

NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物生长、 盐离子分布和 *SOS1* 基因相对表达量的比较

刘咏梅^{1,①}, 程 聪^{1,①}, 姜 黎², 於丙军^{1,②}

(1. 南京农业大学生命科学学院, 江苏 南京 210095; 2. 中国科学院新疆生态与地理研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: 以甘肃柽柳(*Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang)、多枝柽柳(*T. ramosissima* Ledeb.) 和细穗柽柳(*T. leptostachys* Bunge) 为研究对象, 采用液体培养法对 100、200 和 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 20 d 后 3 种植物的生长和盐离子分布进行了比较; 在此基础上, 对 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 30 d 后 3 种植物的生长和生理指标以及 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 0、3、6、12 和 24 h 后 3 种植物地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量进行了比较。结果表明: 与 0 mmol · L⁻¹ NaCl (对照) 相比, 3 种植物的株高和单株干质量在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下升高, 但在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下降低。随着 NaCl 浓度提高, 3 种植物地上部和根的 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量和 Na⁺/K⁺ 比逐渐升高, 而 K⁺ 含量逐渐下降, 其中细穗柽柳地上部和根的 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量及 Na⁺/K⁺ 比较高。与对照相比, 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下 3 种植物地上部表面泌盐明显增多, 叶绿素 *a*、叶绿素 *b*、总叶绿素和类胡萝卜素含量基本上显著 ($P < 0.05$) 升高, 但植株生长受到明显抑制, 根系活力、地上部相对含水量和地上部离体失水率明显下降。总体来看, 多枝柽柳的相对株高增长量最大, 根冠比最小, 地上部相对含水量和地上部离体失水率降幅均最小, 说明其地上部生长受 NaCl 胁迫的抑制程度较小。300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 0 h, 3 种植物地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量无明显差异, 但在胁迫 24 h 不同程度升高, 其中多枝柽柳地上部中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅最大, 其根中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅也较大。总体来看, 3 种植物的耐盐能力均较强, NaCl 胁迫对多枝柽柳的影响最小, 因此, 可将多枝柽柳作为柽柳属 (*Tamarix* Linn.) 植物耐盐生理和分子机制研究的备选材料。

关键词: 柽柳属; NaCl 胁迫; 耐盐机制; 生长; 盐离子分布; *SOS1* 基因

中图分类号: Q948.113; Q786 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2019)01-0001-09

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2019.01.01

Comparisons on growth, salt ion distribution, and relative expression of *SOS1* gene in three species of *Tamarix* Linn. under NaCl stress LIU Yongmei^{1,①}, CHENG Cong^{1,①}, JIANG Li², YU Bingjun^{1,②} (1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2019, 28(1): 1-9

Abstract: Taking *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang, *T. ramosissima* Ledeb., and *T. leptostachys* Bunge as research objects, growth and salt ion distribution of three species were compared under 100, 200, and 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress for 20 d by using liquid cultivation method. On the basis, growth and physiological indexes of three species under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress for 30 d and relative expression of *SOS1* gene in above-ground part and root under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress for 0, 3, 6, 12, and 24 h were compared. The results show that compared with 0 mmol · L⁻¹ NaCl (the control), height and dry mass per plant of three species increase under 100 mmol · L⁻¹ NaCl stress, but decrease under 300

收稿日期: 2018-08-11

基金项目: 国家自然科学基金联合项目(U1603111); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18_0746)

作者简介: 刘咏梅(1994—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 主要从事盐生植物逆境生理方面研究。

程 聪(1991—), 女, 新疆乌鲁木齐人, 博士研究生, 主要从事盐生植物耐逆生理和分子机制方面研究。

① 共同第一作者

② 通信作者 E-mail: bju@njau.edu.cn

mmol · L⁻¹ NaCl stress. With the increase of NaCl concentration, contents of Na⁺ and Cl⁻ and Na⁺/K⁺ ratio in above-ground part and root of three species increase gradually, while K⁺ content decreases gradually, in which, contents of Na⁺ and Cl⁻ and Na⁺/K⁺ ratio in above-ground part and root of *T. leptostachys* are high. Compared with the control, salt excretion on surface of above-ground part of three species increase evidently under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress, and contents of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll, and carotenoid basically increase significantly ($P < 0.05$), but plant growth is markedly suppressed, and root vigor, relative water content in above-ground part and water loss rate of above-ground part *in vitro* decrease obviously. In general, relative height increment of *T. ramosissima* is the largest, root/shoot ratio is the smallest, and decreasing amplitude of relative water content in above-ground part and water loss rate of above-ground part *in vitro* are both the smallest, indicating that the suppression degree of growth of its above-ground part under NaCl stress is small. Under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress for 0 h, there is no significant difference in relative expression of *SOS1* gene in above-ground part and root among three species, but there is an increment at different degrees when stress for 24 h, in which, increasing amplitude of relative expression of *SOS1* gene in above-ground part of *T. ramosissima* is the largest, and that in its root is also large. In general, salt tolerant ability of three species is strong, and the effect of NaCl stress on *T. ramosissima* is the least, so *T. ramosissima* can be used as alternative material for studying salt-tolerant physiology and molecular mechanism of *Tamarix* Linn. species.

