

## 盐胁迫下海马齿生理指标变化及相关基因表达分析

李雨欣<sup>1</sup> 罗秀丽<sup>1</sup> 张婷婷<sup>1</sup> 康宇乾<sup>1</sup> 王鹏<sup>1</sup> 江行玉<sup>2</sup> 周扬<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>海南大学 园艺学院/海南省热带园艺作物品质调控重点实验室,海口 570228;<sup>2</sup>海南大学 热带作物学院/海南省耐盐作物生物技术重点实验室,海口 570228

\*通讯作者, [zhouyang@hainanu.edu.cn](mailto:zhouyang@hainanu.edu.cn)

**摘要** 盐胁迫是限制植物生长发育的主要非生物胁迫之一。本研究以盐生植物海马齿(*Sesuvium portulacastrum*)为研究对象,分析海马齿幼苗在400和800 mmol/L NaCl处理0、6、12、24、48和72 h后,其根和叶生理指标变化及相关耐盐基因的表达情况。结果表明:在400 mmol/L NaCl胁迫下,海马齿幼苗在胁迫初期出现萎蔫现象,随着胁迫时间的延长,海马齿幼苗的生长逐渐稳定;在800 mmol/L NaCl胁迫下,海马齿幼苗随着胁迫时间的延长出现萎蔫并最终死亡;叶和根中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性在12 h内显著增加,可溶性糖和脯氨酸积累量增加较明显,此后酶活性和渗透调节物质含量均降低。相对电导率呈先升高后下降的趋势。400 mmol/L NaCl胁迫下,海马齿中耐盐相关基因质膜Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆转运蛋白基因(salt overly sensitive 1, *SOS1*)、蛋白激酶基因(CBL-interacting protein kinase 8, *CIPK8*)、类似钙调磷酸酶B亚基蛋白基因(calcineurin B-like 10, *CBL10*)与质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因(plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene, *AHA1*)在根和叶中均呈上调表达,在800 mmol/L NaCl胁迫下,*SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*和*SpAHA1*基因在海马齿叶中的表达量在处理12 h达到最高,为同时间400 mmol/L NaCl胁迫下基因表达量的6.80、124.32、25.93和9.52倍。本研究为进一步研究植物在盐胁迫下生理指标及相关基因表达调控规律提供理论依据。

**关键词** 海马齿;盐胁迫;生理变化;基因表达

中图分类号 S-3 文献标识码 A

## Physiological Changes and Related Gene Expression Analysis of *Sesuvium portulacastrum* Under Salt Stress

LI Yu-Xin<sup>1</sup> LUO Xiu-Li<sup>1</sup> ZHANG Ting-Ting<sup>1</sup> KANG Yu-Qian<sup>1</sup> WANG Peng<sup>1</sup> JIANG Xing-Yu<sup>2</sup> ZHOU Yang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> School of Horticulture/Key Laboratory for Quality Regulation of Tropical Horticultural Crops of Hainan Province, Hainan University, Haikou 570228, China; <sup>2</sup> School of Tropical Crops/Hainan Key Laboratory for Biotechnology of Salt Tolerant Crops, Hainan University, Haikou 570228, China

\* Corresponding author, [zhouyang@hainanu.edu.cn](mailto:zhouyang@hainanu.edu.cn)

**Abstract** Salt stress is one of the main abiotic stresses that restrict plant growth and development. In this study, the halophyte *Sesuvium portulacastrum* seedlings were treated with 400 and 800 mmol/L NaCl for 0, 6, 12, 24, 48 and 72 h, and the changes of physiological indexes in roots and leaves and the expression level of salt-related genes were analyzed. The results showed that *Sesuvium portulacastrum* seedlings withered at the

beginning of stress, while the growth gradually stabilized with the extension of stress time when treated with 400 mmol/L NaCl. While the seedlings wilted and died gradually with the extension of stress time under 800 mmol/L NaCl. The activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POD) in leaves and roots all increased significantly under 12 h treatment. The accumulation of soluble sugar and proline increased obviously, and then the enzyme activity and osmotic regulation substances contents decreased. The relative conductivity increased first and then decreased. Four salt-tolerant genes were selected for real-time fluorescence quantitative verification. The expression levels of salt-related genes, plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene salt overly sensitive 1 (*SOS1*), protein kinase gene CBL-interacting protein kinase 8 (*CIPK8*), Calcineurin B-like 10 (*CBL10*) and plasma membrane  $\text{H}^+$ -ATPase gene (*AHA1*), were up-regulated in the roots and leaves under salt stress. The expression levels of *SpSOS1*, *SpCIPK8*, *SpCBL10* and *SpAHA1* genes under 800 mmol/L NaCl reached the highest at 12 h after treatment, and the expressions were 6.80, 124.32, 25.93 and 9.52 times of those under 400 mmol/L NaCl at the same time. This study provides a theoretical basis for the study of physiological indexes and related gene expression regulation of plants under salt stress.

**Keywords** *Sesuvium portulacastrum*; Salt stress; Physiological change; Gene expression

土壤盐渍化现在已经成为全球主要环境压力之一,其导致作物减产、品质下降、农田退化和耕地面积减小(杨玉坤等, 2019)。盐胁迫会对植物的生长发育造成一些不利的影 响,包括渗透胁迫和离子毒害等,从而引起营养和水分的亏缺、代谢失衡,最终导致膜功能紊乱和细胞死亡(Acosta-Motos et al., 2014)。在盐离子中,NaCl 比其他形式的盐(如  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )对植物的生长发育与生命活动等影响更大(Yokas et al., 2018)。

植物在受到盐害等逆境胁迫时,细胞内活性氧和自由基含量升高,保护酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等能够清除细胞内的活性氧,从而维持细胞的稳定和细胞结构的完整,提高抗逆性(赵可夫等, 1993; 孙国荣等, 2003)。SOD 作为植物体内一种抗氧化酶,可以歧化超氧化物阴离子自由基为  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,从而有效降低自由基对膜系统的伤害(和红云等, 2008)。POD 可以清除植株体内  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,维持植物体内活性氧代谢平衡,保护膜结构,从而使植株对外界的胁迫有一定的耐受性(吕金海, 刘鹏, 2016)。抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)可以把抗坏血酸氧化为单脱氢抗坏血酸,从而调控植物物质体外抗坏血酸库的氧化还原状态(廉华等, 2015)。Rahnam 和 Ebrahlmzaden (2005)在研究中发现,NaCl 处理使耐盐马铃薯(*Solanum tuberosum*)的 SOD 活性升高,而盐敏感马铃薯 SOD 活性无明显变化。贺岩等(2005)研究发现小麦(*Triti-*

