

# IJMS 北林陈少良: NMT 发现胡杨磷脂酶 D $\alpha$ 促盐胁迫下植物根排 Na<sup>+</sup> 保 K<sup>+</sup> 为探究 PePLD $\delta$ 促耐盐机制提供关键证据



International Journal of  
Molecular Sciences



Article

## *Populus euphratica* Phospholipase D $\delta$ Increases Salt Tolerance by Regulating K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> and ROS Homeostasis in Arabidopsis

Ying Zhang <sup>1,†</sup>, Jun Yao <sup>2,†</sup>, Kexin Yin <sup>1</sup>, Zhe Liu <sup>1</sup>, Yanli Zhang <sup>1</sup>, Chen Deng <sup>1</sup>, Jian Liu <sup>1</sup>, Yinan Zhang <sup>1,3</sup>, Siyuan Hou <sup>1</sup>, Huilong Zhang <sup>4</sup>, Dade Yu <sup>5</sup>, Nan Zhao <sup>1</sup>, Rui Zhao <sup>1</sup> and Shaoliang Chen <sup>1,\*</sup>

### 一、基本信息

研究使用平台: NMT 盐碱胁迫创新平台

期刊: international journal of molecular sciences

主题: NMT 发现胡杨磷脂酶 D $\alpha$  促盐胁迫下植物根排 Na<sup>+</sup> 保 K<sup>+</sup> 为探究 PePLD $\delta$  促耐盐机制提供关键证据

标题: *Populus euphratica* Phospholipase D $\delta$  Increases Salt Tolerance by Regulating K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> and ROS Homeostasis in Arabidopsis

影响因子: 6.208

作者: 北京林业大学陈少良, 张莹, 尧俊

获奖情况: 该成果获得 2022-2023 年度“中关村优秀 NMT 成果奖”二等奖

### 二、检测离子 / 分子指标

Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>

### 三、样品信息

转基因拟南芥根部

### 四、中文摘要

磷脂酶 D $\alpha$  (PLD $\alpha$ ) 产生信号分子磷脂酸 (PA), 已被证明在植物适应盐环境中发挥关键作用。然而, 磷脂酶 D $\delta$  (PLD $\delta$ ) 是否能介导高等植物的盐反应尚不清楚。从耐盐胡杨 (*Populus euphratica*) 中分离出 PePLD $\delta$ , 转入拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中验证转基因植物的耐盐性。NaCl 处理 (130 mM) 降低了野生型 (WT) 拟南芥、载体对照 (VC) 和 PePLD $\delta$  过表达株系的根系生长和全株鲜重, 但在转基因植株中观察到的影响不太明显。在盐处理下, 转 PePLD $\delta$  的拟南芥表现出比 WT 和 VC 更低的电解质泄漏、丙二醛含量和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平, 这是由于抗氧化酶被激活, 编码超氧化物歧化酶、抗坏血酸过氧化物酶和过氧化物酶的基因转录本上调。此外, PePLD $\delta$  过表达的植物增加了编码质膜 Na<sup>+</sup>/

收稿日期: 2023-06-08

编辑作者 E-mail: yanhan@nmtia.org.cn

doi: 10.5281/zenodo.8278254

H<sup>+</sup> 反转运蛋白 (AtSOS1) 和 H<sup>+</sup>-ATPase (AtAHA2) 基因的转录, 这使得转基因植物在盐度下进行 Na<sup>+</sup> 挤压并减少 K<sup>+</sup> 损失。在过表达 PePLD $\delta$  的植物中, 活性氧 (ROS) 和 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 稳态的调节能力与特定 PA 物种的丰度有关。PePLD $\delta$  转基因植物在对照和盐渍条件下保持了典型的更高丰度的 PA 物种, 34:2(16:0-18:2), 34:3(16:0-18:3), 36:4(18:2-18:2), 36:5(18:2-18:3) 和 36:6(18:3-18:3)。值得注意的是, 转基因植物中 PA 34:2(16:0-18:2)、34:3(16:0-18:3)、36:4(18:2-18:2) 和 36:5(18:2-18:3) 对 NaCl 的响应显著增加。综上所述, 我们推测 PePLD $\delta$  衍生的 PA 通过调节 ROS 和 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 稳态来增强拟南芥的耐盐性。

### 五、离子 / 分子流实验处理方法

7 日龄拟南芥幼苗 130mM NaCl 处理 12 小时

### 六、离子 / 分子流实验结果

为了确认 PePLD $\delta$  转基因植物在盐度条件下是否能够保持 Na<sup>+</sup> 挤出, 采用非侵入性微测试技术 (NMT) 记录了根尖中的 Na<sup>+</sup> 流动。在 NaCl 短期暴露 (130 mM 12 h) 后, 所有测试基因型的 Na<sup>+</sup> 外流显著增加, 并且在 PePLD $\delta$  转基因植株中发现了更高的通量率。然而, Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 反转运蛋白抑制剂 amiloride (AMI) 显著降低了 WT、VC 和 PePLD $\delta$  过表达植株中盐诱导的 Na<sup>+</sup> 外排。H<sup>+</sup> 通量记录表明, NaCl 降低了 WT 和 VC 中 H<sup>+</sup> 的净流入, 但盐效应在两个转基因株系中不太明显。NaCl 处理增加了所有被试植物根中 K<sup>+</sup> 的外流, 同时 PePLD $\delta$  转基因拟南芥, 特别是 OE7, 在 NaCl 盐度下具有较强的 K<sup>+</sup> 保留能力。

