图6. 植物根部检测图

## 其他实验结果

- 50 mM NaCl处理1周后，群众杨根部的整体呼吸量增加。然而，随着NaCl浓度和盐胁迫时间的增加，群众杨根部的呼吸速率呈下降趋势，呼吸速率在第34周达到最低值。与群众杨相反，NaCl处理的胡杨根的呼吸速率在处理1周后明显增加，在随后的3周盐胁迫中仍比对照植物高3644%。
- 细胞化学染色结果显示，盐胁迫1周后，胡杨和群众杨皮层细胞的质膜中染色强度增加。然而，在高NaCl处理的最后2周（150, 200 mM），群众杨细胞中H<sup>+</sup>-ATPase的活性明显下降。与群众杨树相比，胡杨根细胞在高盐处理期间保持了H<sup>+</sup>-ATPase的活性。

## 结论

氧流速数据表明，在实时盐胁迫、ST和LT盐胁迫下，胡杨根系表现出较强的维持线粒体呼吸的能力。在盐环境下，稳定的线粒体呼吸使胡杨根细胞的H<sup>+</sup>-ATPase能在盐环境下维持Na<sup>+</sup>稳态。

## 测试液

O<sub>2</sub> : 0.1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mM KCl, pH 6.0

页 7 / 8

# 文献电子报

Na<sup>+</sup>、H<sup>+</sup> : 0.5 mM KCl, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1 mM NaCl, 2.5% sucrose, pH 5.8

## 仪器采购信息

- 据中关村NMT产业联盟了解，北京林业大学于2009年采购了美国扬格公司的非损伤微测系统。

文章来源：

<https://academic.oup.com/treephys/advance-article/doi/10.1093/treephys/tpaa142/5940447>

(唯一的)问答 ID: #1276

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-05 09:10