*cum aestivum*) POD 活性随盐浓度增加而升高,品种间存在差异,耐盐品种高于盐敏感品种。Nounjan 等(2012)研究发现,盐胁迫处理水稻(*Oryza sativa*)幼苗之后,叶片中 APX、SOD 等酶活性明显升高。在不同浓度 NaCl 胁迫下,发现过氧化物酶活性与燕麦(*Avena sativa*)幼苗的耐盐性呈正相关(赖弟利等, 2020)。相对电导率(relative electrical conductivity, REC)是衡量植物受损害程度的一个重要指标,相对电导率越高,证明膜受伤越严重(李瑶等, 2021)。此外,在盐胁迫下,植物会通过积累一些渗透调节物质如脯氨酸和可溶性糖等来降低细胞内渗透势,增强对水分的吸收,以减轻盐胁迫对植物的伤害(党晓宏等, 2016)。植物在逆境条件下,游离脯氨酸(Pro)积累,提高了植物对逆境的抗性(周桂英等, 2016; 欧阳敦君, 张鸽香, 2016)。杨万鹏等(2019)研究表明,可溶性糖含量、相对电导率和超氧化物歧化酶活性等可以作为评价黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)耐盐性的参考指标。盐胁迫下桑树(*Morus*)叶片的脯氨酸含量会升高(殷朝瑞等, 2018)。

近年来,随着分子育种技术的迅速发展,植物盐胁迫的研究不只是局限在生理指标的分析上,对一些响应盐胁迫的基因功能也进行了深入的研究。研究发现,在高羊茅(*Festuca arundinacea*)中共表达拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) *SOS1*、*SOS2*、*SOS3* 显著提高了转基因植株的耐盐性,转基因植株根中钠离子积累较少,钾离子积累较多,且长势较好(Ma et al., 2014)。拟南芥 AtCBL10 与 AtCIPK24 会在液泡

膜上形成复合蛋白并参与拟南芥对盐的响应(Kim et al., 2007)。通过农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导法将大豆(*Glycine max*) *SOS1* 基因转化到拟南芥中,证实大豆 *SOS1* 基因不仅能够增强转基因拟南芥的耐盐性,同时能够增强其抗氧化酶活性(赵秀坊, 2016)。李婷婷(2017)将 *TaCIPK8* 基因转入烟草(*Nicotiana tabacum*)中,发现在 200 mmol/L NaCl 胁迫下转基因烟草的植株鲜重高于野生型植株,根系比野生型长。将紫花苜蓿(*Medicago sativa*) *MsCIPK8* 基因转入烟草中,可以提高转基因烟草的耐盐性,同时还能提高烟草可溶性糖和脯氨酸的含量(李亚坤, 2020)。盐胁迫下质膜  $H^+$ -ATPase *AHA1* 转基因拟南芥根系中 SOD 和 POD 的活性比野生型高, *AHA1* 基因可能还参与拟南芥抗氧化胁迫(Liu, Luan, 2001)。在拟南芥中类似钙调磷酸酶 B 亚基蛋白基因(calcineurin B-like 10, *CBL10*)可通过调节离子平衡来调控其对高盐的耐受性(Kim et al., 2007)。

海马齿(*Sesuvium portulacastrum*)属番杏科海马齿属,在我国华南海边沙地较为常见,具有较强的耐盐性(唐昌林, 1996)。海马齿在受到盐胁迫时,能阻止盐胁迫对其细胞原生质膜的氧化损伤,不破坏叶片内叶绿素的合成,而且基本维持植物茎、叶中  $K^+$  和根、茎中  $Mg^{2+}$  的相对稳定性(范伟, 李文静, 2010; 杨成龙等, 2010)。海马齿还能够有效的去除海水中的重金属,悬浮颗粒和氮磷营养盐等有机物(林彦彦等, 2016; 严廷良等, 2015; 窦碧霞等, 2011)。本课题组前期已经从海马齿中克隆了耐盐相关基因,如内膜系统上的  $Na^+/H^+$  逆转运蛋白基因 *SpNHX1* (Zhou et al., 2018a)、质膜  $Na^+/H^+$  逆转运蛋白基因 *SpSOS1* (Zhou et al., 2018b)、质膜  $H^+$ -ATPase 基因 *SpAHA1* (Fan et al., 2018)、甜菜碱醛脱氢酶基因 *SpBADH* (Yang et al., 2015)、蛋白激酶基因(*CBL-interacting protein kinase 8*, *SpCIPK8*)和 *SpCBL10* (周扬, 2015)等,但目前对海马齿盐胁迫的生理响应报道较少,本研究分析盐胁迫下海马齿生理生化特性和耐盐相关基因的变化,为探讨海马齿在高盐下的适应性和耐盐机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料及处理

海马齿(*Sesuvium portulacastrum*)种植在海南大学农科实验基地,采用扦插繁殖的方式进行水培。

选取生长旺盛、大小一致的海马齿(从上往下数 4 个茎节,去掉下面 2 个茎节的叶片),洗净后用定植棉固定在水培箱种植槽内,用霍格兰营养液在自然条件下水培海马齿 10 d,通过制氧器制氧,每 5 d 换 1 次营养液。选取生长一致的海马齿进行盐胁迫处理。实验共设置 2 个处理,分别为 400 和 800 mmol/L NaCl, 3 次重复。在盐胁迫处理 0、6、12、24、48、72 h 后,分别对海马齿幼苗进行拍照,取其叶片和根系,以处理前 0 h 的样品作为对照,测定各项生理指标,同时取样品液氮速冻,并保存在  $-80^{\circ}C$  冰箱中以备提取 RNA。

### 1.2 生理指标测定

相对电导率参照李合生(2000)的植物生理实验方法进行测定,Pro、APX、POD、植物可溶性糖、SOD 的测定方法参照苏州科铭生物技术有限公司试剂盒的操作方法进行。

### 1.3 实时荧光定量 PCR 检测

用植物总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)提取 RNA,反转录试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司)合成 cDNA 第一链。选取 4 个海马齿响应盐胁迫基因(*SpSOS1*, *SpAHA1*, *SpCIPK8*, *SpCBL10*)进行表达分析。用 Primer Premier 5.0 设计引物(表 1),引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。采用 ChamQ™ Universal SYBR qPCR Master Mix (诺唯赞生物科技有限公司,南京)进行 PCR 扩增,PCR 反应体系为:cDNA 模板 1  $\mu$ L,上下游引物(10  $\mu$ mol/L)各 0.5  $\mu$ L, 2 $\times$ SYBR qPCR Mix 5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补足至 10  $\mu$ L。PCR 反应程序:95  $^{\circ}C$  30 s 预变性;95  $^{\circ}C$  15 s, 58  $^{\circ}C$  30 s, 72  $^{\circ}C$  60 s, 40 个循环;65  $^{\circ}C$  5 s;95  $^{\circ}C$  变性 DNA 产物。实验过程中每个基因设置 3 次技术重复。以 *SpGAPDH* 作为内参基因(Zhou et al., 2015),采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算基因的相对表达量。

### 1.4 数据统计与分析

数据整理与分析采用 Excel2010 处理数据绘图,利用 SPSS22.0 进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫对海马齿生长的影响

盐胁迫处理对海马齿植株的生长有明显的抑

制作用,随着盐浓度的升高这一现象更加明显(图1)。从图1可以看出,400 mmol/L NaCl胁迫处理72 h后,海马齿植株表现出轻微萎蔫,生长缓慢,800 mmol/L NaCl胁迫处理72 h后,海马齿植株萎蔫。随着盐浓度提高,海马齿鲜重显著降低( $P<0.05$ ) (图2)。

