

# NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草根系 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{H}^+$ 流动及 $\text{Ca}^{2+}$ 分布特征

叶 刚<sup>1</sup>, 杨 静<sup>2</sup>, 李晓慧<sup>1</sup>, 郝东利<sup>1</sup>, 沈泽宇<sup>1</sup>, 郑荣佳<sup>1</sup>, 陈静波<sup>1</sup>, 郭海林<sup>1,①</sup>

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014; 2. 南京林业大学, 江苏 南京 210037]

**摘要:** 以耐盐结缕草 (*Zoysia japonica* Steud.) Z011 和 Z015 和敏盐结缕草 Z004 和 Z103 为试验材料, 利用非损伤微测技术和 X 射线能谱仪对结缕草在 NaCl 胁迫 (200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl) 下不同根区  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$  流的变化以及  $\text{Ca}^{2+}$  在根系的分布情况进行了分析。结果表明: 在对照条件下, 4 个结缕草材料根尖分生区、伸长区和成熟区  $\text{Ca}^{2+}$  以外排为主, 其中分生区的平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速明显高于伸长区和成熟区, 且耐盐结缕草分生区的平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速明显高于敏盐结缕草; NaCl 胁迫后, 总体上看, 耐盐结缕草 3 个根区的  $\text{Ca}^{2+}$  由外排变为内流, 而敏盐结缕草仅根尖成熟区的  $\text{Ca}^{2+}$  由外排变为内流, 耐盐结缕草较敏盐结缕草有更多的  $\text{Ca}^{2+}$  内流参与离子调控。耐盐结缕草 Z011 与其他 3 个材料的  $\text{H}^+$  流有明显区别, 在对照条件下, Z011 3 个根区的  $\text{H}^+$  均为内流, 而其他 3 个材料 3 个根区的  $\text{H}^+$  为微弱内流或外排, 且其平均  $\text{H}^+$  流速明显低于 Z011; NaCl 胁迫后, Z011 3 个根区  $\text{H}^+$  内流明显减弱, 而其他 3 个材料 3 个根区  $\text{H}^+$  的内流或外排也减弱, 但差异不明显。扫描结果显示: 总体上看, NaCl 胁迫后, 4 个结缕草材料根系表皮、皮层和中柱中  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量显著降低, 且随着处理时间的延长表现为先降低再升高的趋势; 同一材料根系表皮、皮层和中柱间的  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量存在差异, 但区隔作用不明显。综合分析结果表明: 耐盐结缕草有更强的  $\text{Ca}^{2+}$  调控能力, 分生区为  $\text{Ca}^{2+}$  参与 NaCl 胁迫下离子平衡的关键调控区域, 结缕草根系对  $\text{Ca}^{2+}$  没有区隔作用或区隔不明显。另外, 耐盐结缕草 Z011 可能具有不同于其他 3 个材料的  $\text{H}^+$  调控机制。

**关键词:** 结缕草; 耐盐性;  $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{H}^+$ ; 离子流; 离子分布

中图分类号: Q945.78; S564+.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)03-0075-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.03.09

**Ca<sup>2+</sup> and H<sup>+</sup> flow and Ca<sup>2+</sup> distribution characteristics in roots of *Zoysia japonica* with different salt tolerances under NaCl stress** YE Gang<sup>1</sup>, YANG Jing<sup>2</sup>, LI Xiaohui<sup>1</sup>, HAO Dongli<sup>1</sup>, SHEN Zeyu<sup>1</sup>, ZHENG Rongjia<sup>1</sup>, CHEN Jingbo<sup>1</sup>, GUO Hailin<sup>1,①</sup> (1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(3): 75-84

**Abstract:** Taking salt tolerant *Zoysia japonica* Steud. Z011 and Z015 and salt sensitive *Z. japonica* Z004 and Z103 as research materials, changes of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{H}^+$  flow in different root zones and distribution of  $\text{Ca}^{2+}$  in roots of *Z. japonica* under NaCl stress (200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl) were analyzed by using non-invasive micro-test technique and X-ray energy spectrometer. The results show that under the condition of the control,  $\text{Ca}^{2+}$  in meristem zone, elongation zone and maturation zone of root tips of four *Z. japonica* materials are mainly efflux, in which the average of  $\text{Ca}^{2+}$  flux in meristem zone is obviously higher than those in elongation zone and maturation zone, and the average of  $\text{Ca}^{2+}$  flux in meristem zone of salt tolerant *Z. japonica* is obviously higher than that of salt sensitive *Z. japonica*; after NaCl stress, in

收稿日期: 2022-01-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31572155); 中央财政林业科技推广示范资金项目(苏[2021]TG02)

作者简介: 叶 刚(1996—), 男, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 主要从事草坪草遗传育种和耐盐机制方面的研究。

①通信作者 E-mail: ghlmng@sina.com

引用格式: 叶 刚, 杨 静, 李晓慧, 等. NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草根系  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  流动及  $\text{Ca}^{2+}$  分布特征[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(3): 75-84.