Key words: *Tamarix* Linn.; NaCl stress; salt-tolerant mechanism; growth; salt ion distribution; *SOS1* gene

全世界的柽柳属 (*Tamarix* Linn.) 植物约 90 种, 中国的柽柳属植物有多枝柽柳 (*T. ramosissima* Ledeb.)、多花柽柳 (*T. hohenackeri* Bunge)、刚毛柽柳 (*T. hispida* Willd.)、甘肃柽柳 (*T. gansuensis* H. Z. Zhang)、长穗柽柳 (*T. elongata* Ledeb.)、细穗柽柳 (*T. leptostachys* Bunge) 和短穗柽柳 (*T. laxa* Willd.) 等, 共 18 种 1 变种^[1]。柽柳属植物是中国干旱区和半干旱区的沙漠荒地和盐碱化土地广泛分布的一类重要落叶灌木或小乔木, 在盐生荒漠植被类型中占有主要地位^[2], 该属植物属于泌盐盐生植物, 耐盐能力极强, 例如, 柽柳 (*T. chinensis* Lour.) 能够在含盐量 3.5% (约 600 mmol · L⁻¹ NaCl) 的土壤中共存^[3]。

柽柳属植物主要依靠根避盐, 茎和叶细胞内无机离子或有机小分子亲和性溶质参与渗透调节, 以及嫩枝或叶盐腺泌盐 3 种机制来适应盐渍环境^[4]。目前, 关于柽柳属植物耐盐性的研究大多集中在盐腺的发生及泌盐机制上。柽柳属植物的盐腺主要位于嫩枝或叶的表面, 每个盐腺由 1 个原表皮细胞发育而成, 包括 2 个液泡化的收集细胞和 6 个细胞质浓稠的分泌细胞^[5-7]。近年来, 有关泌盐盐生植物耐盐机制的研究已深入分子水平^[8-10]。*SOS1* 为植物耐盐基因, 最先在拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 中被发现, 是植物盐胁迫信号转导过程中盐过敏 (salt overly sensitive, SOS) 离子稳态调控途径的主要成员^[11-12], 编码质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 (membrane

Na⁺/H⁺ antiporter) *SOS1*, 该蛋白质的首要功能是控制盐胁迫下植物根系的 Na⁺ 外排, 降低体内的 Na⁺ 含量, 利于植物耐受盐胁迫环境^[13-14]。迄今为止, *SOS1* 基因多数从甜土植物中分离获得, 少数从盐生植物中分离获得^[15-16]。目前, 关于柽柳属植物 *SOS1* 基因的研究报道较少^[17], 关于不同柽柳属植物 *SOS1* 基因的序列和器官表达差异尚不清楚, 关于 *SOS1* 基因与柽柳属植物耐盐性的关系也不清楚, 亟待研究。

为此, 以柽柳属植物甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳为研究对象, 采用液体培养法对 100、200 和 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 20 d 后 3 种植物的生长和盐离子分布进行了比较, 在此基础上对 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 30 d 后 3 种植物的生长和生理指标进行了比较, 并对 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 0、3、6、12 和 24 h 后 3 种植物地上部和根中 *SOS1* 基因的表达水平进行了比较, 以期探讨供试 3 种柽柳属植物的适盐特性、耐盐性差异及可能原因, 并为深入研究柽柳属植物的耐盐生理机制和分子机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试甘肃柽柳种子采自甘肃省张掖市郊区, 多枝柽柳和细穗柽柳种子采自新疆维吾尔自治区中国科学院吐鲁番沙漠植物园。选取籽粒饱满的种子, 播种

到装有蛭石的塑料盆中,将塑料盆置于装有 1/2 Hoagland 营养液的周转箱中培养,每周更换 1 次营养液;取 2 月龄幼苗,洗净根部,移栽到具 45 孔的泡沫板中,每孔 1 株,置于装有 1/2 Hoagland 营养液的塑料周转箱中,在光照强度 $74 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、昼温 (25 ± 2) °C 和夜温 (20 ± 2) °C 条件下培养 3 d,选取长势基本一致的幼苗进行胁迫实验。整个胁迫实验在南京农业大学生命科学学院植物逆境生物学实验室温室完成。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对植株生长和盐离子分布的影响

1.2.1.1 处理方法 实验设置 CK 组、T1 组、T2 组和 T3 组,每组 45 株幼苗,平均分成 3 份,每份 (15 株) 为 1 个重复。CK 组为对照组,用 1/2 Hoagland 营养液培养,即 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl; T1 组、T2 组和 T3 组分别用含 100、200 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 的 1/2 Hoagland 营养液培养,每 10 d 更换 1 次培养液,培养 20 d 后观察幼苗的形态,同时测定幼苗的株高、单株干质量以及地上部和根的 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 含量,并计算 Na^+/K^+ 比。

1.2.1.2 指标测定方法 随机选取每组 3 种植物幼苗各 5 株,用直尺 (精度 0.1 cm) 测量幼苗的株高。将上述幼苗分别放入信封中,置于 105 °C 杀青 15 min, 80 °C 烘干至恒质量,用千分之一电子天平称量单株干质量。参照屈娅娜等^[18]的方法测定 Na^+ 和 K^+ 含量,并计算 Na^+/K^+ 比,参照 Zhou 等^[19]的方法测定 Cl^- 含量,各离子含量均重复测定 3 次。

1.2.2 NaCl 胁迫对植株生长和生理指标的影响

1.2.2.1 处理方法 在前述实验基础上,设置对照组和处理组,每组 45 株幼苗,平均分成 3 份,每份 (15 株) 为 1 个重复。对照组用 1/2 Hoagland 营养液培养,即 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl; 处理组用含 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 的 1/2 Hoagland 营养液培养,每 10 d 更换 1 次培养液,培养 30 d 后观察幼苗形态,使用桂光 XTL-500 型显微镜 (桂林桂光仪器有限公司) 观察泌盐状况并拍照,同时测定和计算幼苗的相对株高增长量、根冠比、根系活力、地上部相对含水量、地上部离体失水率和光合色素含量。

1.2.2.2 指标测定方法 随机选取每组 3 种植物幼苗各 5 株,用直尺分别测量培养前和培养后幼苗的株高,根据公式“相对株高增长量 = [(处理组培养后株

高 - 处理组培养前株高) / (对照组培养后株高 - 对照组培养前株高)] × 100%”计算相对株高增长量;用去离子水将上述 5 株幼苗冲洗干净,滤纸吸干表面水分,每株分成地上部和根 2 个部分,分别称量单株地上部和根的鲜质量,根据公式“根冠比 = 单株根鲜质量 / 单株地上部鲜质量”计算根冠比;参照 Tian 等^[20]的方法,先将上述 5 株幼苗的地上部完全浸入去离子水中,4 °C 静置 24 h,称量单株地上部饱和鲜质量,再将其置于 105 °C 杀青 15 min, 80 °C 烘干至恒质量,称量单株地上部干质量,最后根据公式“地上部相对含水量 = [(单株地上部鲜质量 - 单株地上部干质量) / (单株地上部饱和鲜质量 - 单株地上部干质量)] × 100%”计算地上部相对含水量。