## 2.2 盐胁迫对海马齿生理指标的影响

### 2.2.1 盐胁迫对海马齿幼苗SOD活性的影响

从图3可以看出,在400和800 mmol/L NaCl胁迫下,随着胁迫时间延长,海马齿叶片和根中SOD活性变化趋势一致,呈先上升后下降趋势,峰值均出现在12 h;在400 mmol/L NaCl处理下,叶片和根中SOD活性分别是处理前的8.42倍和9.19倍;在800 mmol/L NaCl处理下,叶片和根中SOD活性分

别是处理前的7.70倍和8.33倍。

### 2.2.2 盐胁迫对海马齿幼苗APX活性的影响

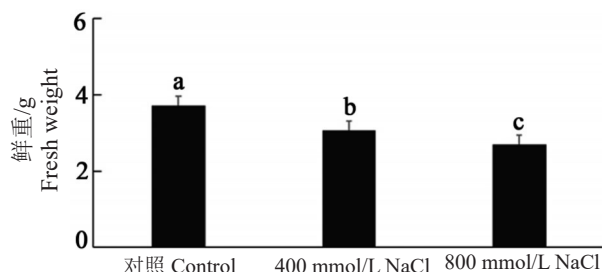


图2 盐胁迫72 h后海马齿植株鲜重

Figure 2 Fresh weight of *Sesuvium portulacastrum* after salt treatment 72 h

不同字母代表差异显著( $P<0.05$ );下同

Different letters represent significant difference ( $P<0.05$ ); The same below

表1 荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primer sequences of qPCR

引物名称 Primer name	引物序列(5'~3') Primer sequence
SpSOS1	F: GAGCATCTTTGGCAGCACG; R: CTGAGTTTCGGGGATTTTAGG
SpAHA1	F: GATGGGCTGGTGTCTGTTG; R: CCGTAATCCTTCTTGGTGGTG
SpCIPK8	F: GACCCAAATCCTCAAACCTCG; R: TGACATCTTCATACTCAGCAAGG
SpCBL10	F: ATTGGAGAACGGCTTTGTGCG; R: AGTCTCATCGGCTAAGCGAACAAG
SpGAPDH	F: TTGGCATCGTTGAGGGTCT; R: CAGTGGGAACACGGAAAGC

SOS: Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆转运蛋白; AHA: 质膜H<sup>+</sup>-ATPase; CIPK: 蛋白激酶; CBL: 类似钙调磷酸酶B亚基蛋白; GAPDH: 三磷酸甘油醛脱氢酶

SOS: Salt overly sensitive; AHA: Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase; CIPK: CBL-interacting protein kinase; CBL: Calcineurin B-like; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

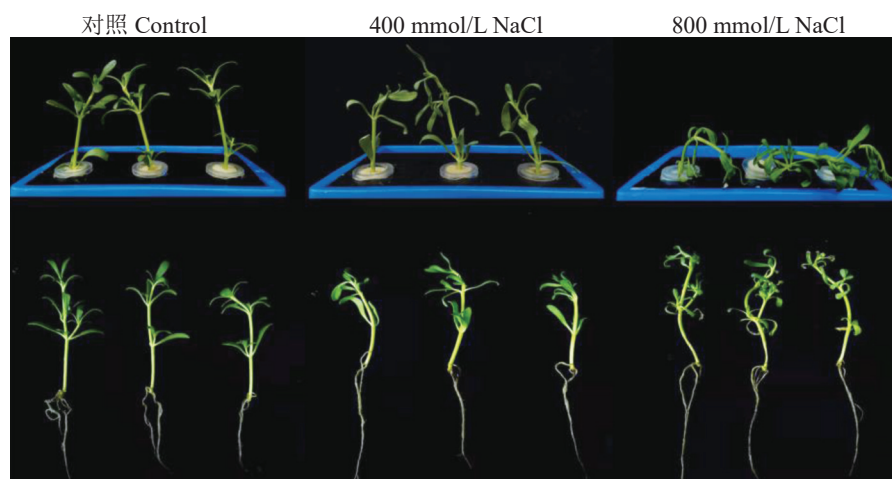


图1 盐胁迫72 h后海马齿植株生长状况

Figure 1 The growth of *Sesuvium portulacastrum* after salt treatment 72 h



海马齿叶片和根中 APX 的活性随盐胁迫时间的增加,呈现先上升后下降再上升的趋势(图 4)。叶中不同盐浓度下 APX 活性均在处理 6 h 达到第 1 个峰值,低盐浓度下 APX 活性是处理前的 2.03 倍,高盐浓度下 APX 活性是处理前的 1.86 倍(图 4A);根中 APX 活性在 400 mmol/L NaCl 处理后 12 h 达到最大,是处理前的 3.17 倍(图 4B)。

### 2.2.3 盐胁迫对海马齿幼苗 POD 活性的影响

如图 5 所示,在 400 mmol/L NaCl 胁迫下,海马齿叶中 POD 活性呈先上升后下降的趋势,在处理 12 h 后达到最高值,是处理前的 3.13 倍;根中 POD 活性在 24 h 时达到峰值,是处理前活性的 4.51 倍。在 800 mmol/L NaCl 胁迫下,海马齿根中 POD 活性在处理 6 h 后达到峰值,是未处理时活性的 11.6 倍。

### 2.2.4 盐胁迫对海马齿幼苗可溶性糖含量的影响

海马齿叶片和根系中可溶性糖含量随着胁迫时间的延长呈先上升后下降的趋势(图 6),且均在盐处理 12 h 后达到最高值。在低盐浓度胁迫下海马齿叶片和根系中可溶性糖含量在处理 12 h 时分别为处理前的 3.47 和 2.39 倍。在高盐浓度下海马齿叶片和根中可溶性糖分别为未处理时的 3.59 和 1.90 倍。

### 2.2.5 盐胁迫对海马齿幼苗脯氨酸含量的影响

如图 7 所示,在 400 mmol/L NaCl 胁迫下,随着盐胁迫时间的延长,海马齿叶和根中脯氨酸含量均呈先上升后下降再上升的趋势,峰值均出现在 24 h,分别为处理前的 1.56 和 1.66 倍。在 800 mmol/L NaCl 胁迫下,海马齿叶中脯氨酸含量在处理 12 h

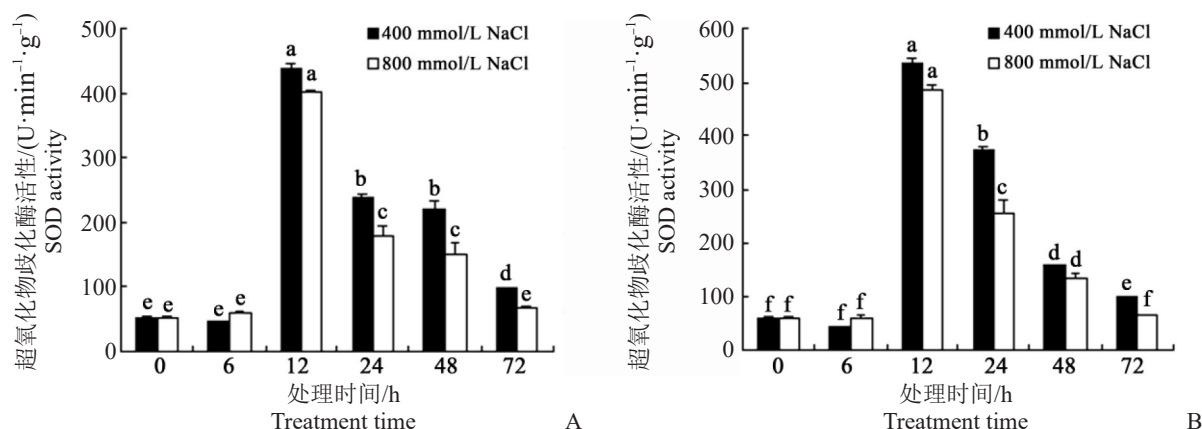


图 3 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中 SOD 活性的变化

Figure 3 Changes of SOD activity in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