general,  $\text{Ca}^{2+}$  in three root zones of salt tolerant *Z. japonica* turn from efflux into influx, while only  $\text{Ca}^{2+}$  in maturation zone of root tips of salt sensitive *Z. japonica* turn from efflux into influx, and more  $\text{Ca}^{2+}$  influx is involved in ion regulation in salt tolerant *Z. japonica* than in salt sensitive *Z. japonica*.  $\text{H}^+$  flow of salt tolerant *Z. japonica* Z011 is remarkably different from those of the other three materials, and under the condition of the control,  $\text{H}^+$  in three root zones of Z011 are all influx, while  $\text{H}^+$  in three root zones of the other three materials are weak influx or efflux, and their averages of  $\text{H}^+$  flux are evidently lower than that of Z011; after NaCl stress,  $\text{H}^+$  influx in three root zones of Z011 evidently decrease, while  $\text{H}^+$  influx or efflux in three root zones of the other three materials also decrease, but the differences are not significant. The scan results show that in general, after NaCl stress, the relative contents of  $\text{Ca}^{2+}$  in epidermis, cortex and stele of roots of four *Z. japonica* materials significantly decrease, and show a tendency to first decrease and then increase with the elongation of treatment time; there are differences in relative contents of  $\text{Ca}^{2+}$  among epidermis, cortex and stele of roots of the same material, but the segmentation effect is not evident. The comprehensive analysis result shows that salt tolerant *Z. japonica* have a stronger  $\text{Ca}^{2+}$  regulatory ability, meristem zone is the key regulatory zone for  $\text{Ca}^{2+}$  to participate in ion balance under NaCl stress, and roots of *Z. japonica* have no segmentation effect on  $\text{Ca}^{2+}$  or the segmentation is not evident. In addition, salt tolerant *Z. japonica* Z011 may have a different  $\text{H}^+$  regulatory mechanism from the other three materials.

**Key words:** *Zoysia japonica* Steud.; salt tolerance;  $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{H}^+$ ; ion flow; ion distribution

结缕草属 (*Zoysia* Willd.) 为禾本科 (Poaceae) 多年生草本植物, 是世界公认的优良暖季型草坪草。该属植物具有双细胞盐腺, 为泌盐植物, 其中, 大穗结缕草 (*Z. macrostachya* Franch. et Sav.)、结缕草 (*Z. japonica* Steud.) 和沟叶结缕草 [*Z. matrella* (Linn.) Merr.] 被确定为盐生植物<sup>[1]</sup>。另外, 结缕草属植物有非常发达的根状茎和匍匐茎, 因而结缕草属植物抗逆性强, 如抗寒、抗旱、耐盐碱和病虫害较少, 在低水平养护下亦有不俗的表现, 被广泛应用于观赏草坪、休憩草坪、运动草坪以及保土草坪。结缕草属植物作为盐碱地生态改良和园林绿化的备选草种之一, 具有非常强的优越性, 研究结缕草属植物的耐盐性对于加速耐盐草坪草的育种进程具有非常重要的意义。

$\text{Ca}^{2+}$  是植物生长发育所必需的营养元素之一, 参与种子的萌发、生长分化、形态建成, 以及花粉管的生长和伸长等开花结果的全过程<sup>[2]</sup>。同时作为第二信使,  $\text{Ca}^{2+}$  在高等植物多种信号传递过程中也发挥着重要作用, 可以传递外界刺激, 引起下游信号物质的响应。研究结果<sup>[3]</sup>表明:  $\text{Ca}^{2+}$  可以维持质膜结构的稳定进而提高植物的抗逆境能力。 $\text{H}^+$  对植物来说同样不可或缺, 可以维持质膜内正外负的膜电位稳态, 而  $\text{H}^+$  转运体是一种在膜上以多种形式存在的转运蛋白, 如  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运体、 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$  逆向转运体和  $\text{H}^+ - \text{ATP}$  酶等<sup>[4]</sup>。细胞质膜的去极化与超极化均能激活  $\text{Ca}^{2+}$  通道向胞内转运  $\text{Ca}^{2+}$ , 通过  $\text{Ca}^{2+} - \text{H}^+$  逆向转运体或

$\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$  向胞外转运  $\text{Ca}^{2+}$ , 使细胞内外产生  $\text{Ca}^{2+}$  浓度差, 启动  $\text{Ca}^{2+}$  信号途径<sup>[5]</sup>, 进而触发下游的抗性反应<sup>[6]</sup>。NaCl 胁迫下, 大量的  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  进入细胞, 打破植物体内离子平衡, 引起 K、Ca 和 H 等营养元素含量下降, 细胞质中游离的  $\text{Ca}^{2+}$  也急剧下降, 从而引起  $\text{Ca}^{2+}$  介导的钙调蛋白调节系统和磷酸肌醇调节系统失调, 最终造成植物细胞代谢紊乱甚至死亡<sup>[7]</sup>。