称取每组 3 种植物幼苗根尖各 0.2 g,参照 Wang 等^[21]的方法测定根系活力,重复测定 3 次。

随机选取每组 3 种植物幼苗各 3 株,立即称量单株地上部鲜质量,并参照 Wang 等^[22]的方法每隔 20 min 称量 1 次单株地上部鲜质量,连续称量 6 h,根据公式“地上部离体失水率 = [(单株地上部鲜质量初始值 - 单株地上部鲜质量瞬时值) / 单株地上部鲜质量初始值] × 100%”计算地上部离体失水率。

称取每组 3 种植物幼苗地上部各 0.5 g,参照 Tian 等^[20]的方法测定光合色素 (包括叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和类胡萝卜素) 含量,并计算总叶绿素含量 (叶绿素 *a* 含量和叶绿素 *b* 含量的总和) 和 $\text{Chl}a/\text{Chl}b$ (叶绿素 *a* 含量与叶绿素 *b* 含量的比值),各指标均重复测定 3 次。

1.2.3 NaCl 胁迫对 *SOS1* 基因表达的影响 供试 3 种植物各选取 15 株幼苗,用含 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 的 1/2 Hoagland 营养液培养,在培养 0、3、6、12 和 24 h 分别取 3 株幼苗进行实时荧光定量 PCR 分析,每株视为 1 个重复。

根据刚毛柽柳 *ThSOS1* 基因序列^[17]设计引物,正向引物序列为 5'-TCGCTGTTGTGGATTGGCT-3',反向引物序列为 5'-CAGCTCCCTCTTGAGCAGTG-3';以刚毛柽柳的 *actin* 基因为内参基因,正向引物序列为 5'-TCGTAGCAGAGCATCGGAGAA-3',反向引物序列为 5'-TGACCCATGCCAACCATAACA-3'。分别取不同胁迫时间幼苗的地上部和根各 250 mg,采用 TaKaRa MiniBEST Plant RNA Extraction Kit 试剂盒 [宝生物工程 (大连) 有限公司] 提取总 RNA,利用 Hifair™ II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for

qPCR (gDNA digester plus) 试剂盒 (上海翊圣生物科技有限公司) 合成 cDNA 第 1 条链, 以 cDNA 第 1 条链为模板进行扩增反应。扩增体系总体积为 20.0 μL , 包括 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 正向引物和反向引物各 0.4 μL , 200 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ cDNA 第 1 条链 2.0 μL , 2 \times HifairTM qPCR SYBR[®] Green Master Mix 10.0 μL , ddH₂O 7.2 μL 。使用 ABI 7500 PCR 仪 (美国 ABI 公司) 进行扩增反应, 扩增程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s, 共 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法^[23] 计算基因的相对表达量。

1.3 数据统计

使用 SPSS 25.0 统计分析软件计算所有实验数据的均值和标准差, 并对所有实验数据进行差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对 3 种柽柳属植物生长和盐离子分布的影响

2.1.1 对生长指标的影响 形态观察结果 (图 1) 表明: 在 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的生长状况均优于 0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl (对照), 但是, 随着 NaCl 浓度提高, 供试 3 种柽柳属植物的生长状况越来越差。总体来看, 多枝柽柳的生长状况随 NaCl 浓度提高的变化幅度最小, 细穗柽柳的生长状况随 NaCl 浓度提高的变化幅度最大。

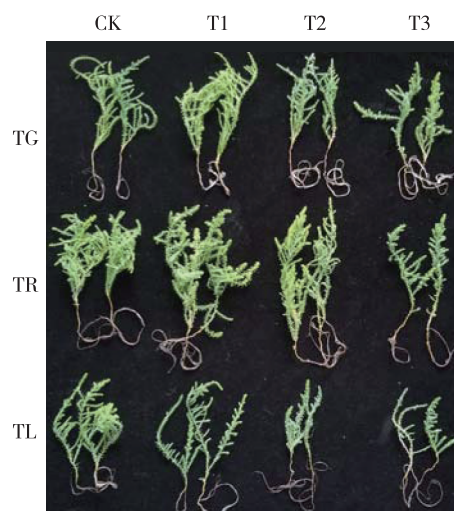
表 1 不同浓度 NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物生长指标的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Comparison on growth indexes of three species of *Tamarix* Linn. under NaCl stress with different concentrations ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

NaCl 浓度 / ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Conc. of NaCl	株高 / cm Height			单株干质量 / g Dry mass per plant		
	TG	TR	TL	TG	TR	TL
0 (CK)	14.62 \pm 1.97bc	13.18 \pm 1.81a	11.12 \pm 1.13ab	0.13 \pm 0.03ab	0.19 \pm 0.03ab	0.08 \pm 0.02ab
100	15.58 \pm 1.18c	16.58 \pm 1.65b	13.12 \pm 2.06b	0.14 \pm 0.04b	0.21 \pm 0.06b	0.10 \pm 0.03b
200	12.98 \pm 2.05ab	14.46 \pm 3.64ab	10.10 \pm 2.30a	0.10 \pm 0.03ab	0.14 \pm 0.02ab	0.06 \pm 0.02ab
300	10.96 \pm 1.80a	12.14 \pm 3.64a	9.48 \pm 2.05a	0.09 \pm 0.01a	0.11 \pm 0.03a	0.06 \pm 0.02ab

¹⁾ TG: 甘肃柽柳 *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang; TR: 多枝柽柳 *T. ramosissima* Ledeb.; TL: 细穗柽柳 *T. leptostachys* Bunge. 同列中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference.

