

# 盐胁迫下宁夏枸杞根系 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 平衡及抑制劑对其影响的研究

朱志明<sup>1</sup>, 毛桂莲<sup>2</sup>, 许 兴<sup>3</sup>, 王 盛<sup>2</sup>, 郑 蕊<sup>2</sup>, 杨淑娟<sup>2</sup>

(1. 宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021;  
3. 宁夏大学西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室, 宁夏 银川 750021)

**摘要:** 以宁夏枸杞为试验材料, 利用非损伤微测技术及原子吸收分光光度法, 研究 NaCl 胁迫下枸杞根系中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  吸收转运及质膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白抑制剂阿米洛利和质膜  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$  抑制剂硫酸钠对宁夏枸杞根系离子平衡的影响。结果表明: 随着 NaCl 胁迫浓度的增加, 枸杞根系中  $\text{Na}^+$  含量总体升高, 与对照差异不显著;  $\text{K}^+$  含量呈先升后降趋势;  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  呈先降后升趋势, 且低于对照;  $\text{Na}^+$  外排先增加后减少,  $\text{K}^+$  外排降低, 且显著高于对照。随着胁迫时间的延长, 枸杞根系中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  含量增加,  $\text{Na}^+$  外排逐渐减慢,  $\text{K}^+$  外排增加; 阿米洛利与硫酸钠均显著降低了盐诱导下的  $\text{Na}^+$  和  $\text{H}^+$  内流。NaCl 胁迫下宁夏枸杞根系借助于其质膜上的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向运输系统, 将胞内过量的  $\text{Na}^+$  排出胞外, 同时抑制  $\text{K}^+$  外排, 保持细胞内较低的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , 维持胞内  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  平衡, 从而表现出较强的耐盐性。

**关键词:** NaCl 胁迫; 枸杞; 非损伤微测技术;  $\text{Na}^+$ ;  $\text{K}^+$ ; 离子平衡; 抑制剂

**中图分类号:** S567.1+9 **文献标志码:** A

## Effect of salt stress and inhibitor on uptake and transportation of $\text{Na}^+$ and $\text{K}^+$ in the root of *Ningxia Lycium barbarum* L.

ZHU Zhi-ming<sup>1</sup>, MAO Gui-lian<sup>2</sup>, XU Xing<sup>3</sup>, WANG Sheng<sup>2</sup>, ZHENG Rui<sup>2</sup>, YANG Shu-juan<sup>2</sup>

(1. Agricultural College of Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China;  
2. Life science College of Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China;

3. Key Laboratory of Restoration and Reconstruction of the Ministry of Education, Northwest Degradation Ecosystem, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

**Abstract:** We detected absorption and transportation of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  in the root of *Ningxia Lycium barbarum* L. under NaCl stress by using non-invasive micro-test technology and atomic absorption spectrophotometry. The results showed that the root exhibited a higher capacity to induce the  $\text{Na}^+$  efflux compared with that of control. The higher the concentration of NaCl, the more  $\text{Na}^+$  accumulated in the root, but have no significant difference with CK. The  $\text{K}^+$  content increased first and then declined, and the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio showed the opposite trend. The longer duration of NaCl treatment, the more  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  accumulated. At the mean time, the lower  $\text{Na}^+$  efflux and higher  $\text{K}^+$  efflux were also observed in the root compared with that of control. These results suggested that initial salt stress enhanced the salt-elicited  $\text{Na}^+$  efflux but inhibited  $\text{K}^+$  efflux to maintain the lower  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio and cellular  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  homeostasis. The NaCl-induced  $\text{Na}^+$  efflux and  $\text{H}^+$  influx were inhibited by amiloride (a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter inhibitor) or sodium orthovanadate (a plasma membrane  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$  inhibitor), indicating that  $\text{Na}^+$  extrusion in the root of *Ningxia Lycium barbarum* L. arises from the active  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter across the plasma membrane.

