

集美大学谢潮添：NMT发现H₂O₂和Ca²⁺调控坛紫菜排Na⁺保K⁺应答盐胁迫

基本信息

- 主题：NMT发现H₂O₂和Ca²⁺调控坛紫菜排Na⁺保K⁺应答盐胁迫
- 期刊：Journal of Applied Phycology
- 影响因子：3.016
- 研究使用平台：NMT植物耐盐创新平台
- 标题：Salt stress-induced H₂O₂ and Ca²⁺ mediate K⁺/Na⁺ homeostasis in *Pyropia haitanensis*
- 第一作者：王文磊、邢磊；通讯作者：谢潮添，集美大学

检测离子/分子指标

Na⁺ , K⁺ , H₂O₂ , Ca²⁺

检测样品

坛紫菜叶状体

中文摘要

集美大学谢潮添教授课题组2019年在Algal Research (IF : 4.008) 上发表的题为 “ K⁺ and Na⁺ transport contribute to K⁺/Na⁺ homeostasis in *Pyropia haitanensis* under hypersaline stress ” 的文章首次从离子转运的角度报道了紫菜的耐盐机制。文章以坛紫菜为材料，结果表明，110‰盐胁迫下藻体仍能维持较高的K⁺/Na⁺。进一步通过NMT分析发现，藻体主要通过激活PM H⁺泵，驱动Na⁺/H⁺逆向转运体将细胞质外的Na⁺排出到质外体中，并通过去极化激活的外向整流型K⁺通道部分缓解K⁺的损失，从而维持较高的K⁺/Na⁺比值应对高盐胁迫。

同时，团队前期研究发现，维持氧化还原平衡在坛紫菜应答盐胁迫中同样至关重要。但是，活性氧（ROS）的信号作用与K⁺/Na⁺稳态之间的联系仍缺乏研究。

本文研究分析了高盐条件下坛紫菜H₂O₂的产生及其对K⁺、Na⁺和Ca²⁺转运的影响。高盐胁迫（110‰, 15 min）使坛紫菜细胞内H₂O₂含量和外排速率迅速增加，这与超氧化物歧化酶活性的迅速增加相一致。盐胁迫诱导Na⁺外排和Ca²⁺内流的增加受到NADPH氧化酶抑制剂（DPI）或ROS清除剂（DMTU）的显著抑制。同时，质膜Ca²⁺通道抑制剂（verapamil）使Na⁺外排减少。这表明NADPH氧化酶介导产生的H₂O₂可能通过调控Ca²⁺依赖的Na⁺/H⁺逆向转运体促进盐胁迫下坛紫菜叶状体的Na⁺外排。此外，盐诱导的H₂O₂增强了K⁺外排，而外源Ca²⁺缓解了K⁺外排。H₂O₂和Ca²⁺可能独立调控坛紫菜的K⁺稳态。H₂O₂诱导的K⁺渗漏可能诱导细胞从正常的代谢活动转向与适应和修复相关的代谢活动。本研究为阐明潮间带海藻应答盐胁迫中ROS信号与离子稳态

的关系提供了新见解。

离子/分子流实验处理

H₂O₂

1. 110‰高盐胁迫 (S110) 处理30 min
2. 对照 (S30) +1 mM H₂O₂处理30 min
3. S110+10 μM DPI处理30 min
4. S110+10 mM DMTU处理30 min
5. S110+100 μM verapamil处理30 min

Na⁺ , K⁺ , Ca²⁺

1. S110处理15 min
2. S30+1 mM H₂O₂处理15 min
3. S110+10 μM DPI处理15 min
4. S110+10 mM DMTU处理15 min
5. S110+1 mM H₂O₂处理15 min

离子/分子流实验结果

H₂O₂在S110处理下显著外排 (图1A) , 平均外排速率为93.71 pmol cm⁻²s⁻¹ , 显著高于对照组 (S30) (图1F) 。与S110处理相比 , DPI和DMTU处理使H₂O₂的外排速率显著降低 , 平均流速分别为43.89 pmol cm⁻²s⁻¹和2.77 pmol cm⁻²s⁻¹ (图1C, D, F) 。此外 , S30和S30+H₂O₂处理间差异不显著 , 平均流速分别为-0.94 pmol cm⁻²s⁻¹和4.32 pmol cm⁻²s⁻¹ (图1B, F) 。Ca²⁺通道抑制剂verapamil的加入使H₂O₂外排速率从93.71 pmol cm⁻²s⁻¹降低到14.20 pmol cm⁻²s⁻¹ (图1E, F) 。