2.1.2 对盐离子分布的影响 研究结果 (图 2 和图 3) 表明: 随着 NaCl 浓度提高, 甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳地上部和根的 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量及 Na⁺/K⁺ 比基本上逐渐升高, 且显著高于对照; 而供试 3 种柽柳属植物地上部和根的 K⁺ 含量却总体上随着 NaCl 浓



CK: 0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl; T1: 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl; T2: 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl; T3: 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl. TG: 甘肃柽柳 *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang; TR: 多枝柽柳 *T. ramosissima* Ledeb.; TL: 细穗柽柳 *T. leptostachys* Bunge.

图 1 不同浓度 NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物形态的比较

Fig. 1 Comparison on morphology of three species of *Tamarix* Linn. under NaCl stress with different concentrations

研究结果 (表 1) 表明: 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的株高和单株干质量均高于对照, 其中多枝柽柳的株高显著 ($P < 0.05$) 高于对照。随着 NaCl 浓度提高, 供试 3 种柽柳属植物的株高和单株干质量均逐渐下降; 与对照相比, 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下多枝柽柳的株高和单株干质量的下降幅度均最小。

度提高而逐渐降低, 且大部分地上部和根的 K⁺ 含量在不同浓度 NaCl 胁迫间差异不显著。值得注意的是, 供试 3 种柽柳属植物根的 Cl⁻ 含量明显低于地上部。总体上看, 细穗柽柳地上部和根的 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量及 Na⁺/K⁺ 比高于甘肃柽柳和多枝柽柳。

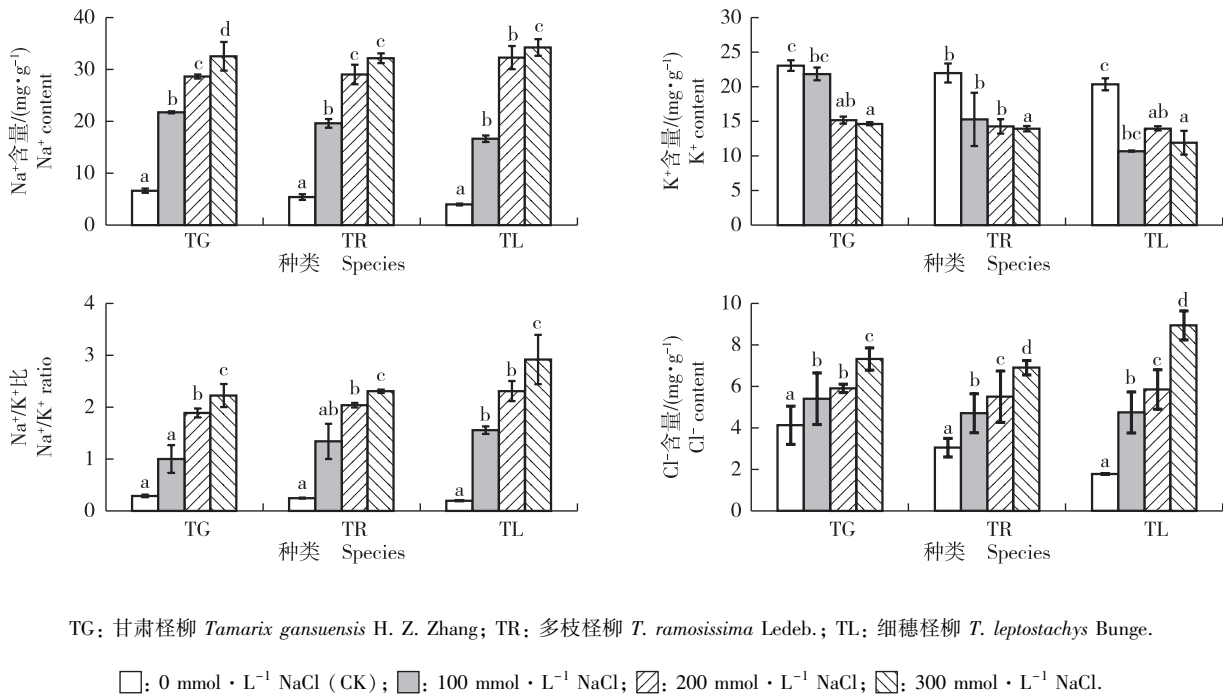


图 2 不同浓度 NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物地上部盐离子含量的比较

Fig. 2 Comparison on salt ion contents in above-ground part of three species of *Tamarix* Linn. under NaCl stress with different concentrations