**Keywords:** NaCl stress; *Lycium barbarum* L.; non-invasive micro-test technology;  $\text{Na}^+$ ;  $\text{K}^+$ ; ion homeostasis; inhibitors

近年来, 土壤盐渍化问题日益突出, 全球近 20% 的耕地都不同程度的受到土壤盐碱化的影响,

成为农业生产及生态环境中一个全球性问题<sup>[1]</sup>。盐胁迫对植物的伤害主要表现为  $\text{Na}^+$  在细胞中大量累积,使细胞内代谢活动受到抑制,离子平衡被破坏<sup>[2]</sup>。高  $\text{Na}^+$  通过直接干扰和抑制细胞质膜对营养元素( $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$ ) 的吸收和转运,造成离子失衡和营养缺乏。有研究表明,在盐胁迫下植物能否维持细胞内的离子平衡,尤其是  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡,是其耐盐性强弱的决定性因素<sup>[3]</sup>。Zhu J K 等<sup>[4]</sup>研究了植物细胞  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡的信号转导和分子调控网络;檀叶青等<sup>[5]</sup>对胡杨细胞  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡及其耐盐机理方面做了大量研究,揭示了耐盐林木通过其质膜上的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向运输系统,将胞内过量  $\text{Na}^+$  排出胞外,同时抑制  $\text{K}^+$  外排,保持细胞内较低的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ,从而增加其耐盐性。盐生植物宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)具有耐盐碱、耐旱、繁殖能力强等特点,是宁夏特色优势产业之一,对于其耐盐性及耐盐机理,毛桂莲等<sup>[6]</sup>研究了  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下 3 种灌木  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  的吸收及转运,以及碱胁迫对宁夏枸杞叶中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  动态变化的影响<sup>[7]</sup>。但对于  $\text{NaCl}$  胁迫下宁夏枸杞根系  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  调控机制,以及耐盐机理仍未明确,且目前大多研究集中在离子平衡静态方面,对其动态变化研究鲜有涉及。非损伤微测技术在不损伤植物体的情况下,能获得持续、稳定、活体离子流信息,为研究离子动态变化提供了便利。本试验采用非损伤微测技术,探讨盐胁迫下宁夏枸杞根系  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  离子平衡及抑制剂对其影响,以期对宁夏枸杞耐盐机理及盐碱地枸杞栽培研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为宁夏育新枸杞公司育种基地的枸杞品种“宁杞 1 号”。

### 1.2 材料培养及处理

取一年生“宁杞 1 号”硬枝扦插苗为试验材料,采用沙土(沙土比 1:1)于 2016 年 4 月在宁夏大学农科基地温室培养,定期浇水,保持土壤湿度。并每两周浇一次全营养液,于 2016 年 5 月中旬选取长势良好一致的土培苗转入含 1/4 浓度 Hoagland 营养液的水培瓶(口径 15 cm,高 25 cm)中进行水培,每瓶 5 株,定期更换新鲜营养液。整个试验期间按水培常规管理方法进行。待新根长出后,选取长势一致的幼苗,在含 1/4 浓度 Hoagland 营养液中加入盐溶液进行处理。每天更换含预定处理盐浓度的营养液以保证处理期间盐浓度保持不变。每个处理重复 10 瓶。具体处理方法见表 1。

表 1 试验处理方法

Table 1 Methods of treatment

| 处理<br>Treatment | 处理溶液<br>Solution  | 盐处理浓度<br>Salt<br>concentration   | 处理时间<br>Time |
|-----------------|-------------------|--|--------------|
| A(CK)           | NaCl 溶液           | 0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  | 24 h, 7 d    |
| B               | NaCl 溶液           | 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   | 24 h, 7 d    |
| C               | NaCl 溶液           | 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  | 24 h, 7 d    |
| D               | NaCl 溶液 +<br>钒酸钠  | 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ +<br>500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 30 min       |
| E               | NaCl 溶液 +<br>阿米洛利 | 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ +<br>500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 30 min       |

注:表中处理 D、E 是将  $\text{NaCl}$  处理 7 d 的枸杞根系放在抑制剂中孵育 30 min 后测定离子流速。

Note: The treatments of D and E in the table are the determination of the ion velocity after the  $\text{NaCl}$  treatment of 7 d in the root of the *Lycium barbarum* L. and incubated with 30 min inhibitor.