鉴于  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  在植物耐盐调控中的重要性, 本研究利用非损伤微测技术 (NMT) 检测了不同耐盐型结缕草经  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理 24 h 后其根系不同根区的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  流变化, 并运用 X 射线能谱仪检测根系横切面的  $\text{Ca}^{2+}$  分布情况, 判断这 2 个离子与其耐盐性是否存在关联, 进而揭示 NaCl 胁迫下结缕草根系  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  的调控机制, 为结缕草属植物遗传改良和优质耐盐新品种的选育奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

以耐盐结缕草 (编号 Z011 和 Z015) 和敏盐结缕草 (编号 Z004 和 Z103) 为试验材料, 其中, Z011、Z015 和 Z004 为 1995 年分别从浙江兰溪 (东经  $119^{\circ}30'$ 、北纬  $29^{\circ}13'$ )、浙江杭州 (东经  $120^{\circ}12'$ 、北纬  $30^{\circ}20'$ ) 和江西庐山 (东经  $116^{\circ}00'$ 、北纬  $28^{\circ}36'$ ) 采集的结缕草野生种质资源, Z103 为 1999 年从河南信阳 (东经

114°08′、北纬 31°52′) 采集的结缕草野生种质资源。4 个材料现种植于江苏省中国科学院植物研究所苗圃(东经 118°28′、北纬 32°02′,海拔 30~40 m)。应用前期已建立的耐盐性鉴定方法,通过水培法对试验材料进行培养<sup>[8]</sup>。于 2021 年 6 月至 8 月,取供试 4 个材料的匍匐茎(含第 2 和第 3 节),用海绵包裹后扦插在打好孔的泡沫板上,将泡沫板放在黑色周转箱(长 56.5 cm、宽 36.5 cm、高 11.0 cm)中,箱中加入 1/2 Hogland 营养液,置于塑料大棚内进行培养,培养期间不间断通气,每隔 3 d 换 1 次营养液。共 6 个周转箱,每个材料 288 份。

## 1.2 方法

1.2.1 根系  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  流测定 用 NMT100S-IM-YG 非损伤微测系统(美国 Younger 公司)测定 NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草根系  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  稳态离子流。

1.2.1.1 离子选择性微电极制备 在 CX23 显微镜(南京娇子藤科学器材有限公司)下,将相应的电解液( $\text{Ca}^{2+}$  电极:灌充液含  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ ;  $\text{H}^+$  电极:灌充液含  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$  和  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7.0)灌充到微电极中,将液态离子交换剂 XY-SJ-Ca 和 XY-SJ-H(美国 Younger 公司)灌充至电极的尖端,灌充约  $40 \sim 50 \mu\text{m}$ 。

1.2.1.2 校正 在使用之前对离子选择性微电极进行校正。 $\text{Ca}^{2+}$  校正液为  $0.5$ 、 $1.0$  和  $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ ;  $\text{H}^+$  校正液为 pH 5.0、pH 6.0 和 pH 7.0 的蒸馏水(用 MES 和 Tris 溶液调 pH 值)。

1.2.1.3 测定 按照 Newman<sup>[9]</sup>的方法测试  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  流。材料培养 10 d 后,选取 2 箱长势基本一致的材料,一箱作为对照,另一箱以  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$  进行处理,24 h 后取根尖完整、长势基本一致的新鲜嫩根(3 cm),用测试液( $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgCl}_2$ 、 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 、 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$  和  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ , pH 5.7)冲洗 4 或 5 遍,然后在测试液中平衡 10 min。将根尖用镊子夹起,放于直径 50 mm 透明培养皿中,用无菌滤纸和树脂块固定,加入 10 mL 测试液,之后进行离子流的测定。稳态离子流测定位点分别为根尖分生区(距根尖  $0.3 \sim 0.5 \text{ mm}$  处)、伸长区(距根尖  $1.5 \sim 2.5 \text{ mm}$  处)和成熟区(距根尖  $10.0 \sim 15.0 \text{ mm}$  处),每个材料的不同处理至少检测 6 个嫩根。每个位点检测 5~10 min,选其中 3 min 稳定有效的离子流速数据(净流速)用于分析,并基于  $\text{Ca}^{2+}$  净流速和  $\text{H}^+$  净流速计算平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速和平均  $\text{H}^+$  流速。

1.2.2 根系横切面  $\text{Ca}^{2+}$  分布测定 用 GENESIS X 射线能谱仪(美国 EDAX 公司)检测根系横切面的  $\text{Ca}^{2+}$  分布情况。待全部材料长出成熟根系后(约 2 个月),选取长势基本一致的材料,以  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$  进行处理,在处理的 0(对照)、1、6 和 20 d 时取其根系(距根尖  $3 \sim 4 \text{ cm}$  的根段),切成长约  $0.5 \text{ cm}$  的小段,用滤纸包裹后迅速投入液氮中固定,然后在 BYK-FD2A 冷冻真空干燥机(北京中西华大科技有限公司)中脱水。干燥样品粘在样品台上进行离子溅射镀金,再用 Hitachi FE-SEM 5000 扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司)联合 X 射线能谱仪对其横切面同时做点、线、面扫描,对其中  $\text{Ca}^{2+}$  的分布进行分析。每个处理检测 3 个根段,做点扫描时将根段分为表皮、皮层和中柱 3 个区域,每个区域检测 3 或 4 个点。根据文献[10]中的方法计算  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量( $\text{Ca}$  占全部检测元素 Na、K、Ca 和 Cl 的原子百分比)。