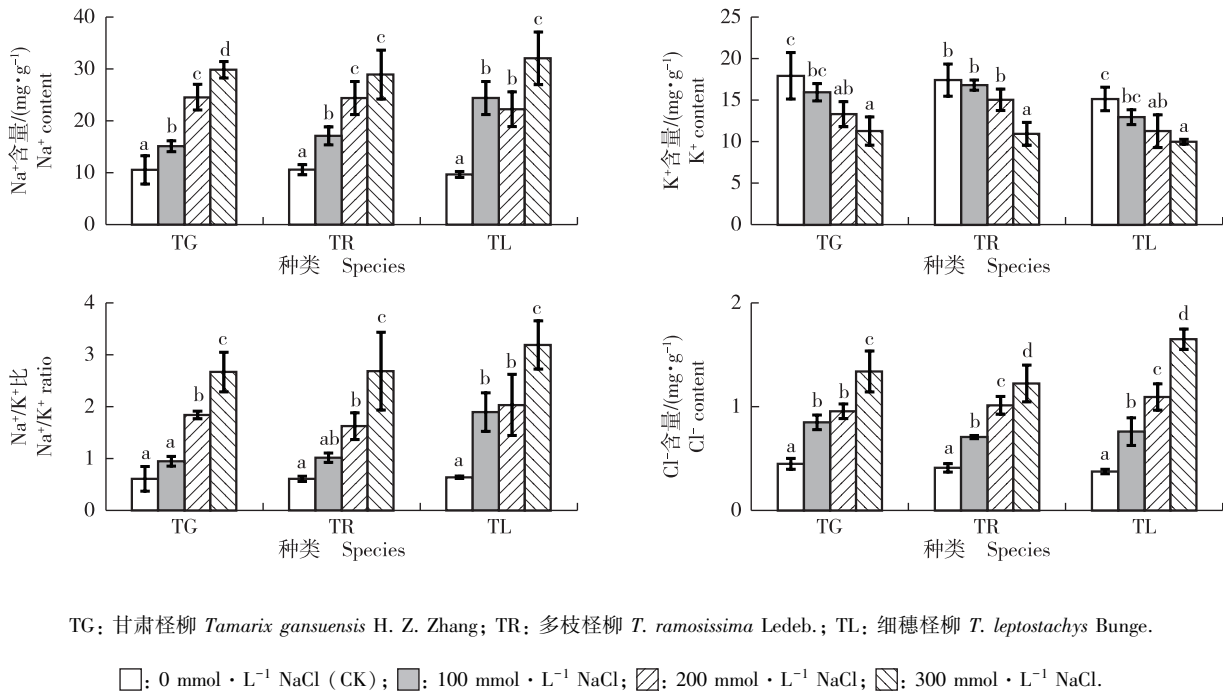


图 3 不同浓度 NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物根的盐离子含量的比较

Fig. 3 Comparison on salt ion contents in root of three species of *Tamarix* Linn. under NaCl stress with different concentrations

2.2 NaCl 胁迫对 3 种柽柳属植物生长和生理指标的影响

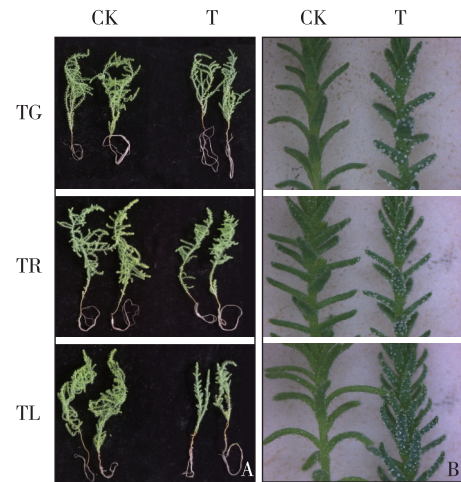
2.2.1 对生长指标的影响 形态观察结果(图 4-

A) 表明:与对照组(0 mmol · L⁻¹ NaCl)相比,处理组(300 mmol · L⁻¹ NaCl)甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的生长均受到抑制,但均表现出一定的耐盐性,并

且甘肃柽柳和多枝柽柳的耐盐性较细穗柽柳更明显。泌盐状况观察结果(图 4-B)显示:与对照组相比,处理组甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的地上部(包括茎和叶)表面均泌盐明显,叶片更为皱缩且更加贴合茎生长。

研究结果(表 2)表明:处理组甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的相对株高增长量均低于 100%,其中,多枝柽柳的相对株高增长量最大(68.84%),甘肃柽柳的相对株高增长量次之(62.90%),细穗柽柳的相对株高增长量最小(34.33%),且多枝柽柳和甘肃柽柳的相对株高增长量均极显著($P < 0.01$)高于细穗柽柳,说明 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫下供试 3 种柽柳属植物的株高生长均受抑制,且多枝柽柳株高生长受抑制程度最小,甘肃柽柳株高生长受抑制程度较小,而细穗柽柳株高生长受抑制程度却较大。

由表 2 还可见:处理组供试 3 种柽柳属植物的根冠比差异极显著,其中,细穗柽柳的根冠比最大(0.47),甘肃柽柳的根冠比次之(0.30),多枝柽柳的根冠比最小(0.25)。与对照组相比,处理组甘肃柽



CK: $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$; T: $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$. TG: 甘肃柽柳 *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang; TR: 多枝柽柳 *T. ramosissima* Ledeb.; TL: 细穗柽柳 *T. leptostachys* Bunge.

图 4 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫下 3 种柽柳属植物形态 (A) 和泌盐状况 (B) 的比较

Fig. 4 Comparison on morphology (A) and salt excretion status (B) of three species of *Tamarix* Linn. under $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ stress

表 2 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫下 3 种柽柳属植物相对株高增长量和根冠比的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 2 Comparisons on relative height increment and root/shoot ratio of three species of *Tamarix* Linn. under $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ stress ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

种类 Species	相对株高增长量/% Relative height increment	根冠比 Root/shoot ratio	
		CK	T
甘肃柽柳 <i>Tamarix gansuensis</i>	$62.90 \pm 2.88\text{Bb}$	$0.14 \pm 0.00\text{Bb}$	$0.30 \pm 0.01\text{Bb}^{**}$
多枝柽柳 <i>Tamarix ramosissima</i>	$68.84 \pm 1.70\text{Bc}$	$0.15 \pm 0.00\text{Bb}$	$0.25 \pm 0.01\text{Aa}^{**}$
细穗柽柳 <i>Tamarix leptostachys</i>	$34.33 \pm 1.03\text{Aa}$	$0.11 \pm 0.01\text{Aa}$	$0.47 \pm 0.01\text{Cc}^{**}$

¹⁾ CK: $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$; T: $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$. 同列中不同大写和小写字母分别表示差异极显著 ($P < 0.01$) 和显著 ($P < 0.05$) Different capitals and lowercases in the same column indicate the extremely significant ($P < 0.01$) and significant ($P < 0.05$) differences, respectively. **: 表示与对照组差异极显著 ($P < 0.01$) Indicating the extremely significant ($P < 0.01$) difference with the control group.