不同小写字母代表差异显著( $P < 0.05$ ),下同

Different letters represented significant difference ( $P < 0.05$ ); The same below

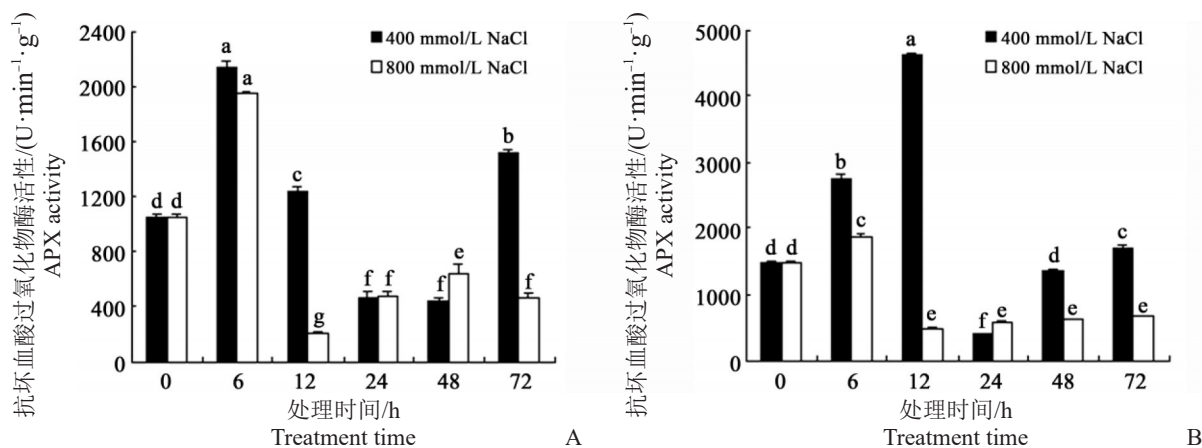


图 4 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中 APX 活性的变化

Figure 4 Changes of APX activity in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

后达到峰值,为处理前的1.34倍;根中脯氨酸含量在处理72 h后达到峰值,为处理前的1.42倍。

### 2.2.6 盐胁迫对海马齿幼苗相对电导率的影响

如图8所示,在400 mmol/L NaCl胁迫下,海马齿叶和根的相对电导率均在处理12 h后达到最高值,分别为处理前的1.56和3.20倍。而在800 mmol/L

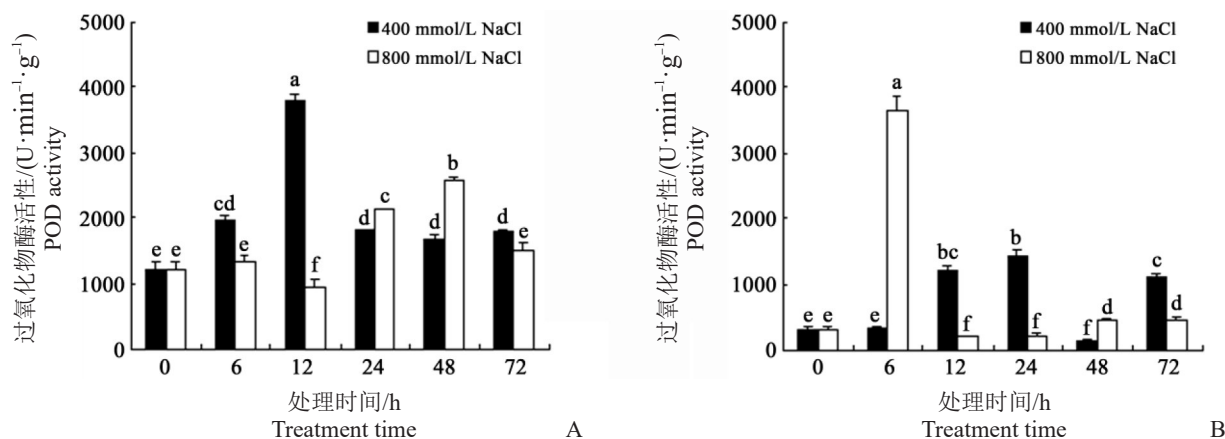


图5 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中过氧化物酶活性的变化

Figure 5 Changes of POD activity in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

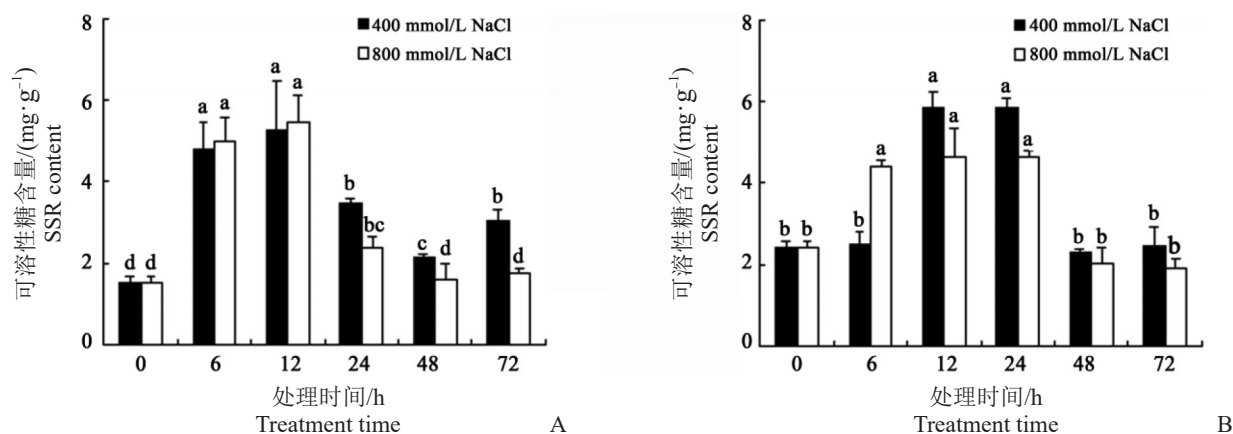


图6 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中可溶性糖含量的变化

Figure 6 Changes of soluble sugar content in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