### 1.3 测定项目及方法

1.3.1  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  含量的测定 分别取处理 24 h、7 d 后的枸杞根系烘干粉碎后称取 50 mg 干样,用 10 ml 去离子水沸水条件下浸提 60 min,采用原子分光光度计(TAS-990, Purkinje General, 北京)测定根系中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  含量<sup>[8]</sup>。每个处理重复 5 次。

1.3.2  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  离子流速的测定 利用非损伤微测技术(NMT)检测(旭月(北京)科技有限公司 NMS 系统(Younger USA LLC, Amherst, MA 01002, USA))测定根细胞  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  离子流,具体检测方法及原理参照相关文献<sup>[9-11]</sup>。

测定过程中将选择性离子电极在尖端不触碰根表面的情况下尽量靠近根面。选择性离子电极以此为起点,沿  $x$ 、 $y$ 、 $z$  轴三个方向进行三维立体往复测试。电极运动一次间距(从近待测根表面一端到远待测根表面一端)为 30  $\mu\text{m}$ ,运动频率为 0.3 ~ 0.5 Hz。测试离子流速可通过 Fick's 扩散法则计算得出,公式如下:

$$J = -D(dc/dx)$$

式中, $J$  为  $x$  方向的离子流; $D$  为在特定介质中离子或分子扩散常数; $dc/dx$  为离子浓度梯度。离子流数据根据旭月公司提供的 Mage Flux 在线软件(<http://www.youngerusa.com>) 计算得出。本试验中阳离子外流表示为正值,内流为负值,且所得数据是净离子流速,即内流与外流相抵消后的离子流速。

$\text{K}^+$  流速测定:微电极前端灌充有 15 ~ 25  $\mu\text{m}$  选择性的  $\text{K}^+$  的液态交换剂,其后灌充 10 mm 左右的电解液柱(100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl),将电极固定器上的 Ag/AgCl 丝从电极后面插入,使其与电解液接触,固体电极作为参比电极。玻璃微电极需要校正后使用。 $\text{K}^+$  校正液为 0.05、0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和 0.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  缓冲液( $\text{K}^+$  测试液为 0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。

**Na<sup>+</sup> 流速测定:**微电极前端灌充 15 ~ 25  $\mu\text{m}$  选择性 Na<sup>+</sup> 的液态交换剂,其后灌充有 10 mm 左右的电解液柱(250  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl),玻璃微电极器上的 Ag/AgCl 丝从电极后面插入,使其与电解液接触,固体电极作为参比电极。玻璃微电极需要校正后使用。Na<sup>+</sup> 校正液为 0.5、0.9  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和 5.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  缓冲液(Na<sup>+</sup> 测试液为 0.9  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。

**H<sup>+</sup> 流速测定:**微电极前端灌充 15 ~ 25  $\mu\text{m}$  选择性的 H<sup>+</sup> 的液态交换剂,其后灌充有 10 mm 左右的电解液柱(40  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 15  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl),玻璃微电极器上的 Ag/AgCl 丝从电极后面插入,使其与电解液接触,固体电极作为参比电极。玻璃微电极需要校正后使用。H<sup>+</sup> 校正液为 0.1 mM NaCl、0.1 mM  $\text{MgCl}_2$ 、0.1 mM  $\text{CaCl}_2$  和 0.5 mM KCl (H<sup>+</sup> 测试液为 0.1 mM NaCl、0.1 mM  $\text{MgCl}_2$ 、0.1 mM  $\text{CaCl}_2$ 、0.5 mM KCl 和 2.5% 蔗糖,用 HCl 和 KOH 调节 pH 至 5.5)。

#### 1.4 数据处理

离子流检测数据由旭月(北京)科技有限公司的统计软件完成,数据统计分析和作图采用 Excel 和

SPSS1 7.0 软件进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaCl 胁迫下枸杞根系中 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> 含量

在盐处理浓度(50、100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )相同条件下,随着胁迫时间的增加,枸杞根系中 Na<sup>+</sup> 含量总体呈升高趋势,其中 7 d, 100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理的 Na<sup>+</sup> 含量最高,与其它处理之间的差异显著。在相同的胁迫时间内(24 h),随着胁迫浓度的升高,不同处理间的 Na<sup>+</sup> 含量差异不显著。当处理时间为 7 d 时,Na<sup>+</sup> 含量总体呈上升趋势,50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理与对照差异不显著,100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理与对照及 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理差异均达到显著水平。同一胁迫时间(24 h)内,随着胁迫浓度的增加,K<sup>+</sup> 含量呈先升后降趋势,不同处理之间的差异显著,且显著高于对照。处理时间为 7 d 时两种盐浓度处理间的差异不显著;与对照相比,两种盐处理的 K<sup>+</sup> 含量均显著升高。同一胁迫浓度下(50、100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),随胁迫时间的增加,K<sup>+</sup> 含量呈缓慢上升趋势;长时间的盐处理增加了枸杞根系中 K<sup>+</sup> 含量。