柳、多枝柽柳和细穗柽柳的根冠比均极显著增加,其中,细穗柽柳根冠比的增幅最大,较对照组升高了 3.29 倍。

2.2.2 对生理指标的影响 研究结果(表 3)表明:处理组甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的根系活力均较对照组极显著下降,并且,处理组和对照组细穗柽柳的根系活力均最高;对照组供试 3 种柽柳属植物的地上部相对含水量均在 80% 以上,处理组供试 3 种柽柳属植物的地上部相对含水量差异极显著,并且,处理组甘肃柽柳和细穗柽柳的地上部相对含水量较对照组极显著下降,而多枝柽柳的地上部相对含水量较对照组显著 ($P < 0.05$) 下降。

研究结果(图 5)表明:处理组甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的地上部离体失水率均低于对照组,其降幅随时间延长而增大,其中,多枝柽柳的地上部离体失水率降幅最小,甘肃柽柳和细穗柽柳的地上部离体失水率降幅较大,说明 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫对多枝柽柳地上部水分的影响相对较小。

比较结果(表 4)表明:处理组甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳地上部的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素含量均高于对照组,其中,处理组甘肃柽柳和细穗柽柳地上部的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素含量以及多枝柽柳地上部的叶绿素 a 和总叶绿素含量均极显著高于对照组,而处理组多

枝柽柳地上部的类胡萝卜素含量显著高于对照组,其叶绿素 *b* 含量略高于对照组。就叶绿素 *a* 含量与叶绿素 *b* 含量的比值 (Chla/Chlb) 而言,处理组和对照

组甘肃柽柳地上部的 Chla/Chlb 值差异不明显,而处理组多枝柽柳和细穗柽柳地上部的 Chla/Chlb 值分别显著和极显著高于对照组。

表 3 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物根系活力和地上部相对含水量的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Comparisons on root vigor and relative water content in above-ground part of three species of *Tamarix* Linn. under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

种类 Species	根系活力/(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹) Root vigor		地上部相对含水量/% Relative water content in above-ground part	
	CK	T	CK	T
甘肃柽柳 <i>Tamarix gansuensis</i>	419.93±16.17Aa	76.79±6.30Aa**	84.42±0.87Aa	65.56±1.33Cc**
多枝柽柳 <i>Tamarix ramosissima</i>	460.54±26.60Ab	193.85±5.99Bb**	88.33±0.84Bbc	86.62±0.58Aa*
细穗柽柳 <i>Tamarix leptostachys</i>	563.33±18.53Bc	225.23±18.37Bc**	87.88±0.56Bc	73.55±0.31Bb**

¹⁾ CK; 0 mmol · L⁻¹ NaCl; T; 300 mmol · L⁻¹ NaCl. 同列中不同大写和小写字母分别表示差异极显著 ($P < 0.01$) 和显著 ($P < 0.05$) Different capitals and lowercases in the same column indicate the extremely significant ($P < 0.01$) and significant ($P < 0.05$) differences, respectively. **: 表示与对照组差异极显著 ($P < 0.01$) Indicating the extremely significant ($P < 0.01$) difference with the control group; *: 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$) Indicating the significant ($P < 0.05$) difference with the control group.

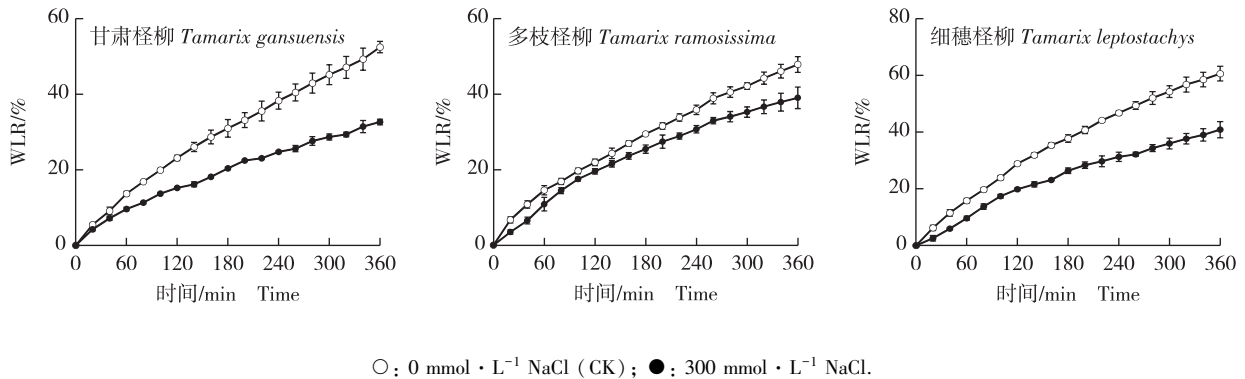


图 5 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物地上部离体失水率 (WLR) 分析

Fig. 5 Analysis on water loss rate of above-ground part *in vitro* (WLR) of three species of *Tamarix* Linn. under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress

表 4 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下 3 种柽柳属植物地上部光合色素含量的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 4 Comparison on photosynthetic pigment content in above-ground part of three species of *Tamarix* Linn. under 300 mmol · L⁻¹ NaCl stress ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

种类 ²⁾ Species ²⁾	叶绿素 <i>a</i> 含量/(mg · g ⁻¹) Chlorophyll <i>a</i> content		叶绿素 <i>b</i> 含量/(mg · g ⁻¹) Chlorophyll <i>b</i> content		Chla/Chlb	
	CK	T	CK	T	CK	T
TG	0.97±0.06Aa	1.34±0.03ABa**	0.29±0.03Aa	0.41±0.02Aa**	3.31±0.18ABb	3.27±0.10ABab
TR	1.24±0.03Bb	1.39±0.08Ba**	0.40±0.03Bc	0.41±0.01Aa	3.11±0.17ABab	3.38±0.25ABab*
TL	1.01±0.01Aa	1.51±0.00Cb**	0.34±0.01Ab	0.44±0.02Aa**	2.93±0.07Aa	3.45±0.17Bb**

种类 ²⁾ Species ²⁾	总叶绿素含量/(mg · g ⁻¹) Total chlorophyll content		类胡萝卜素含量/(mg · g ⁻¹) Carotenoid content	
	CK	T	CK	T
TG	1.26±0.09Aa	1.75±0.05ABa**	0.13±0.01Aa	0.19±0.02Aab**
TR	1.64±0.06Bb	1.80±0.08BCa**	0.18±0.01Bb	0.20±0.01Ab*
TL	1.35±0.02Aa	1.95±0.02Cb**	0.13±0.01Aa	0.23±0.01Bc**