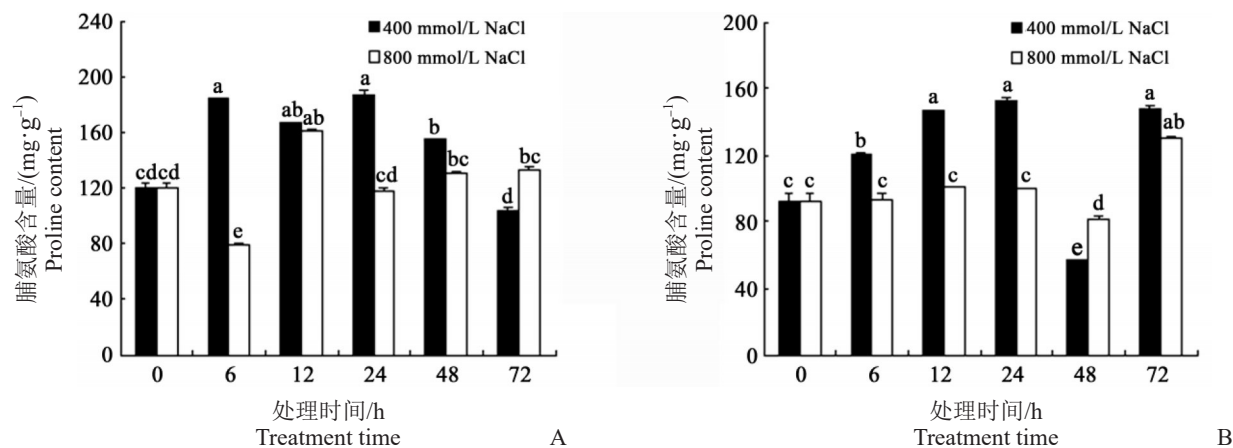


图7 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中脯氨酸含量的变化

Figure 7 Changes of Pro content in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

NaCl胁迫下,叶片中相对电导率变化不明显,根中相对电导率呈先上升后下降的趋势,峰值出现在12 h,为处理前的4.02倍。

### 2.3 盐胁迫下海马齿耐盐相关基因的表达分析

在盐胁迫下, *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10* 与 *SpAHA1* 基因在海马齿根和叶中均呈上调表达(图9)。在800 mmol/L NaCl处理后,海马齿叶中 *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10* 与 *SpAHA1* 基因在处理12 h后,表达量均达到峰值,约为起始表达量的7.91、70.13、27.78和6.83倍,为同时期400 mmol/L NaCl处理下基因表达量的6.80、124.32、25.93和9.52倍;根中 *SpCIPK8* 和 *SpCBL10* 基因在处理48 h后,表达量达到峰值,约为起始表达量的10.57和5.38倍。在400 mmol/L NaCl处理后,海马齿叶和根中 *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*、*SpAHA1* 基因的表达量变化不明显。

## 3 讨论

土壤盐碱化是农业生产中的一个严重问题,制约了农业可持续发展(Parida, Das, 2005)。盐胁迫对水稻幼苗地下和地上部分生长都会产生明显的抑制作用,盐胁迫下细胞分裂与延伸速率下降,细胞壁松弛,溶质积累减少(姜秀娟等, 2010)。本研究中,在盐胁迫下,海马齿植株随着盐胁迫浓度增加及胁迫时间的延长,其生长受到了抑制。在盐胁迫初期,植株地上部分先出现萎蔫,根系停止生长,在高盐(800 mmol/L NaCl)胁迫下的海马齿植株随着盐胁迫时间延长,地上部出现萎蔫,随之植株死亡。

在盐胁迫下,植物通过增加SOD、POD和CAT等活性氧清除剂的活性维持植物体内活性氧代谢平衡,维持膜结构完整性(付娆等, 2020)。APX在植物生长和逆境胁迫响应等生理过程都发挥着重要作用,在植物受到逆境胁迫时,可以快速清除细胞中产生的过量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,使细胞免受活性氧毒害(李泽琴等, 2013)。本研究发现,随着盐胁迫时间延长,海马齿叶片和根系中SOD、POD和APX活性在800 mmol/L NaCl胁迫条件下较400 mmol/L NaCl胁迫下有所下降,说明在400 mmol/L NaCl胁迫下海马齿通过增加自身的酶活性清除产生的活性氧,缓解氧化伤害,而800 mmol/L NaCl胁迫条件超出了海马齿细胞忍耐活性氧的极限,细胞膜系统受到破坏,POD和SOD的活性下降。

盐胁迫会导致渗透胁迫,植物细胞内通过可溶性糖、脯氨酸等小分子有机物的合成和积累降低水势,进行渗透调节(薛腾笑等, 2018)。本研究中,海马齿叶片和根系中的可溶性糖含量在受到盐胁迫处理的12 h内显著提升,此后含量下降,恢复到起始水平。在400 mmol/L NaCl胁迫时,叶片和根中脯氨酸含量均在处理后24 h内有所上升,而在800 mmol/L NaCl处理下,脯氨酸含量变化不明显,说明受到盐胁迫初期,海马齿主要通过积累可溶性糖来进行渗透调节。此外,800 mmol/L NaCl胁迫下海马齿叶片和根系中相对电导率较400 mmol/L NaCl胁迫下有所增加,表明高浓度盐胁迫造成海马齿质膜结构破坏,细胞内容物外泄,引起电导率增加。

在拟南芥中CBL10可通过调节离子平衡来调控其对高盐的耐受性(Kim et al., 2007)。An等

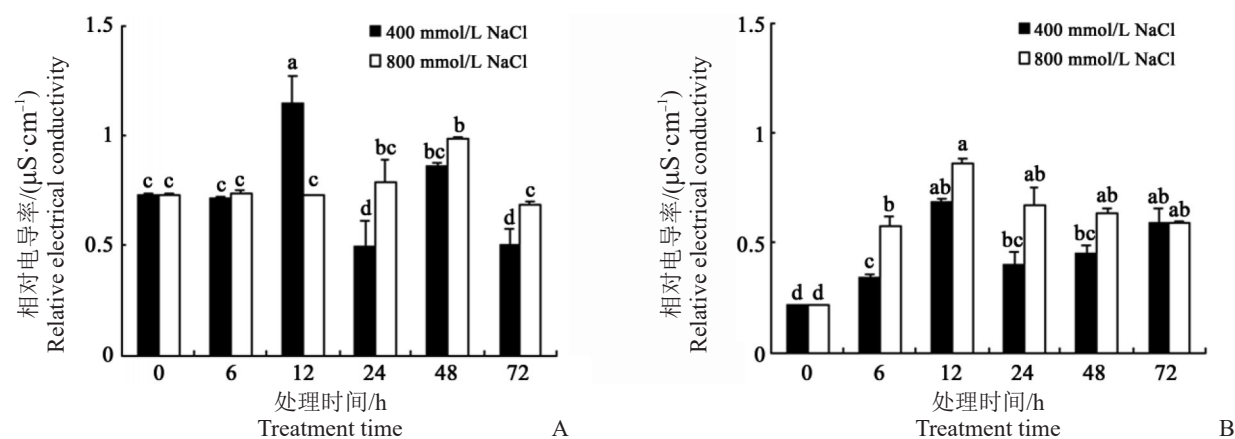


图8 盐胁迫下海马齿叶(A)和根(B)中相对电导率的变化

Figure 8 Changes of relative electrical conductivity in *Sesuvium portulacastrum* leaf (A) and root (B) under salt stress