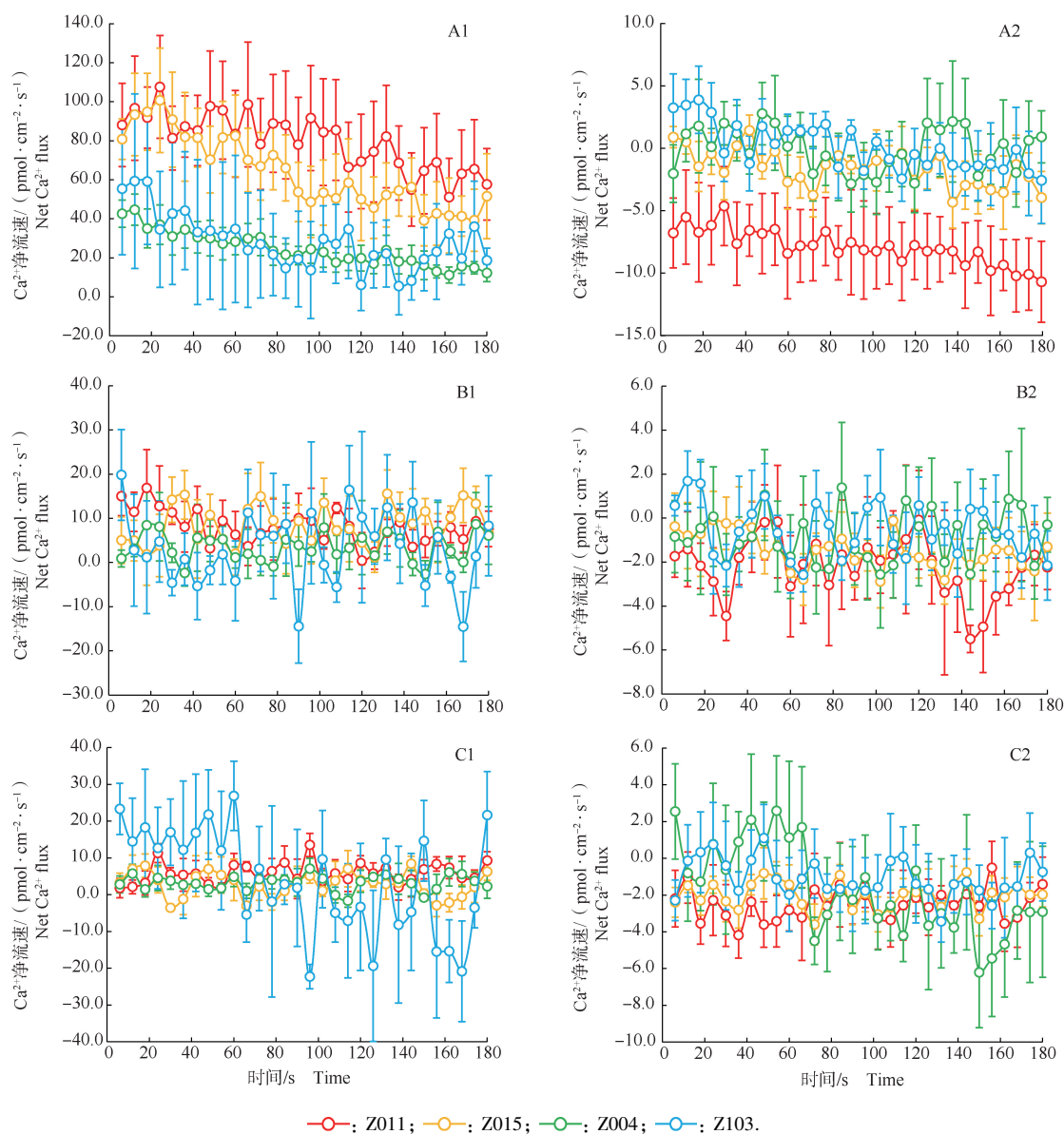
## 1.3 数据统计分析

用 Mageflux 软件(<http://youngerusa.com>)计算离子流速。负值表示离子内流,正值表示离子外排。用 EXCEL 2019 和 SPSS 26.0 软件剔除获得数据中的异常值,并用 EXCEL 2019 软件进行数据整理和作图,用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA,  $\alpha=0.05$ )和差异显著性比较(Duncan 法)。