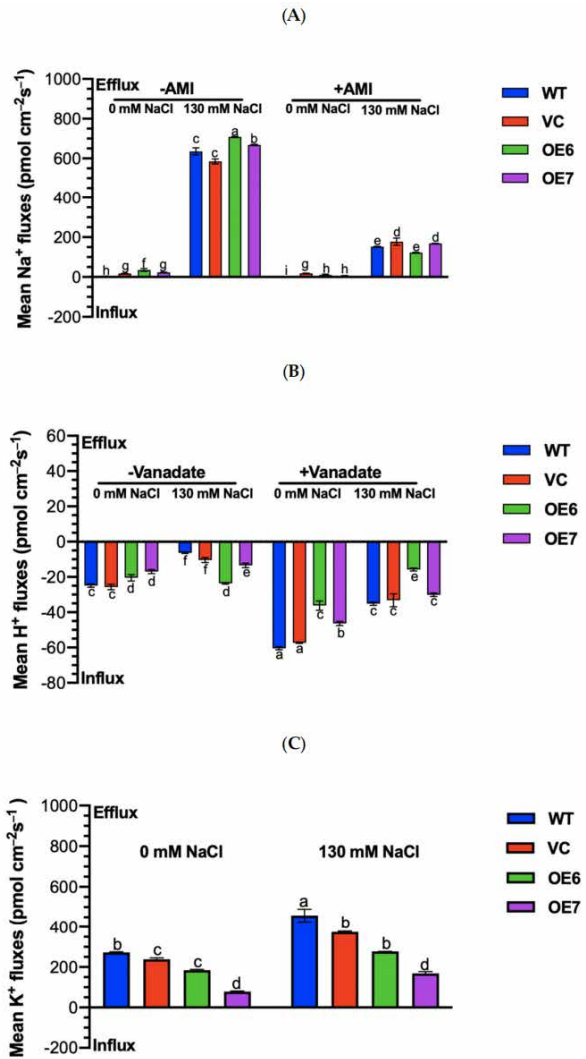


图 1 拟南芥在盐处理下 Na、H、K 流速, 正值代表外排, 负值代表吸收。

### 七、其它实验结果

- 在 130 mM NaCl 处理 7 天后, WT、VC 和 PePLD $\delta$  转基因株系 OE6 和 OE7 的根长相比显著缩短。NaCl 的限制在 WT 和 VC 中比在转基因植物中更为明显。盐胁迫 WT 和 VC 的全株鲜重降幅比转基因株系高 10-31%。而在无盐条件下, 测试品系 WT、VC 和转基因拟南芥的根系生长和鲜重没有显著差异。
- 与 WT 和 VC 相比, PePLD $\delta$  过表达拟南芥在盐处理 12 h 后的相对电导率降低了 12 - 27%, MDA 含量也较高。

● H<sub>2</sub>DCFDA 浓度显示 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平，在所有被测基因型的无盐对照中几乎检测不到。高盐处理后 WT 和 VC 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平在根细胞中显著升高，略高于转基因株系 OE6 和 OE7。

● NaCl 处理后 (130 mM, 7d)，OE6 和 OE7 中的抗氧化酶 SOD、POD 和 APX 的总活性增加了约 50%，而 WT 和 VC 中变化不太明显。在 PePLD $\delta$  过表达的植株中，AtSOD、AtPOD 和 AtAPX 基因的表达量比 WT 和 VC 更高，与酶活性的变化趋势相似。

## 八、结论

我们认为 PePLD $\delta$  过表达正调控植物对 NaCl 的耐盐性。作为信号分子，PePLD $\delta$  衍生的 PA 增加，通过调节 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 和 ROS 稳态来提高拟南芥的耐盐性。

## 九、测试液

0.1 mM NaCl, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM KCl and 2.5% sucrose (pH 5.8)

关键词: K<sup>+</sup>; Na<sup>+</sup>; H<sup>+</sup>; 胡杨; 盐胁迫; 拟南芥; 根; 植物类

文献信息: Zhang Y, Yao J, Yin K, Liu Z, Zhang Y, Deng C, Liu J, Zhang Y, Hou S, Zhang H, Yu D, Zhao N, Zhao R, Chen S. *Populus euphratica* Phospholipase D $\delta$  Increases Salt Tolerance by Regulating K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> and ROS Homeostasis in Arabidopsis. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 28;23(9):4911. doi: 10.3390/ijms23094911. PMID: 35563299; PMCID: PMC9105705.

(责任编辑: 李雪霏)