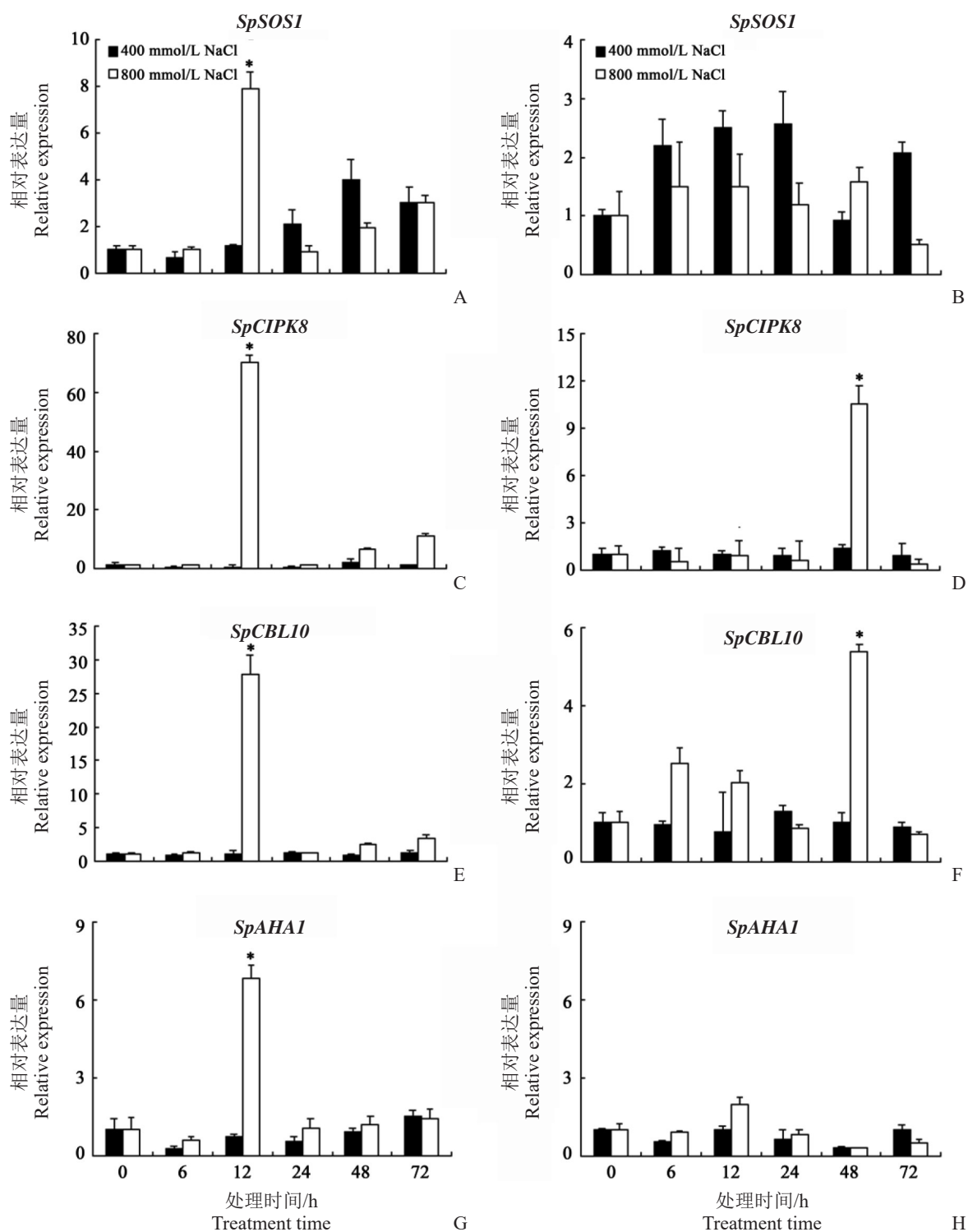


图9 盐胁迫下海马齿 *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10* 和 *SpAHA1* 基因在叶和根中的表达

Figure 9 Expression of *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10* and *SpAHA1* genes in *Sesuvium portulacastrum* under salt stress in leaf and roots

A、C、E、G. *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*、*SpAHA1* 基因在叶中的表达。B、D、F、H. *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*、*SpAHA1* 基因在根中的表达。内参基因：*GAPDH*；n=3；\*：与0 h相比差异显著( $P < 0.05$ )

A, C, E, G. Relative expression of *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*、*SpAHA1* genes in leaf. B, D, F, H. Relative expression of *SpSOS1*、*SpCIPK8*、*SpCBL10*、*SpAHA1* genes in root. Reference gene: *GAPDH*; n=3; \*: Significant difference compared with 0 h ( $P < 0.05$ )



(2014)研究表明 *SOS1* 基因在植物的耐盐方面起着至关重要的作用,同时研究发现 *SOS1* 基因超表达可以使植物的耐盐性增强。*SOS1* 属于质膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白,在细胞水平上主要负责  $\text{Na}^+$  的外排,使细胞质中  $\text{Na}^+$  保持较低的浓度,维持细胞正常生长,同时 *SOS1* 还参与植物器官中  $\text{Na}^+$  的长距离运输和分配(常鹏杰, 2019)。本课题组前期研究发现, SpAHA1 分解 ATP 产生的  $\text{H}^+$  梯度可以为 SpSOS1 运输  $\text{Na}^+$  提供能量;海马齿细胞质中的蛋白激酶 SpCIPK8 与细胞膜上的钙结合蛋白 SpCBL10 相互作用于质膜上,可以调控质膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆转运蛋白 SpSOS1 的活性(周扬, 2015)。本研究发现, *SOS1*、*AHA1*、*CBL10* 和 *CIPK8* 基因在盐胁迫下均呈现上调表达,在 800 mmol/L NaCl 胁迫下的表达量要高于 400 mmol/L NaCl,说明高盐胁迫能诱导  $\text{Na}^+$  转运相关基因的表达,从而缓解  $\text{Na}^+$  对海马齿的毒害。

#### 4 结论

本研究探讨海马齿在遭受盐胁迫时细胞内的生理变化及相关基因的表达。结果发现,海马齿在遭受盐胁迫时,植株生长受到抑制, SOD、POD 和 APX 活性增强,渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸含量明显增加,减轻盐胁迫对海马齿的损伤,表现出一定程度的耐盐性。但其耐盐有一定的范围,在 800 mmol/L NaCl 胁迫下,酶活性较 400 mmol/L NaCl 低。耐盐相关基因 *SOS1*、*CIPK8*、*AHA1* 和 *CBL10* 在盐胁迫下均呈上调表达,并且在 800 mmol/L NaCl 胁迫下的表达量要高于 400 mmol/L NaCl,说明这些基因在海马齿适应高盐胁迫过程中具有重要作用。本研究表明,在盐胁迫下生理指标的变化与相关基因的表达可能存在相关性,为进一步了解植株抵抗盐胁迫的机理提供参考。

#### 参考文献

常鹏杰. 2019. 白玉兰(*Magnolia denudata*) *MdeSOS1* 基因的克隆与功能分析[D]. 浙江农林大学, 导师: 王小德. pp: 1-8. (Chang P J. 2019. Cloning and functional identification of *MdeSOS1* gene in *Magnolia denudata*[D]. Zhejiang A&F University, Supervisor: Wang X D, pp: 1-8.)  
党晓宏, 高永, 蒙仲举, 等. 2016. 3 种滨藜属植物幼苗叶片对 NaCl 胁迫的生理响应[J]. 北京林业大学学报, 38: 38-49. (Dang X H, Gao Y, Meng Z J, et al. 2016. Leaf physiological characteristics of seedlings of three *Atri-*