## 2 结果和分析

### 2.1 NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草不同根区的 $\text{Ca}^{2+}$ 流变化

NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草 3 个根区的  $\text{Ca}^{2+}$  流变化见图 1,平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速见表 1。结果显示:对照组,4 个结缕草材料根尖分生区、伸长区和成熟区  $\text{Ca}^{2+}$  均以外排为主,敏盐结缕草 Z103 3 个根区  $\text{Ca}^{2+}$  有部分测试点显示为内流(图 1-A1, B1, C1);同一材料根尖分生区平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速明显高于伸长区和成熟区,不同材料间在根尖伸长区和成熟区无明显差异,但在分生区,耐盐结缕草 Z011 和 Z015 的平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速(分别为  $79.85$  和  $63.79 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )明显高于敏盐结缕草 Z004 和 Z103(分别为  $24.42$  和  $28.43 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )。200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$  处理组,总体上看,耐盐结缕草 Z011 和 Z015 3 个根区  $\text{Ca}^{2+}$  由外排变为内流,敏盐结缕草 Z004 和 Z103 根系成熟区的  $\text{Ca}^{2+}$  由外排变为内流,而分生区和伸长区  $\text{Ca}^{2+}$  外排减



A1, B1, C1: 分别为对照组根尖分生区、伸长区和成熟区的  $\text{Ca}^{2+}$  流变化 Change of  $\text{Ca}^{2+}$  flow of meristem zone, elongation zone and mature zone of root tip in the control group, respectively; A2, B2, C2: 分别为  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理组根尖分生区、伸长区和成熟区的  $\text{Ca}^{2+}$  流变化 Change of  $\text{Ca}^{2+}$  flow of meristem zone, elongation zone and mature zone of root tip in  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl treatment group, respectively.

图1 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草3个根区的  $\text{Ca}^{2+}$  流变化

Fig. 1 Changes of  $\text{Ca}^{2+}$  flow of three root zones of *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress

表1 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草3个根区的平均  $\text{Ca}^{2+}$  流速 ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Averages of  $\text{Ca}^{2+}$  flow of three root zones of *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

材料 Material	分生区平均 $\text{Ca}^{2+}$ 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )		伸长区平均 $\text{Ca}^{2+}$ 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )		成熟区平均 $\text{Ca}^{2+}$ 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	
	Average of $\text{Ca}^{2+}$ flux in meristem zone		Average of $\text{Ca}^{2+}$ flux in elongation zone		Average of $\text{Ca}^{2+}$ flux in mature zone	
	CK	T	CK	T	CK	T
Z011	79.85±21.93	-5.41±2.75	8.07±2.09	-2.23±1.46	5.84±1.39	-2.53±0.83
Z015	63.79±16.89	-1.59±1.25	8.50±3.79	-1.47±0.47	2.76±1.61	-2.00±0.45
Z004	24.42±5.71	-0.05±2.21	3.49±4.19	-0.86±1.45	3.27±1.08	-1.67±1.93
Z103	28.43±18.57	0.12±0.62	3.12±1.66	-0.55±0.95	3.67±0.89	-1.08±1.63

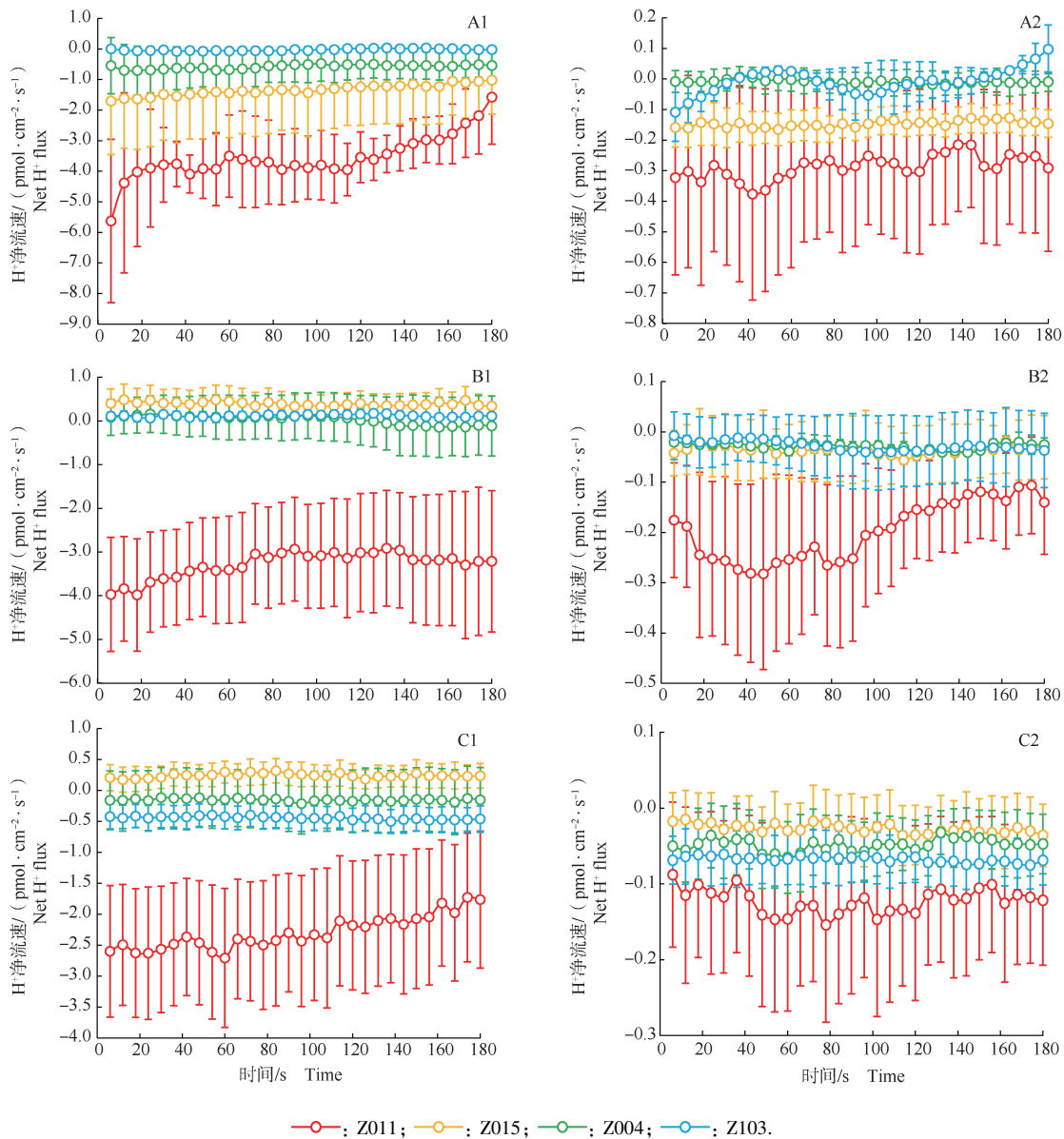
<sup>1)</sup> CK: 对照组 The control group; T:  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理组 Treatment group of  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl.