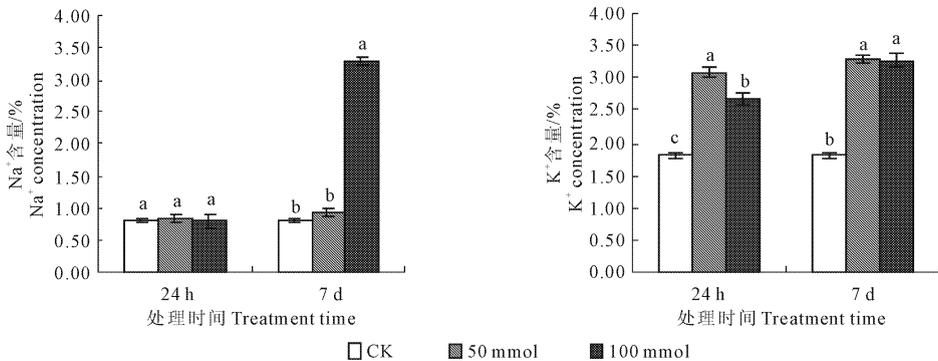


图 1 不同浓度盐处理下钠离子、钾离子含量

Fig.1 Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> contents under different treatments

### 2.2 NaCl 胁迫下枸杞根系中 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

相同的胁迫时间内,随着胁迫浓度的增加,宁夏枸杞根系中 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 呈先降后升趋势,24 h, 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理下 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 最低,比对照下降了 38.6%, 7 d, 100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理下 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 比对照下降了 18.2%, 比同浓度 24 h 处理增加了 16.7%。不同浓度处理与对照的差异显著,Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 在 24 h 处理下显著低于对照(图 2)。相同胁迫浓度下,随着胁迫时间的增加 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 呈上升趋势。

### 2.3 不同 NaCl 处理下 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、H<sup>+</sup> 离子转运

NaCl 胁迫下不同处理 Na<sup>+</sup> 外排速率均显著高于对照(CK),外排明显增加。24 h, 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理的平均净 Na<sup>+</sup> 外排速率最高,较对照增加了

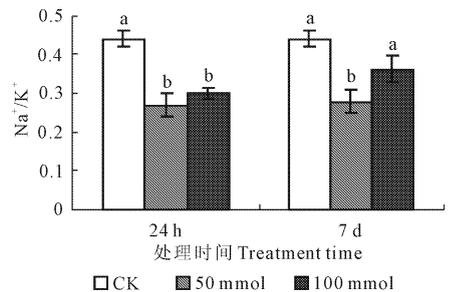


图 2 不同处理下枸杞根系中 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

Fig.2 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> under different treatments

83.6%(图 3a)。相同胁迫时间内,随着胁迫浓度的增加,平均净 Na<sup>+</sup> 外排速率表现为先升后降趋势,且始终高于对照,与对照差异显著。随着胁迫时间的

增加,同一胁迫浓度下  $\text{Na}^+$  外排速率降低,胁迫 24 h 后,不同浓度处理之间的差异显著,处理时间增加到 7 d 后,不同浓度处理与对照相比差异显著(图 3b)。NaCl 胁迫下  $\text{K}^+$  外排明显增加,显著高于对照(图 3c)。在相同的胁迫时间内(24 h),随着胁迫浓度的增加,平均净  $\text{K}^+$  流速先增加,后下降,不同浓度间的差异显著。胁迫时间为 7 d 时,随胁迫浓度增加  $\text{K}^+$  外排持续增加,处理间的差异达到显著水平。7

d,  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理的平均净  $\text{K}^+$  外排速率最大,较对照增加了 94.8%,较同时间的  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理增加了 67.3%。在相同胁迫时间内(7 d),随着胁迫浓度的增加, $\text{K}^+$  流速呈先下降后上升趋势(图 3 d)。  $\text{H}^+$  内流速率(除 24 h,  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理外)随着胁迫时间和胁迫浓度的增加而显著增加,处理间的差异达到显著水平(图 3e)。