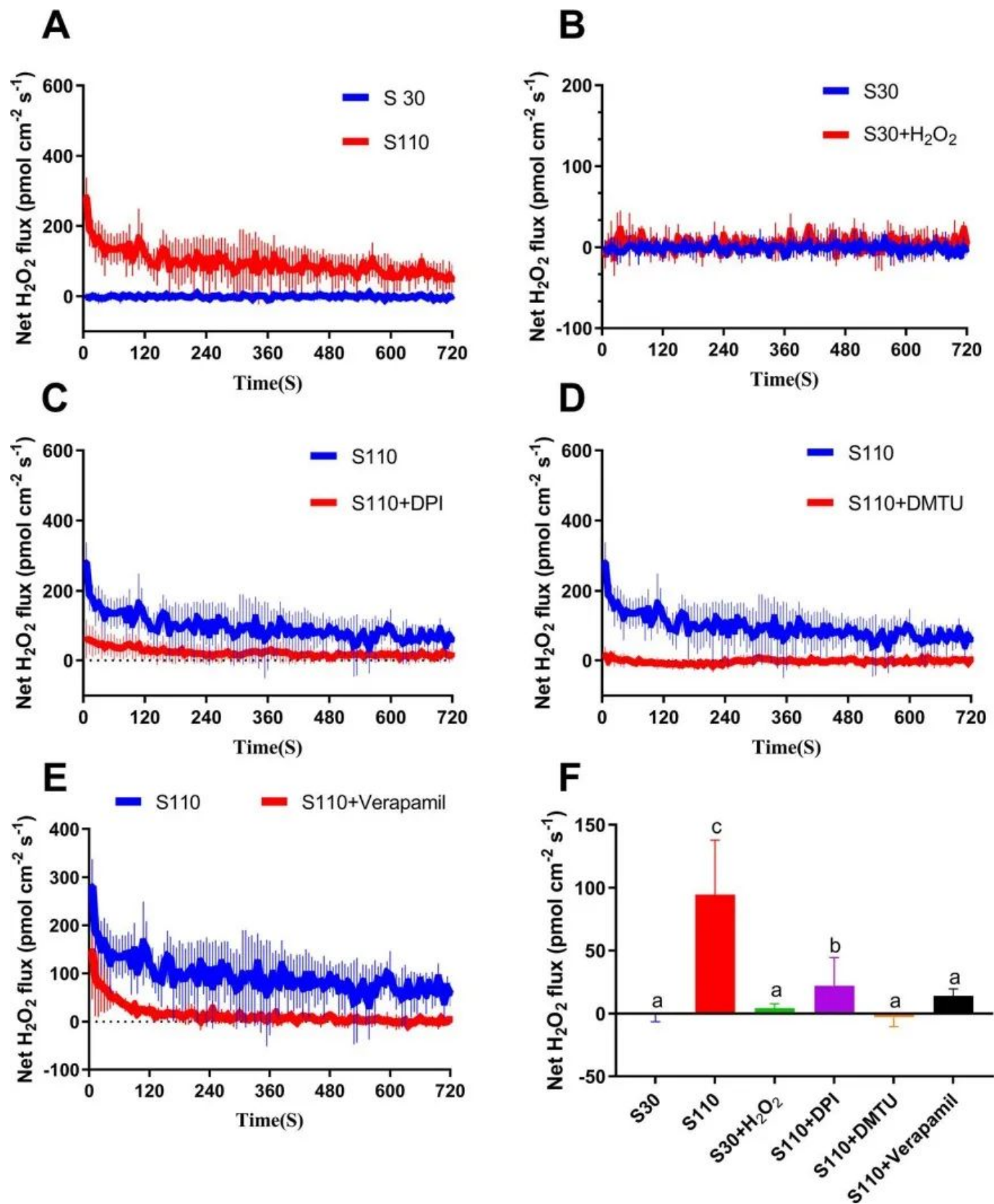


图1. 高盐和抑制剂对坛紫菜净H₂O₂流速的影响

S110处理显著诱导了Na⁺外排。进一步分析发现，S30和S110处理下的Na⁺平均外排速率分别为-1901.92 pmol cm⁻²s⁻¹和6691.27 pmol cm⁻²s⁻¹（图2A, F）。DMTU的加入显著降低了S110诱导的Na⁺外排速率，甚至在某些时间点产生内流（S110+DMTU, 图2C）。在高盐胁迫下，DPI也显著抑制了叶状体的Na⁺外排（S110+DPI, 图2D）。此外，S110+H₂O₂处理显著提高了叶状体的Na⁺外排，而S30+H₂O₂对叶状体的Na⁺外排没有明显