弱或变为内流(图1-A2,B2,C2);同一材料3个根区平均Ca<sup>2+</sup>流速无明显差异,但与对照组差异明显,且耐盐结缕草Z011和Z0153个根区平均Ca<sup>2+</sup>流速与敏盐结缕草Z004和Z103无明显差异。

总体上看,NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草的Ca<sup>2+</sup>由外排变为内流或外排减弱,耐盐结缕草较敏盐结缕草有更强的Ca<sup>2+</sup>调控能力,分生区为Ca<sup>2+</sup>参与NaCl胁迫下离子平衡的关键调控区域。

### 2.2 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草根系不同根区的H<sup>+</sup>流变化

NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草3个根区的H<sup>+</sup>流变化见图2,平均H<sup>+</sup>流速见表2。结果显示:对照组,耐盐结缕草Z011根尖分生区、伸长区和成熟区的H<sup>+</sup>均为内流,其他3个材料3个根区的H<sup>+</sup>为微弱内流或外排(图2-A1,B1,C1),且这3个材料3个根区的平均H<sup>+</sup>流速与Z011差异明显。200 mmol·L<sup>-1</sup>



A1,B1,C1: 分别为对照组根尖分生区、伸长区和成熟区的H<sup>+</sup>流变化 Change of H<sup>+</sup> flow of meristem zone, elongation zone and mature zone of root tip in the control group, respectively; A2,B2,C2: 分别为200 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理组根尖分生区、伸长区和成熟区的H<sup>+</sup>流变化 Change of H<sup>+</sup> flow of meristem zone, elongation zone and mature zone of root tip in 200 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl treatment group, respectively.

图2 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草3个根区H<sup>+</sup>流的变化  
Fig. 2 Changes of H<sup>+</sup> flow of three root zones of *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress

表2 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草3个根区的平均H<sup>+</sup>流速( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>Table 2 Averages of H<sup>+</sup> flux of three root zones of *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

材料 Material	分生区平均H <sup>+</sup> 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) Average of H <sup>+</sup> flux in meristem zone		伸长区平均H <sup>+</sup> 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) Average of H <sup>+</sup> flux in elongation zone		成熟区平均H <sup>+</sup> 流速/( $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) Average of H <sup>+</sup> flux in mature zone	
	CK	T	CK	T	CK	T
Z011	-3.57±1.06	-0.29±0.27	-3.28±1.30	-0.20±0.12	-2.30±1.03	-0.12±0.10
Z015	-1.34±1.36	-0.15±0.05	0.39±0.30	-0.04±0.06	0.24±0.18	-0.03±0.04
Z004	-0.58±0.56	-0.01±0.04	0.03±0.55	-0.03±0.01	-0.15±0.49	-0.05±0.04
Z103	-0.03±0.07	-0.01±0.03	0.12±0.09	-0.03±0.06	-0.45±0.20	-0.07±0.03

<sup>1)</sup> CK: 对照组 The control group; T: 200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 处理组 Treatment group of 200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl.