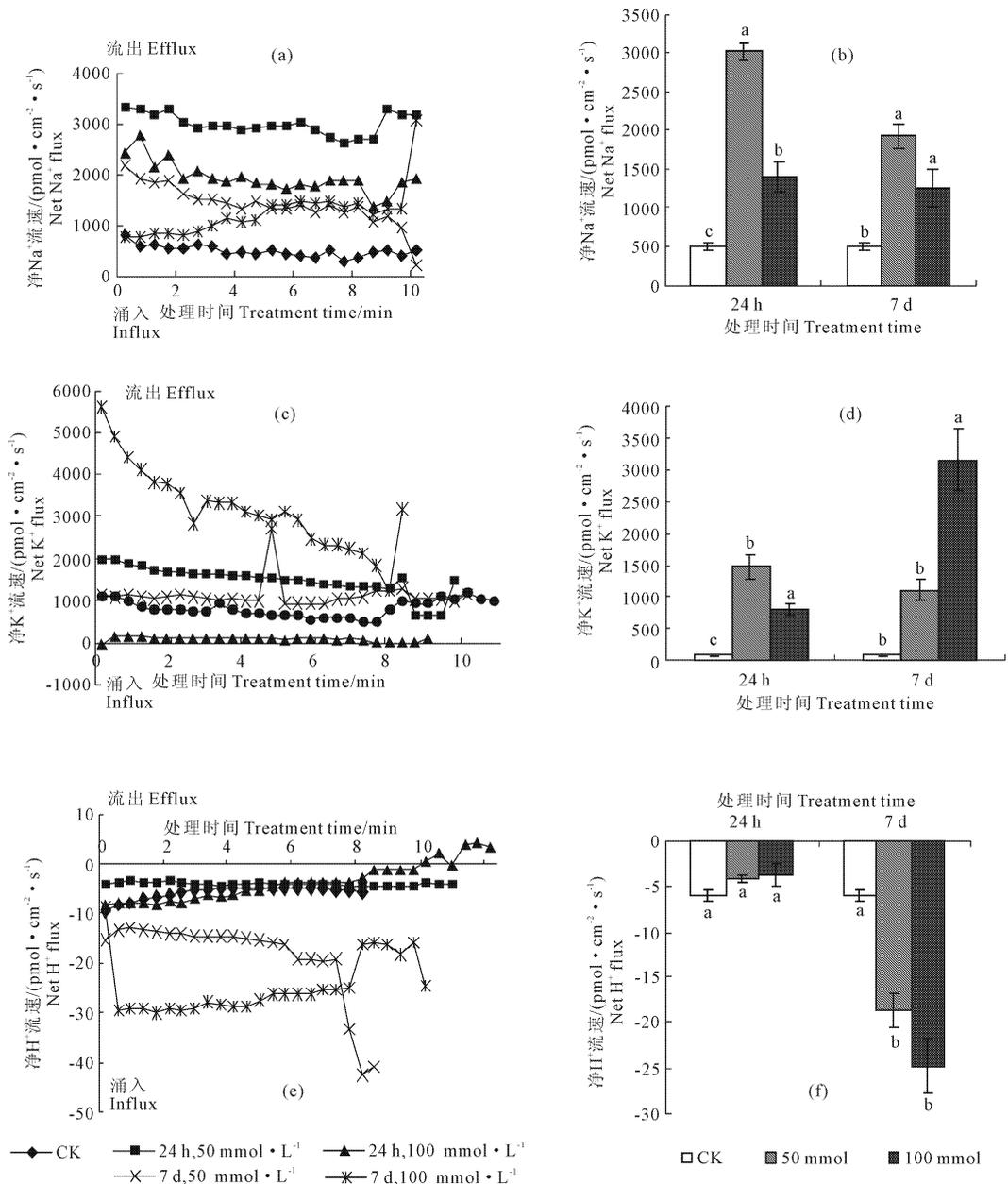


图 3 NaCl 胁迫下枸杞根系净  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{H}^+$  转运

Fig.3 Effect of NaCl stress on  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  fluxes in root of *Lycium barbarum* L.

注:图中数据表示 10 min 内枸杞根系净  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{H}^+$  动态转运(a,c,e 图)及 10 min 内平均  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{H}^+$  转运速率(b,d,f 图)。图中数据为每个测定区域内数个测定位置的离子流速的平均值。

Note: Data are expressed as the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  flux kinetics on the roots of *Lycium barbarum* L. (a, c, e figure) and the average  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  fluxes of *Lycium barbarum* L. in ten minutes(b, d, f figure). Data are the average of the ion velocity of a plurality of measurement positions in each measurement area.