*plex* species under NaCl stress[J]. Journal of Beijing Forestry University, 38: 38-49.)  
窦碧霞, 黄建荣, 李连春, 等. 2011. 海马齿对海水养殖系统中氮、磷的移除效果研究[J]. 水生态学杂志, 32(5): 94-99. (Dou B X, Huang J R, Li L C, et al. 2011. Research on effects of nutrient and phosphate removal from marine aquaculture system by *Sesuvium portulacastrum*[J]. Journal of Hydroecology, 32(5): 94-99.)  
范伟, 李文静. 2010. 一种兼具研究与应用开发价值的盐生植物: 海马齿[J]. 热带亚热带植物学报, 18(6): 689-695. (Fan W, Li W J. 2010. *Sesuvium portulacastrum* L., a promising halophyte in research and application[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 18(6): 689-695.)  
付饶, 张海洋, 梁晓艳, 等. 2020. 蒲公英对 NaCl 单盐和海水复合盐胁迫的生理响应[J]. 山东农业科学, 52(2): 33-37. (Fu R, Zhang H Y, Liang X Y, et al. 2020. Physiological response of dandelion (*Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.) to single salt stress of NaCl and compound salt stress of seawater[J]. Shandong Agricultural Sciences, 52(2): 33-37.)  
和红云, 薛琳, 田丽萍, 等. 2008. 低温胁迫对甜瓜幼苗膜透性及膜脂过氧化物的影响[J]. 北方园艺, 6: 4-7. (He H Y, Xue L, Tian L P, et al. 2008. Effect of low temperature on membrane leakage and lipid peroxidation in muskmelon seedling leaves[J]. Northern Horticulture, 6: 4-7.)  
贺岩, 李志岗, 李新鹏, 等. 2005. 盐胁迫条件下两种基因型小麦生长及保护酶活性的反应[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 1: 42-44. (He Y, Li Z G, Li X P, et al. 2005. Responses of the growth and the protective enzymes activities in two genotypic wheats under salt stress[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Nature Science Edition), 1: 42-44.)  
姜秀娟, 张素红, 苗立新, 等. 2010. 盐胁迫对水稻幼苗的研究—盐胁迫对水稻幼苗期根系的影响[J]. 北方水稻, 40(1): 21-24. (Jiang X J, Zhang S H, Miao L X, et al. 2010. Effect of salt stress on rice seedling characteristics—effect of salt stress on root system at seedling stage of rice[J]. Northern Rice, 40(1): 21-24.)  
赖弟利, 范昱, 朱红林, 等. 2020. 燕麦耐盐性的生理生化指标网络分析[J]. 作物杂志, 2: 147-155. (Lai D L, Fan Y, Zhu H L, et al. 2020. Network analysis of physiological and biochemical indexes of salt tolerance in oats[J]. Crops, 2: 147-155.)  
李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 高等教育出版社, 北京. pp. 261-263. (Li H S. 2000. Principles

- and Techniques of Plant Physiological and Biochemical Experiments[M]. Higher Education Press, Beijing. pp. 261-263.)
- 李婷婷. 2017. 小麦 *TaCIPK8* 基因的表达分析及其在转基因烟草中抗盐功能研究[D]. 华中科技大学, 导师: 何光源. pp: 44-47. (Li T T. 2017. Gene expression and functional analysis of *TaCIPK8* in transgenic tobacco[D]. Huazhong University of Science and Technology, Supervisor: He G Y, pp: 44-47.)
- 李亚坤. 2020. 紫花苜蓿 *MsCIPK8* 基因的克隆及其功能研究[D]. 哈尔滨师范大学, 导师: 唐凤兰. pp: 57-63. (Li Y K. 2020. Isolation and characterization of *MsCIPK8* from alfalfa (*Medicago sativa* L.) [D]. Harbin Normal University, Supervisor: Tang F L, pp: 57-63.)
- 李瑶, 郑殿峰, 冯乃杰, 等. 2021. 调环酸钙对盐胁迫下水稻幼苗生长及抗性生理的影响[J]. 植物生理学报, 57(10): 1897-1906. (Li Y, Zheng D F, Feng N J, et al. 2021. Effects of prohexadione-calcium on growth and resistance physiology of rice seedlings under salt stress [J]. Plant Physiology Journal, 57(10): 1897-1906.)
- 李泽琴, 李静晓, 张根发. 2013. 植物抗坏血酸过氧化物酶的表达调控以及对非生物胁迫的耐受作用[J]. 遗传, 35(01): 45-54. (Li Z Q, Li J X, Zhang G F. 2013. Expression regulation of plant ascorbate peroxidase and its tolerance to abiotic stresses[J]. Hereditas (Beijing), 35(01): 45-54.)
- 廉华, 王萌, 马光恕, 等. 2015. 磷素对甜瓜幼苗期生理指标的影响[J]. 北方园艺, 23: 14-17. (Lian H, Wang M, Ma G S, et al. 2015. Effect of phosphorus on the physiological indexes of muskmelon seedling[J]. Northern Horticulture, 23: 14-17.)
- 林彦彦, 高珊珊, 陈婧芳, 等. 2016. 海马齿对锌的耐性与富集特征[J]. 湿地科学, 14(04): 561-567. (Lin Y Y, Gao S S, Chen J F, et al. 2016. Tolerance and its zinc bioaccumulation characteristic of *Sesuvium portulacastrum* to zinc[J]. Wetland Science, 14(04): 561-567.)
- 林永青, 吴佳鑫, 郑新庆, 等. 2011. 浮床栽培海马齿对海水中悬浮颗粒物清除作用的实验研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 50(5): 909-914. (Lin Y Q, Wu J X, Zheng X Q, et al. 2011. Removal of suspended particulate matter in seawater by *Sesuvium portulacastrum* L. planted in floating-bed[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 50(5): 909-914.)
- 吕金海, 刘鹏. 2016. NaCl胁迫对鱼腥草过氧化物酶(POD)活性的影响[J]. 现代园艺, 11: 17-18. (Lv J H, Liu P. 2016. Effects of NaCl stress on peroxidase (POD) activity in *Houttuynia cordata* Thunb[J]. xiandai Horticulture, 11: 17-18.)
- 欧阳敦君, 张鸽香. 2016. 不同种源流苏幼苗的耐热性评价[J]. 东北林业大学学报, 44(10): 17-21. (Ouyang D J, Zhang G X. 2016. Heat resistance evaluation of different provenances of *Chionanthus retusus*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 44(10): 17-21.)
- 孙国荣, 彭永臻, 阎秀峰, 等. 2003. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 39(1): 165-167. (Sun G R, Peng Y Z, Yan X F, et al. 2003. Effect of drought stress on activity of cell defense enzymes and lipid peroxidation in leaves of *Betula platyphylla* seedlings[J]. Scientia Silvae Sinicae, 39(1): 165-167.)
- 唐昌林. 1996. 中国植物志[M]. 科学出版社, 北京. pp: 30-32. (Tang C L. 1996. Flora of China[M]. Science Press, Beijing. pp. 30-32.)
- 薛腾笑, 任子蓓, 任士福. 2018. NaCl胁迫对美国金钟连翘生理特性的影响[J]. 江苏农业科学, 46(11): 104-108. (Xue T X, Ren Z B, Ren S F. 2018. Impacts of NaCl stress on physiological characteristics of *Forsythia intermedia*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 46(11): 104-108.)
- 严廷良, 钟才荣, 刘强, 等. 2015. 海马齿对重金属Pb、Zn胁迫的生长及生理生化响应[J]. 广西植物, 35(5): 668-672. (Yan T L, Zhong C R, Liu Q, et al. 2015. Effects of Pb and Zn on the growth and physiological response of *Sesuvium portulacastrum*[J]. Guihaia, 35(5): 668-672.)
- 杨成龙, 段瑞军, 李瑞梅, 等. 2010. 盐生植物海马齿耐盐的生理特性[J]. 生态学报, 30(17): 4617-4627. (Yang C L, Duan R J, Li R M, et al. 2010. The physiological characteristics of salt-tolerance in *Sesuvium portulacastrum* L. [J]. Acta Ecologica Sinica, 30(17): 4617-4627.)
- 杨万鹏, 马瑞, 杨永义, 等. 2019. NaCl处理对黑果枸杞生长、生理指标的影响[J]. 分子植物育种, 17(13): 4437-4447. (Yang W P, Ma R, Yang Y Y, et al. 2019. Effects of NaCl treatment on the growth and physiological indexes of *Lycium ruthenicum*[J]. Molecular Plant Breeding, 17(13): 4437-4447.)
- 杨玉坤, 耿计彪, 于起庆, 等. 2019. 盐碱地土壤利用与改良研究进展[J]. 农业与技术, 39(24): 108-111. (Yang Y K, Geng J B, Yu Q Q, et al. 2019. Research progress of soil utilization and improvement in saline-alkali land[J]. Agriculture and Technology, 39(24): 108-111.)
- 殷朝瑞, 方荣俊, 尚春琼, 等. 2018. 3个实用桑树品种的耐盐性生理生化特征及耐盐害的能力评价[J]. 蚕业科学, 44(03): 359-366. (Yin C R, Fang R J, Shang C Q, et al. 2018. Salt-tolerance related physiological and biochemical characteristics and salt tolerance evaluation of three practical mulberry varieties[J]. Science of Sericulture, 44(03): 359-366.)