的增强作用（图2B, E, F）。

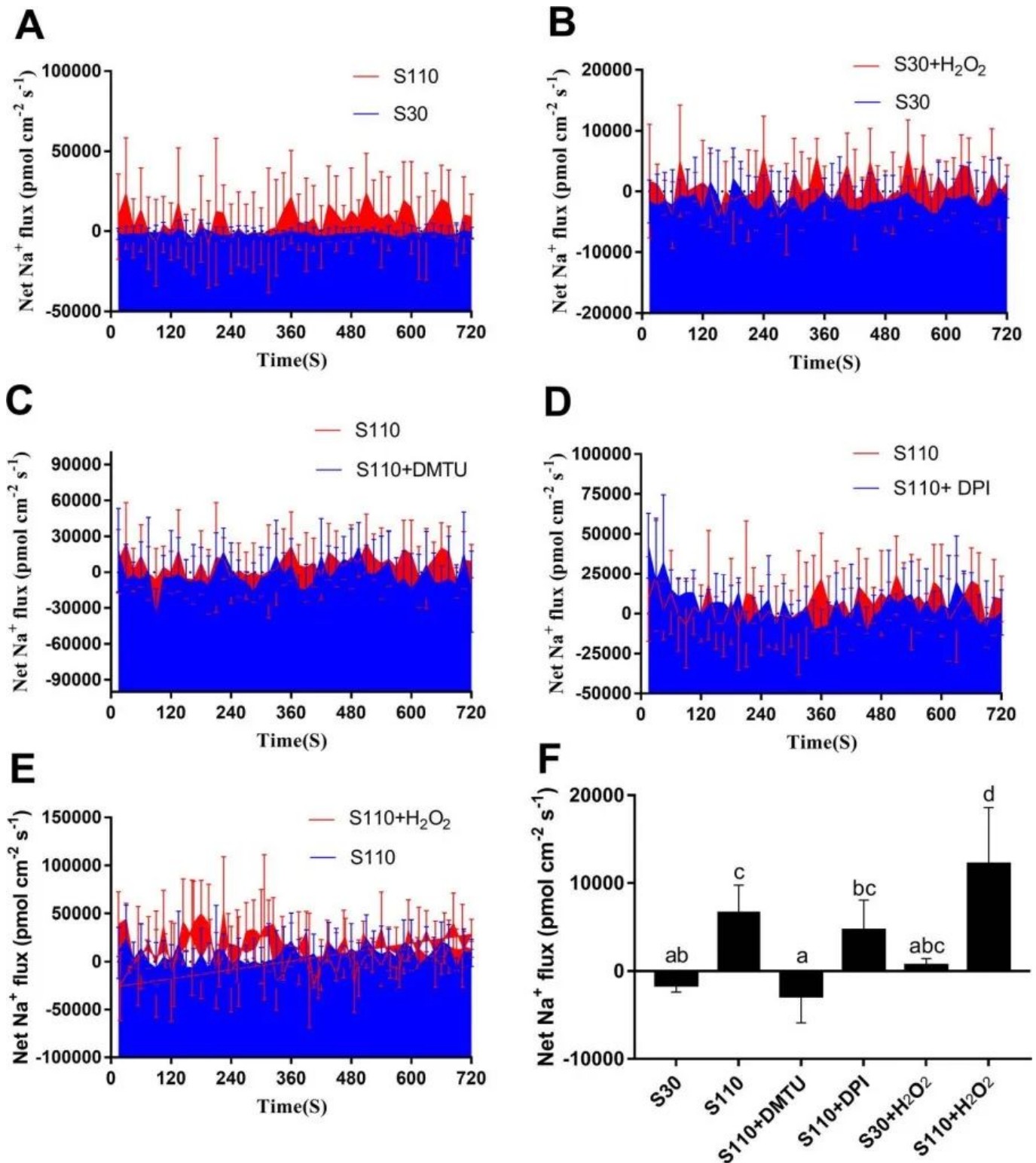