## 2.4 两种抑制剂处理下 $\text{Na}^+$ 、 $\text{H}^+$ 离子流速

图 4 结果表明,与  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  不加抑制剂处理相比,两种抑制剂处理下净  $\text{Na}^+$  外排速率显著降低,两者差异显著,钒酸钠处理的净  $\text{Na}^+$  外排速率较  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  不加抑制剂的处理降低了 74.3%,差异达到显著水平。阿米洛利处理的净  $\text{Na}^+$  外排速率较  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  不加抑制剂的处理降低了 77.8%,

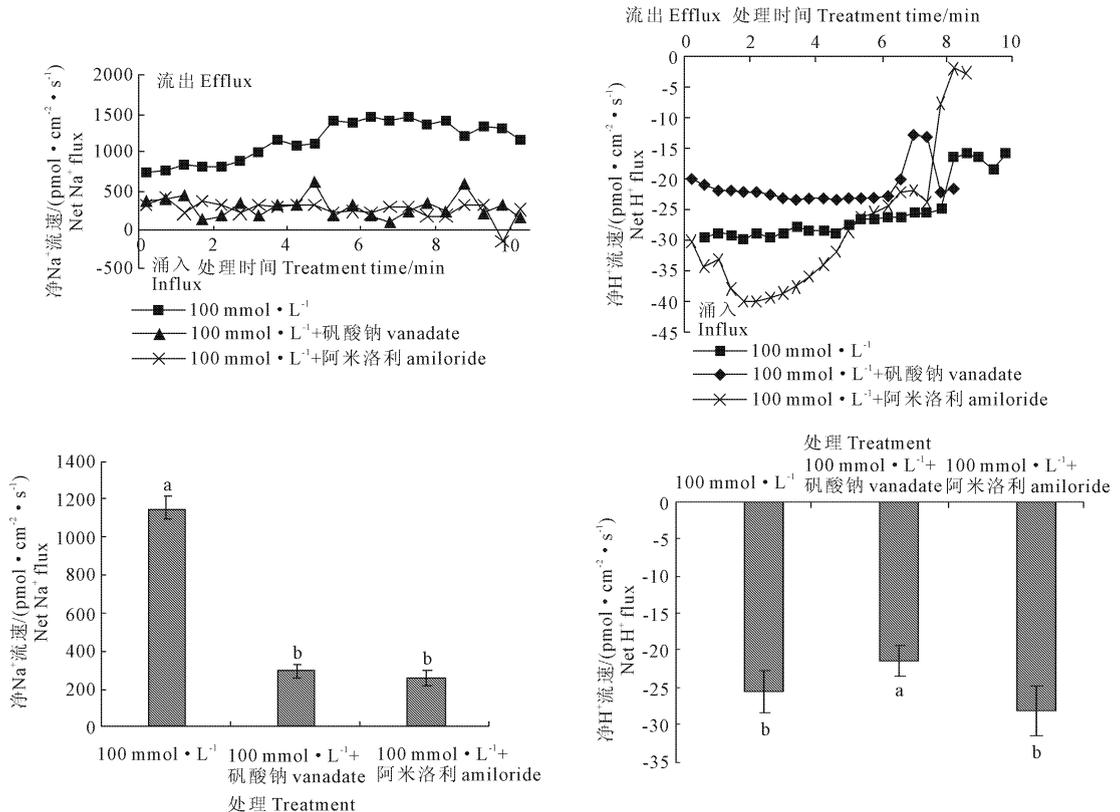


图 4 抑制剂阿米洛利与钒酸钠处理的枸杞根系  $\text{Na}^+$ 、 $\text{H}^+$  转运

Fig.4 Effect of amiloride and vanadate on net  $\text{Na}^+$ 、 $\text{H}^+$  fluxes in root of *Lycium barbarum* L.

注:图中数据为每个测定区域内数个测定位置的离子流速的平均值

Note: Data are the average of the ion fluxes of a plurality of measurement positions in each measurement area.