- ture, 44(03): 359-366.)
- 赵可夫, 邹琦, 李德全, 等. 1993. 盐分和水分胁迫对盐生和非盐生植物细胞膜脂过氧化作用的效应[J]. 植物学报, 35(7): 519-52. (Zhao K F, Zhou Q, Li D Q, et al. 1993. Effects of salt and water stress on lipid peroxidation in halophytic and non-halophytic plants[J]. Bulletin of Botany, 35(7): 519-52.)
- 赵秀坊. 2016. 大豆 *GmsSOS1* 基因通过增强抗氧化酶活性提高拟南芥耐盐性的初步研究[D]. 硕士学位论文, 南京农业大学, 导师: 於丙军, pp: 8-11. (Zhao X F. 2016. Preliminary research on salt tolerance improvement of *GmsSOS1 Arabidopsis thaliana* by enhancing antioxidant enzyme activities[D]. Thesis for M.S., Nanjing Agricultural University, Supervisor: Yu B J, pp: 8-11.)
- 周桂英, 王四清, 许建新, 等. 2016. 8种大花蕙兰耐热性指标筛选及其评价[J]. 安徽农业科学, 44(16): 20-22, 34. (Zhou G Y, Wang S Q, Xu J X, et al. 2016. Heat resistance indexes identification and comprehensive evaluation of 8 Species of *Cymbidium hybridum*[J]. Anhui Agricultural Sciences, 44(16): 20-22, 34.)
- 周扬. 2015. 海马齿细胞膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆转运蛋白功能的调控机理[D]. 博士学位论文, 华中农业大学, 导师: 郭建春. pp: 57-63. (Zhou Y. 2015. Regulation mechanism of plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter of *Sesuvium portulacastrum* L. [D]. Thesis for Ph. D, Huazhong Agricultural University, Supervisor: Guo J C, pp: 57-63.)
- 周扬, 胡艳平, 杨成龙, 等. 2014. 盐生植物海马齿 *SpCBL10* 基因的克隆及结构预测[J]. 分子植物育种, 12(4): 765-771. (Zhou Y, Hu Y P, Yang C L, et al. 2014. Isolation and structure predicting of the halophyte *Sesuvium portulacastrum* L. and *SpCBL10* gene[J]. Molecular Plant Breeding, 12(4): 765-771.)
- Acosta-Motos J R, Alvarez S, Barba-Espín G, et al. 2014. Salts and nutrients present in regenerated waters induce changes in water relations, antioxidative metabolism, ion accumulation and restricted ion uptake in *Myrtus communis* L. plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 85: 41-50.
- An J, Song A, Guan Z, et al. 2014. The over-expression of *Chrysanthemum crassum CcSOS1* improves the salinity tolerance of *Chrysanthemum*[J]. Molecular Biology Reports, 41(6): 4155-4162.
- Fan Y F, Wan S M, Jiang Y S, et al. 2018. Over-expression of a plasma membrane  $\text{H}^+$ -ATPase *SpAHA1* conferred salt tolerance to transgenic *Arabidopsis*[J]. Protoplasma, 255 (6): 1827-1837.
- Kim B G, Waadt R, Cheong Y H, et al. 2007. The calcium sensor *CBL10* mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 52 (3): 473-484.
- Liu K, Luan S. 2001. Internal aluminum block of plant inward  $\text{K}^+$  channels[J]. Plant Cell, 13(6): 1453-1465.
- Ma D M, Xu W R W, Li H W, et al. 2014. Co-expression of the *Arabidopsis SOS* genes enhances salt tolerance in transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.)[J]. Protoplasma, 51(1): 219-231.
- Nounjan N, Nghia P T, Theerakulpisut P. 2012. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes[J]. Plant Physiology, 169(6): 596-604.
- Parida A K, Das A B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review[J]. Ecotoxicology Environmental Safety, 60(3): 324-349.
- Rahnama H, Ebrahlmzadeh H. 2005. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedling[J]. Plant Biology, 49(1): 93-97.
- Yang C L, Zhou Y, Fan J, et al. 2015. SpBADH of the halophyte *Sesuvium portulacastrum* strongly confers drought tolerance through ROS scavenging in transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 96: 377-387.
- Yokas I, Tuna A L, Bürün B, et al. 2008. Responses of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt form sand rates[J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32(4): 319-329.
- Zhou Y, Yang C, Hu Y, et al. 2018a. The novel  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene *SpNHX1* from *Sesuvium portulacastrum* confers enhanced salt tolerance to transgenic yeast[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 40(3): 1-9.
- Zhou Y, Yin X C, Duan R J, et al. 2015. *SpSOS1* and *SpAHA1* coordinate in transgenic yeast to improve salt tolerance [J]. PLOS ONE, 10(9): e0137447.
- Zhou Y, Yin X, Wan S, et al. 2018b. The *Sesuvium portulacastrum* plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter *SpSOS1* complemented the salt sensitivity of transgenic *Arabidopsis SOS1* mutant plants[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 36(4): 553-563.