NaCl 处理组,耐盐结缕草 Z011 3 个根区 H<sup>+</sup> 内流均明显减弱,其他 3 个材料 3 个根区 H<sup>+</sup> 的内流或外排也有不同程度的减弱,但差异不明显(图 2-A2, B2, C2);耐盐结缕草 Z011 3 个根区平均 H<sup>+</sup> 流速与对照组有明显差异,其他 3 个材料各根区平均 H<sup>+</sup> 流速与对照组无明显差异,且耐盐结缕草 Z011 和 Z015 3 个根区平均 H<sup>+</sup> 流速与敏盐结缕草 Z004 和 Z103 无明显差异。由此推断,耐盐结缕草 Z011 与其他 3 个材料可能具有不同的 H<sup>+</sup> 调控机制,但耐盐材料与敏盐材料在 H<sup>+</sup> 调控方面没有规律性差异。

### 2.3 NaCl 胁迫下不同耐盐型结缕草根系不同组织中 Ca<sup>2+</sup> 分布

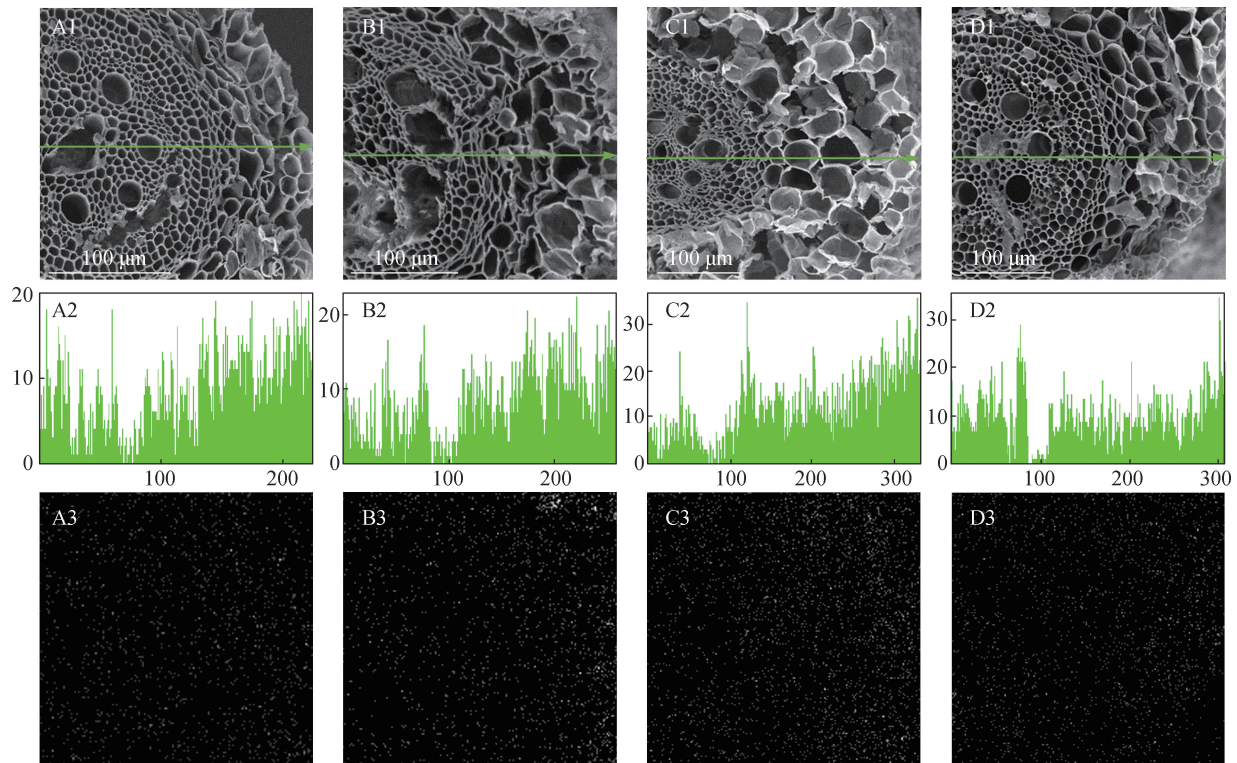
为了进一步了解不同耐盐型结缕草根系是否对 Ca<sup>2+</sup> 存在区隔作用,从点、线和面 3 个层次对 NaCl 胁迫下根系表皮、皮层和中柱中 Ca<sup>2+</sup> 的分布情况进行测定,点扫描结果见表 3,线和面扫描结果见图 3。