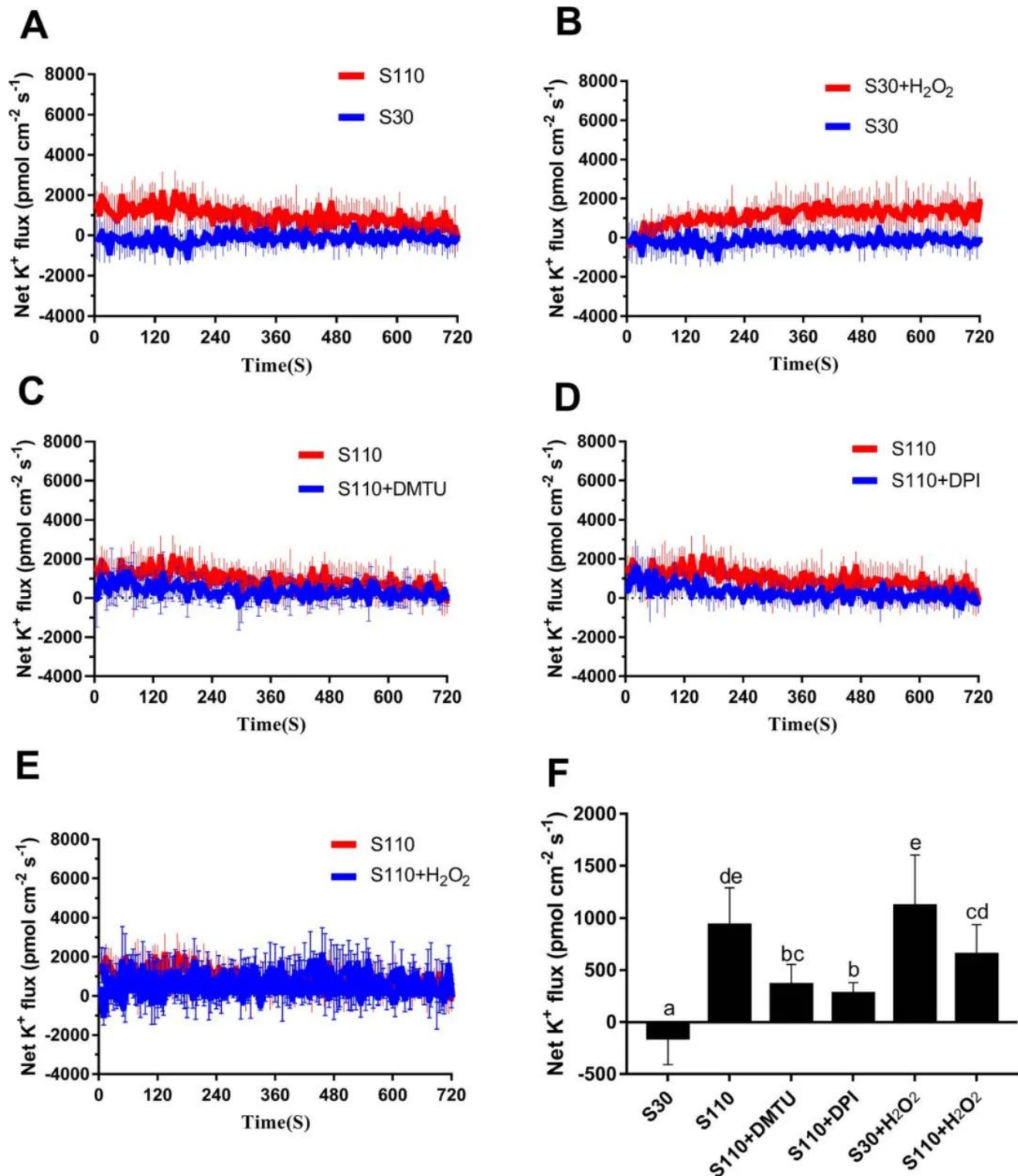