## 3 讨论与结论

植物体内积累过多  $\text{Na}^+$  会对其产生毒害作用,耐盐植物通过调节细胞内的离子平衡,降低离子毒害进而增加其耐盐性<sup>[12]</sup>。初始盐胁迫下,枸杞根系中  $\text{Na}^+$  含量增加缓慢,与对照差异不显著,随着胁迫时间及浓度的增加, $\text{Na}^+$  含量显著增加。结合  $\text{Na}^+$  流速结果分析,初始盐胁迫下  $\text{Na}^+$  外排迅速增加,随着胁迫时间及浓度的增加外排减慢,但始终高于对照,表现为明显的外排。上述结果表明,在短期低浓度盐胁迫下,宁夏枸杞根细胞为了降低  $\text{Na}^+$  毒害,将胞内过多的  $\text{Na}^+$  排出胞外,维持细胞内较低的  $\text{Na}^+$  浓度,从而降低了  $\text{Na}^+$  毒害。

前人研究表明, $\text{K}^+$  在植物抗盐性中起到重要作

两者差异显著。与  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  不加抑制剂处理相比,钒酸钠处理的净  $\text{H}^+$  内流速率降低了 15.7%,差异达到显著水平。两种抑制剂显著降低了  $\text{Na}^+$  外排及  $\text{H}^+$  内流速率;钒酸钠抑制剂对  $\text{H}^+$  内流抑制作用更加明显,阿米洛利抑制剂对  $\text{Na}^+$  外排速率影响更明显,两种抑制剂对枸杞根系  $\text{Na}^+$  外排及  $\text{H}^+$  内流具有显著调控作用。

用,而高浓度  $\text{Na}^+$  又会诱导组织内  $\text{K}^+$  含量降低,从而造成盐害<sup>[11]</sup>。本试验中,与未经处理的 CK 相比,盐胁迫下宁夏枸杞根系中的  $\text{K}^+$  含量会显著增加, $\text{K}^+$  外流先增加后降低,分析其原因可能是由于初始胁迫下  $\text{Na}^+$  进入细胞会诱发质膜电位去极化<sup>[13]</sup>,并激活质膜外向整流型  $\text{K}^+$  通道(DA - KORCs)和非选择性阳离子通道(DA - NSCCs)<sup>[14]</sup>,从而引起  $\text{K}^+$  外流。随着盐胁迫时间延长和胁迫浓度的增加,质膜  $\text{H}^+$  - ATPase 降低了质膜的去极化程度,减少了通过去极化激活通道的流失。 $\text{K}^+$  外流由快减慢,进而使胞内含有较高的  $\text{K}^+$  浓度。

植物在盐胁迫环境下维持细胞内较低的  $\text{Na}^+$  /  $\text{K}^+$  平衡对其抗盐性具有重要作用。对耐盐胡杨的研究表明主要通过增加  $\text{Na}^+$  外排,限制  $\text{K}^+$  外流来调

节盐胁迫下组织或细胞中的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡<sup>[4,15-16]</sup>。本试验中,宁夏枸杞根系中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  在  $\text{NaCl}$  胁迫下显著低于对照,表明宁夏枸杞根系能够调节胞内  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡,促进胞内  $\text{Na}^+$  外排,同时抑制  $\text{K}^+$  外流,维持细胞内较低的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ,进而增加其耐盐性。本试验研究结果与前人在耐盐胡杨上的研究结果吻合。

抑制剂试验结果显示,质膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白抑制剂阿米洛利(Amiloride)和质膜  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$  抑制剂钒酸钠(Vanadate)都显著降低了短期盐胁迫下宁夏枸杞根系的  $\text{Na}^+$  外流和  $\text{H}^+$  内流,表明在盐胁迫下质膜  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$  水解 ATP 产生的能量将  $\text{H}^+$  泵出,激活了  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运体的活性, $\text{H}^+$  进入胞内的同时, $\text{Na}^+$  排出胞外<sup>[17]</sup>。试验结果进一步说明,宁夏枸杞根系能够将胞内过多的  $\text{Na}^+$  排出胞外是源于其体内的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向运输。此研究结果与前人在木榄植物的研究成果相似<sup>[11]</sup>。