¹⁾ Chla/Chlb; 叶绿素 *a* 含量与叶绿素 *b* 含量的比值 Ratio of chlorophyll *a* content to chlorophyll *b* content. CK; 0 mmol · L⁻¹ NaCl; T; 300 mmol · L⁻¹ NaCl. 同列中不同大写和小写字母分别表示差异极显著 ($P < 0.01$) 和显著 ($P < 0.05$) Different capitals and lowercases in the same column indicate the extremely significant ($P < 0.01$) and significant ($P < 0.05$) differences, respectively. **: 表示与对照组差异极显著 ($P < 0.01$) Indicating the extremely significant ($P < 0.01$) difference with the control group; *: 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$) Indicating the significant ($P < 0.05$) difference with the control group.

²⁾ TG; 甘肃柽柳 *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang; TR; 多枝柽柳 *T. ramosissima* Ledeb.; TL; 细穗柽柳 *T. leptostachys* Bunge.

2.3 NaCl胁迫对3种柽柳属植物 *SOS1* 基因表达的影响

研究结果(表5)表明:与胁迫0 h相比,300 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫3~24 h甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量大多升高,仅胁迫3、6和12 h甘肃柽柳地上部中 *SOS1* 基因的相对表达量以及胁迫3 h多枝柽柳地上部中 *SOS1* 基因的相对表达量及细穗柽柳地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量略降低。总体来看,NaCl胁迫

期间,甘肃柽柳根中 *SOS1* 基因的相对表达量高于其地上部,而多枝柽柳和细穗柽柳根中 *SOS1* 基因的相对表达量却低于其地上部。

比较而言,胁迫24 h甘肃柽柳根和多枝柽柳地上部中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅最大,甘肃柽柳地上部和多枝柽柳根中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅居中,而细穗柽柳地上部和根 *SOS1* 基因的相对表达量增幅最小。

表5 300 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫不同时间3种柽柳属植物地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量分析($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 5 Analysis on relative expression of *SOS1* gene in above-ground part and root of three species of *Tamarix* Linn. under 300 mmol·L⁻¹ NaCl stress at different times ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

时间/h Time	在 地上部中的相对表达量 Relative expression in above-ground part			在根中的相对表达量 Relative expression in root		
	TG	TR	TL	TG	TR	TL
0	0.42±0.29ab	0.89±0.07a	0.94±0.22a	1.07±0.07a	0.86±0.09a	0.87±0.15a
3	0.08±0.00a	0.86±0.08a	0.77±0.08a	1.28±0.20a	0.93±0.05ab	0.79±0.21a
6	0.14±0.02a	0.99±0.25a	1.04±0.27a	2.10±0.16a	1.80±0.58ab	0.90±0.11a
12	0.28±0.05a	2.19±0.42b	2.13±0.34b	1.89±0.09a	1.89±0.14b	0.96±0.03a
24	0.76±0.07b	2.63±0.55b	1.45±0.06ab	3.13±0.65b	1.47±0.23ab	1.17±0.02a

¹⁾TG: 甘肃柽柳 *Tamarix gansuensis* H. Z. Zhang; TR: 多枝柽柳 *T. ramosissima* Ledeb.; TL: 细穗柽柳 *T. leptostachys* Bunge. 同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference.

3 讨论和结论

柽柳属植物的适应性广、生命力强,具有耐盐碱、耐干旱、耐瘠薄、耐风蚀和沙埋等诸多优点,是防风固沙、水土保持、盐碱地改良和造林及城镇绿化的一类优良树种^[1]。相关研究结果表明:柽柳属植物对NaCl胁迫的耐受性有一定的阈值^[24];在质量体积分数4.0%NaCl(约685 mmol·L⁻¹)胁迫下甘蒙柽柳的生长受到抑制,并随着胁迫时间延长基本停止生长^[25]。本研究结果表明:与0 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫(对照)相比,300 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳的生长受到明显抑制,株高、单株干质量、根系活力和地上部相对含水量显著下降,但这3种植物地上部表面泌盐明显增多,叶绿素(包括叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素)和类胡萝卜素含量基本上显著升高。总体来看,多枝柽柳的相对株高增长量最大,根冠比最小,地上部相对含水量和地上部离体失水率的降幅均最小,说明多枝柽柳地上部生长受NaCl胁迫的抑制程度较小。

柽柳属植物通过盐腺将体内过多的盐分排出体

外,以维持体内离子平衡和渗透稳定,这是该属植物耐盐性较强的主要原因。柽柳属植物体内还能吸收和积累较多的盐离子,实现植物细胞与盐生环境的渗透调节和平衡,也体现了该属植物泌盐特征与耐盐生理特征的协调性^[26]。柽柳可分泌多种盐离子,包括Mg²⁺、Ca²⁺、K⁺、Na⁺、NO₃⁻、Cl⁻、HCO₃⁻和SO₄²⁻等^[5]。柽柳属植物不同种类间及不同离子组成和浓度的盐生环境均可能导致柽柳属植物分泌盐分种类和泌盐量的差异。Storey等^[27]认为,柽柳盐腺的泌盐过程具有很低的离子选择性;潘婷婷^[28]的研究结果表明:随着NaCl浓度提高,刚毛柽柳叶盐腺中Na⁺、Cl⁻和K⁺的分泌量逐渐增多,而SO₄²⁻、Ca²⁺和Mg²⁺的分泌量则逐渐减少,并且,Na⁺和Cl⁻的分泌量最高,SO₄²⁻的分泌量次之,而K⁺、Ca²⁺和Mg²⁺的分泌量较低。随着NaCl浓度提高,甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳地上部和根的Na⁺和Cl⁻含量及Na⁺/K⁺比逐渐升高,而K⁺含量逐渐降低且降幅受NaCl浓度影响较小;并且,细穗柽柳地上部和根的Na⁺和Cl⁻含量及Na⁺/K⁺比高于多枝柽柳和甘肃柽柳。值得注意的是,供试3种柽柳属植物根的Cl⁻含量明显低于地上部,其原因有待