图2. 高盐和抑制剂对坛紫菜 Na^+ 流速的影响

虽然高盐胁迫会引起坛紫菜叶状体 K^+ 外渗（图3A），但外源DMTU或DPI的加入明显抑制了 K^+ 外排（图3C, D）。在S30处理中添加外源 H_2O_2 显著诱导了坛紫菜叶状体的 K^+ 外排（图3B），而在S110处理下 H_2O_2 对叶状体的 K^+ 外排无显著影响（图3E）。S30、S110、S110+DMTU、S11+DPI、S30+ H_2O_2 和S110+ H_2O_2 处理下的平均 K^+ 外排速率分别为-155.59、935.66、362.57、277.68、1121.70和654.74 pmol $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ （图3F）。

图3. 高盐和抑制剂对坛紫菜K⁺流速的影响

正常条件下,坛紫菜叶状体Ca²⁺流速在0 pmol cm⁻²s⁻¹左右波动,而在高盐胁迫下Ca²⁺则显著内流(图4A)。S30和S110处理下Ca²⁺平均流速分别为-3.77和-167.73 pmol cm⁻²s⁻¹(图4D)。S30加外源H₂O₂处理后叶状体的Ca²⁺内流,内流速率为-13.98 pmol cm⁻²s⁻¹(图4B)。ROS清除剂DMTU能显著抑制盐胁迫诱导的坛紫菜Ca²⁺内流(图4C),平均流速为-19.93 pmol cm⁻²s⁻¹,仅为S110处理的11.90%(图4E)。NADPH氧化酶抑制剂DPI(图4D)抑制了盐胁迫诱导的Ca²⁺内流,流速为-49.42 pmol cm⁻²s⁻¹,仅为S110处理的29.46%(图4E)。当verapamil抑制Ca²⁺内流时,Na⁺外排减少。此外,外源Ca²⁺缓解了S110处理下坛紫菜细胞K⁺的外排(图5)。