综上所述,宁夏枸杞根系调控  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  平衡可能有两种方式:一是借助于质膜上的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白载体将胞质中过量的  $\text{Na}^+$  外排,质膜上的  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$  水解 ATP 产生能量,将  $\text{H}^+$  从细胞质中泵出,从而产生跨质膜的  $\text{H}^+$  电势梯度, $\text{H}^+$  顺着电势梯度进入细胞的同时, $\text{Na}^+$  逆着电势梯度被排出细胞,从而保持细胞内较低的  $\text{Na}^+$  含量;另一方面可能是通过提高质膜  $\text{H}^+$  泵活性来减少  $\text{K}^+$  外流。提高质膜  $\text{H}^+$  泵活性可以在为  $\text{Na}^+$  跨膜外排提供浓度梯度的同时,降低质膜去极化程度,进而减少  $\text{K}^+$  外流。从而保持细胞内较低的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ,提高其耐盐性。

本试验在前人研究基础上,采用目前较为先进的非损伤微测技术测定了活体植物离子流,可以更为准确地揭示植物体内离子流动态变化规律及植物耐盐机理。然而植物耐受盐胁迫是一个复杂的生理过程,本试验仅涉及了盐胁迫下枸杞根系离子含量及其动态变化,对于其茎叶中离子变化尚未涉及,在后续研究中可进一步设置试验进行深入探讨。

#### 参考文献:

[1] Zhu J K. Plant salt tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2):66-71.

- [2] 郭瑞,李峰,周际,等.亚麻响应盐、碱胁迫的生理特征[J].植物生态学报,2016,40(1):69-79.
- [3] 王晓冬,王成,马智宏,等.短期  $\text{NaCl}$  胁迫对不同小麦品种幼苗  $\text{K}^+$  吸收和  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  积累的影响[J].生态学报,2011,31(10):2822-2830.
- [4] Zhu J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003,6(5):441-445.
- [5] 檀叶青,邓澍荣,孙苑玲,等.胡杨  $\text{PeAPY1}$  和  $\text{PePY2}$  在提高植物抗旱耐盐性上的功能解析[J].基因组学与应用生物学,2014,33(4):860-868.
- [6] 毛桂莲,李国旗,许兴,等.  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下 3 种灌木  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  的吸收及转运[J].应用生态学报,2014,25(3):718-724.
- [7] 毛桂莲,许兴,张新学.碱胁迫对宁夏枸杞叶中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  动态变化的影响[J].宁夏大学学报:自然科学版,2012,33(3):283-287.
- [8] Tieman D M, Handa A K. Reduction in pectin methylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.) fruits[J]. Plant Physiology, 1994, 106(2):429-436.
- [9] 印莉萍,上官宇,许越.非损伤性扫描离子选择电极技术及其在高等植物研究中的应用[J].自然科学进展,2006,16(3):262-266.
- [10] Sun J, Dai S, Wang R, et al. Calcium mediates root  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  homeostasis in poplar species differing in salt tolerance[J]. Tree Physiology, 2009,29(9):1175-1186.
- [11] 郎涛,李妮亚,鲁彦君,等.胞外  $\text{ATP}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  与  $\text{NO}$  调控木榄根系离子平衡机理研究[J].北京林业大学学报,2014,36(4):18-22.
- [12] 宁建凤,郑青松,杨少海,等.高盐胁迫对罗布麻生长及离子平衡的影响[J].应用生态学报,2010,21(2):325-330.
- [13] James R A, Munns R, Caemmerer S V, et al. Photosynthetic capacity is related to the cellular and subcellular partitioning of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$  in salt-affected barley and durum wheat[J]. Plant Cell & Environment, 2006,29(12):2185-2197.
- [14] Cuin T A, Shabala S, Betts S A, et al. A root's ability to retain  $\text{K}^+$  correlates with salt tolerance in wheat[J]. Journal of Experimental Botany, 2008,59(10):2697-2706.
- [15] Sun J, Wang M J, Ding M Q, et al.  $\text{H}_2\text{O}_2$  and cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  signals triggered by the  $\text{PM H}^+$ -coupled transport system mediate  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  homeostasis in  $\text{NaCl}$ -stressed populus euphratica cells[J]. Plant Cell & Environment, 2010,33(6):943-958.
- [16] Sun J, Zhang X, Deng S, et al. Extracellular  $\text{ATP}$  signaling is mediated by  $\text{H}_2\text{O}_2$  and cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  in the salt response of populus euphratica cells[J]. Plos One, 2012,7(12):e53136.
- [17] Britto D T, Kronzucker H J. Cellular mechanisms of potassium transport in plants[J]. Physiologia Plantarum, 2008,133(4):637-650.