深入研究。

本研究结果表明:总体来看,供试 3 种柽柳属植物地上部和根中 *SOS1* 基因的相对表达量在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫 0 h 无明显差异,但在胁迫 24 h 不同程度升高,其中,多枝柽柳地上部中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅最大,其根中 *SOS1* 基因的相对表达量增幅也较大。关于该基因在 NaCl 胁迫条件下柽柳属植物各器官尤其是盐腺分泌细胞中的表达量,以及其与柽柳属植物泌盐的关系,均值得深入研究。

综上所述,甘肃柽柳、多枝柽柳和细穗柽柳均表现出较强的耐盐能力,但其地上部和根受 NaCl 胁迫影响程度存在差异,多枝柽柳地上部和细穗柽柳根受 NaCl 胁迫影响均相对较小。总体来看,多枝柽柳受 NaCl 胁迫的影响最小,可作为柽柳属植物耐盐生理和分子机制研究的备选材料。

参考文献:

- [1] 陈晓琴,王 婷,汪建红. 新疆柽柳属植物的价值及开发利用建议[J]. 新疆师范大学学报(自然科学版), 2006, 25(3): 100-102.
- [2] 刘铭庭. 中国柽柳属植物综合研究图文集[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2014: 1-79.
- [3] 张立宾,宋曰荣,吴 霞. 柽柳的耐盐能力及其对滨海盐渍土的改良效果研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(13): 5424-5426.
- [4] 李 芊. 新疆柽柳属植物抗盐机理研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学林学与园艺学院, 2002: 5-8.
- [5] 张道远,尹林克,潘伯荣. 柽柳泌盐腺结构、功能及分泌机制研究进展[J]. 西北植物学报, 2003, 23(1): 190-194.
- [6] BOSABALIDIS A M. Programmed cell death in salt glands of *Tamarix aphylla* L.: an electron microscope analysis[J]. Central European Journal of Biology, 2012, 7: 927-930.
- [7] DASSANAYAKE M, LARKIN J C. Making plants break a sweat: the structure, function, and evolution of plant salt glands[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 406.
- [8] 杨传平. 柽柳耐盐抗旱分子基础研究[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 9-10.
- [9] YUAN F, LYU M J A, LENG B Y, et al. Comparative transcriptome analysis of developmental stages of the *Limonium bicolor* leaf generates insights into salt gland differentiation[J]. Plant, Cell and Environment, 2015, 38: 1637-1657.
- [10] YUAN F, LENG B, WANG B. Progress in studying salt secretion from the salt glands in recretahalophytes: how do plants secrete salt?[J]. Frontier in Plant Science, 2016, 7: 977.
- [11] ZHU J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6: 441-445.
- [12] 於丙军,刘友良. *SOS* 基因家族与植物耐盐性[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 409-413.
- [13] CHUNG J S, ZHU J K, BRESSAN R A, et al. Reactive oxygen species mediate Na⁺-induced *SOS1* mRNA stability in Arabidopsis[J]. The Plant Journal, 2008, 53: 554-565.
- [14] ZHAO X F, WEI P P, LIU Z, et al. Soybean Na⁺/H⁺ antiporter *GmsSOS1* enhances antioxidant enzyme activity and reduces Na⁺ accumulation in Arabidopsis and yeast cells under salt stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39: 19.
- [15] 周玲玲,祝建波,曹连青. 大叶补血草 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因(*SOS1*)的克隆与序列分析[J]. 园艺学报, 2009, 36(9): 1353-1358.
- [16] 荆海瑜,周 扬,郭晓颖,等. 木榄细胞膜 Na⁺/H⁺ 逆向运输蛋白 BgSOS1 功能的初步验证[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2014, 32(3): 252-259.
- [17] 贾园园,张春蕊,王玉成,等. 刚毛柽柳 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因的克隆与表达分析[J]. 植物研究, 2016, 36(3): 380-387.
- [18] 屈娅娜,於丙军. 氯离子通道抑制剂对盐胁迫下野生和栽培大豆幼苗离子含量等生理指标的影响[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(2): 17-21.
- [19] ZHOU Q, YU B J. Accumulation of inorganic and organic osmolytes and their role in osmotic adjustment in NaCl-stressed vetiver grass seedlings[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2009, 56: 678-875.
- [20] TIAN F, JIA T J, YU B J. Physiological regulation of seed soaking with soybean isoflavones on drought tolerance of *Glycine max* and *Glycine soja*[J]. Plant Growth Regulation, 2014, 74: 229-237.
- [21] WANG C J, YANG W, WANG C, et al. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains[J]. PLoS One, 2012, 7: e52565.
- [22] WANG L L, CHEN A P, ZHONG N Q, et al. The *Thellungiella salsuginea* tonoplast aquaporin *TsTIP1;2* functions in protection against multiple abiotic stresses[J]. Plant and Cell Physiology, 2014, 55: 148-161.
- [23] SCHMITTGEN T D, LIVAK K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method[J]. Nature Protocols, 2008, 3: 1101-1108.
- [24] 杨 升,张华新,刘 涛. 16 个树种盐胁迫下的生长表现和生理特性[J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(5): 744-754.
- [25] 刘克东,郑彩霞,郝建卿. 甘蒙柽柳对 NaCl 胁迫的生理响应[J]. 广东农业科学, 2012(10): 38-42, 55.
- [26] 赵可夫,冯立田. 中国盐生植物资源[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 38-40.
- [27] STOREY R, THOMSON W W. An X-ray microanalysis study of the salt glands and intracellular calcium crystals of *Tamarix* [J]. Annals of Botany, 1994, 73: 307-313.
- [28] 潘婷婷. 刚毛柽柳 Na⁺ 积累及泌盐功能研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学草业与环境科学学院, 2011: 29-30.

(责任编辑: 佟金凤)