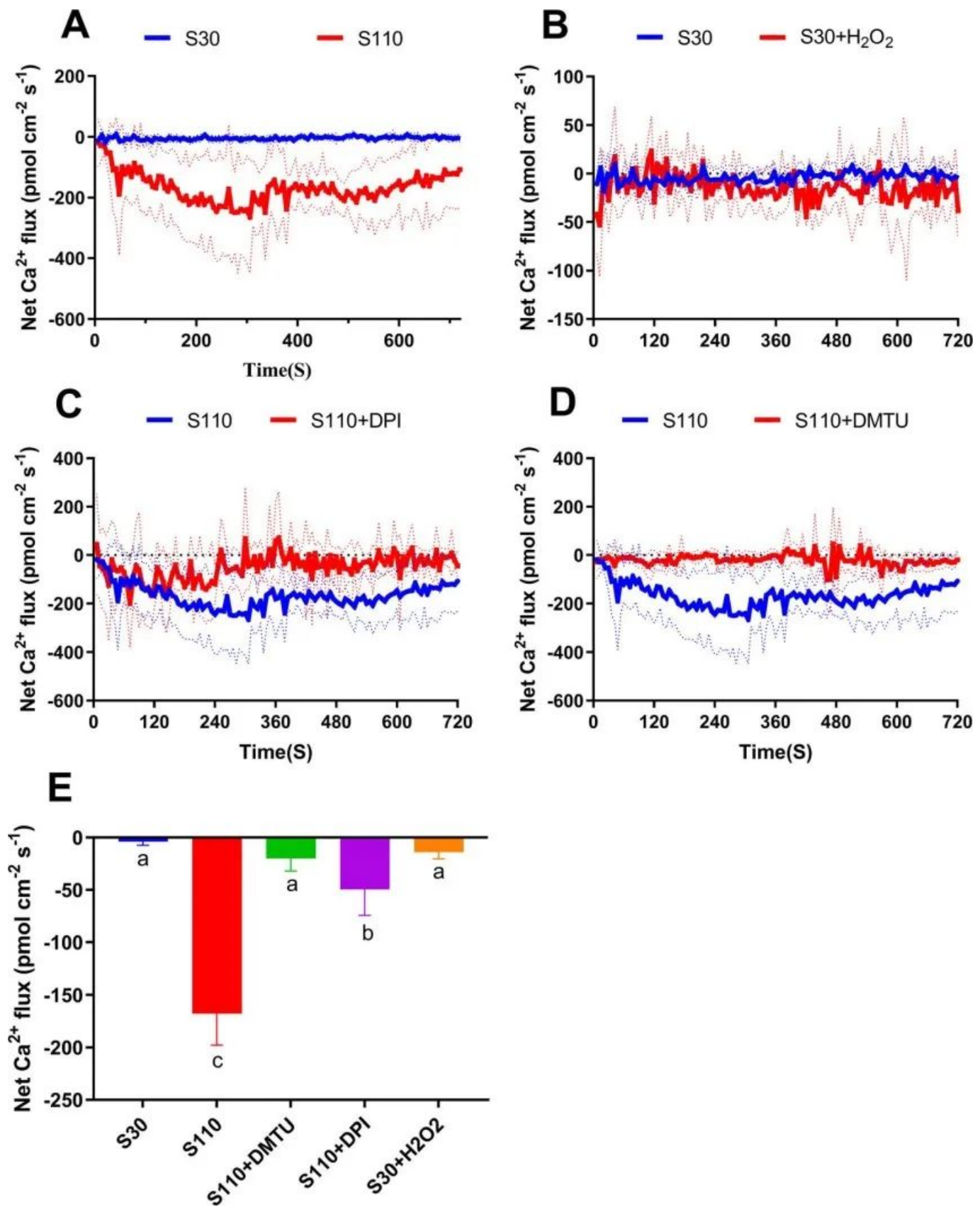


图4. 高盐和抑制剂对坛紫菜 Ca^{2+} 流速的影响

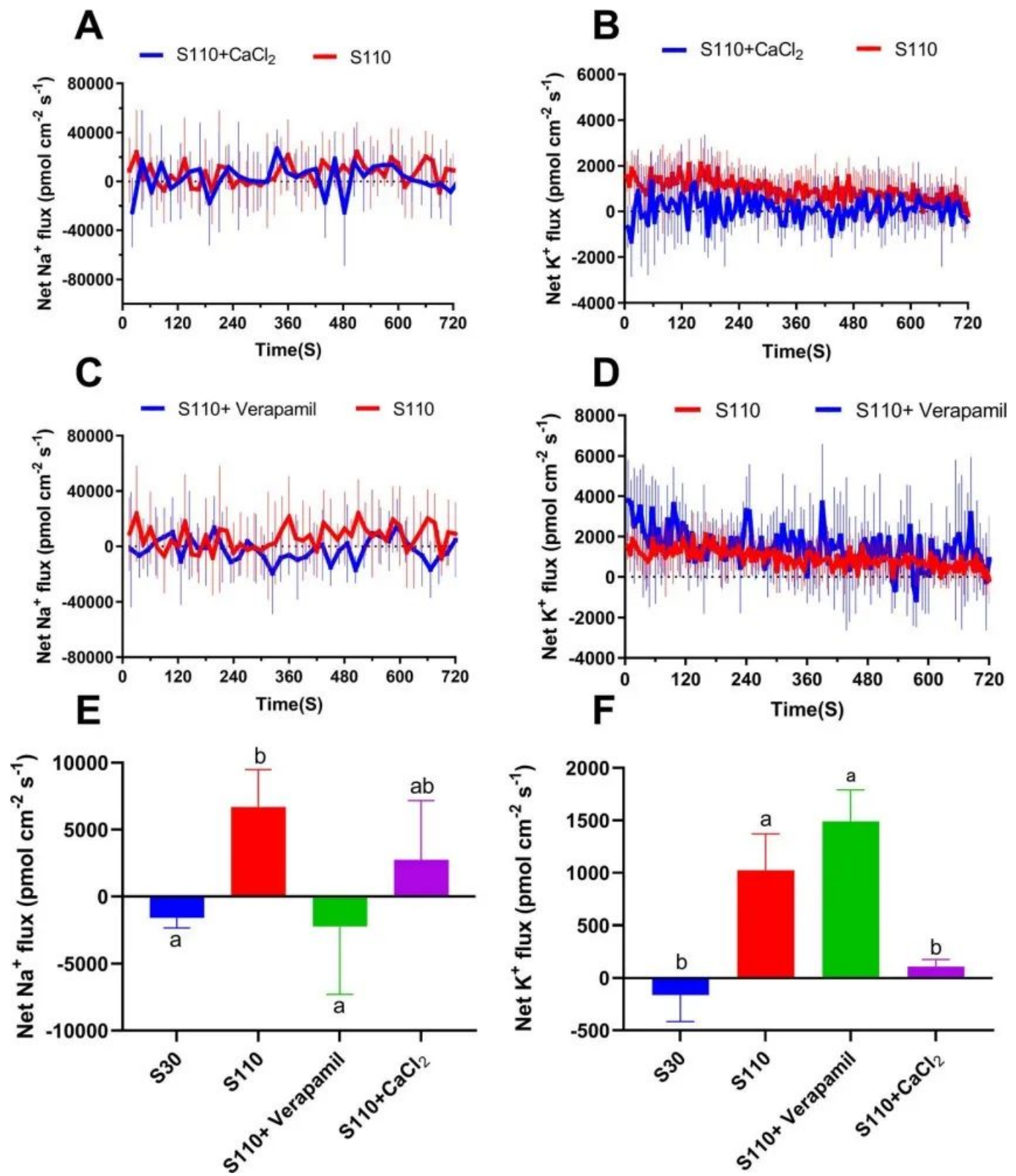


图5. 高盐条件下， Ca^{2+} 对坛紫菜的 Na^+ 和 K^+ 流速的影响

其他实验结果

- 0.1 mM DMTU、10 μM DPI和10 mM Ca^{2+} 浓度对缓解S110处理产生的不利影响最有效。

- SOD活性和H₂O₂含量呈正相关。

结论

综上所述，高盐胁迫处理15 min内NADPH氧化酶和SOD介导的H₂O₂产生激活了坛紫菜的防御反应。盐诱导的H₂O₂促使Ca²⁺内流，激活了坛紫菜细胞Na⁺逆向转运。此外，H₂O₂增强了盐胁迫下坛紫菜细胞的K⁺渗漏，但外源Ca²⁺缓解了这种盐诱导的K⁺外排。因此，在高盐条件下，H₂O₂和Ca²⁺可能独立影响坛紫菜K⁺的转运。本文为植物抗高盐机理提供了新的思路。

测试液

360 mM NaCl, 2.0 mM NaHCO₃, 8.0 mM KCl, 0.1 mM Na₂SO₄, 0.1 mM CaCl₂, pH 8.1

仪器采购信息

- 据中关村NMT产业联盟了解，集美大学水产学院于2017年采购了旭月（北京）科技有限公司的非损伤微测系统。

文章原文：<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02284-0>

感谢本文一作，集美大学王文磊副教授供稿

(唯一的)问答 ID: #1277

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-05 09:18