点扫描结果显示:总体上看,与对照(处理 0 d)相比,200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 处理后 4 个结缕草材料根系不同组织中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量显著( $P < 0.05$ )降低,且随着处理时间的延长表现为先降低再升高的趋势;与其他 3 个材料相比,敏盐结缕草 Z103 中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量较低,且在处理 20 d 时表皮和皮层中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量恢复到与对照无显著差异,中柱中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量显著高于对照。随着处理时间延长,耐盐结缕草 Z015 根系表皮中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量在处理 6 d 达最高值(14.75%),而其皮层和中柱以及耐盐结缕草 Z011 和敏盐结缕草 Z004 根系不同组织中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量在处理 20 d 较处理 1 和 6 d 略有升高。在处理 0 d,耐盐材料 Z015 根系不同组织中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量从表皮、皮层到中柱表现为逐渐升高的趋势,其他 3 个材料则表现为逐渐降低的趋势,根系皮层和中柱中 Ca<sup>2+</sup> 相对含量总体显著低于表皮,但在皮层和中柱间无显著差

表3 NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草根系表皮、皮层和中柱中Ca<sup>2+</sup>相对含量( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>Table 3 Relative contents of Ca<sup>2+</sup> in epidermis, cortex and stele of roots *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

处理时间/d Treatment time	Z011 不同组织中 Ca <sup>2+</sup> 相对含量/% Relative content of Ca <sup>2+</sup> in different tissues of Z011			Z015 不同组织中 Ca <sup>2+</sup> 相对含量/% Relative content of Ca <sup>2+</sup> in different tissues of Z015		
	表皮 Epidermis	皮层 Cortex	中柱 Stele	表皮 Epidermis	皮层 Cortex	中柱 Stele
0	20.95±0.55aA	16.50±1.41aB	13.26±1.33aB	15.95±1.09aB	18.81±1.10aAB	20.73±1.93aA
1	3.11±0.49bA	1.75±0.09bB	0.18±0.05cC	4.90±0.45bA	2.24±0.90bB	1.95±0.35bB
6	3.12±0.77bA	1.23±0.51bB	0.20±0.05cB	14.75±1.87aA	1.03±0.13bB	0.17±0.02bB
20	3.82±0.44bA	3.89±0.91bA	4.47±0.54bA	7.13±1.14bA	3.34±0.61bB	3.26±0.87bB
处理时间/d Treatment time	Z004 不同组织中 Ca <sup>2+</sup> 相对含量/% Relative content of Ca <sup>2+</sup> in different tissues of Z004			Z103 不同组织中 Ca <sup>2+</sup> 相对含量/% Relative content of Ca <sup>2+</sup> in different tissues of Z103		
	表皮 Epidermis	皮层 Cortex	中柱 Stele	表皮 Epidermis	皮层 Cortex	中柱 Stele
0	24.03±1.62aA	14.37±1.25aB	13.42±1.35aB	5.15±0.71aA	4.37±0.78aAB	2.50±0.43bB
1	4.68±1.07cA	3.31±0.54bcAB	2.02±0.36cB	2.69±0.44bA	2.00±0.28bA	1.58±0.43bA
6	2.67±1.20cA	1.52±0.48cA	0.57±0.25cA	3.27±0.60bA	1.65±0.24bB	0.45±0.03bC
20	11.07±0.96bA	5.21±0.54bB	7.15±1.22bB	5.15±0.57aA	5.46±0.56aA	7.71±1.34aA

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示同一组织不同处理时间间差异显著( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference in the same tissue among different treatment times; 同行中不同大写字母表示同一处理时间不同组织间差异显著( $P < 0.05$ ) Different uppercases in the same row indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference among different tissues at the same treatment time.



A,B,C,D: 分别为 Z011、Z015、Z004 和 Z103 的根系 Roots of Z011, Z015, Z004 and Z103, respectively. 1: 根系横切面(箭头表示线扫描路径) Transection of root (arrow represents the line scanning path); 2: 根系横切面线扫描图,  $y$  轴表示探测器接收和处理的 X 射线数量(主要代表根细胞表面元素的强度),  $x$  轴表示对应上述箭头的扫描位置 Line scanning picture of transection of root,  $y$ -axis indicates the number of X-rays received and processed by the detector (mainly representing the strength of element on the surface of root cell), and  $x$ -axis indicates the scanning location corresponding to the arrow above ( $\mu\text{m}$ ); 3: 根系横切面扫描图, 越亮的区域说明  $\text{Ca}^{2+}$  含量越高 Plane scanning picture of transection of root, and the brighter the area, the higher  $\text{Ca}^{2+}$  content.

图3 NaCl胁迫6 d不同耐盐型结缕草根系横切面  $\text{Ca}^{2+}$ 的线和面分布

Fig. 3 Line and plane distribution of  $\text{Ca}^{2+}$  in transection of roots of *Zoysia japonica* Steud. with different salt tolerances under NaCl stress for 6 d

异;经  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理 1 和 6 d, 4 个材料根系不同组织中  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量从表皮、皮层到中柱均表现为逐渐降低的趋势, 根系皮层和中柱中  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量总体显著低于表皮, 但在皮层和中柱间总体无显著差异; 在处理 20 d, 不同材料根系表皮、皮层和中柱中  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量的变化趋势存在差异, 但在皮层和中柱间无显著差异。在对照和 NaCl 胁迫下, 4 个结缕草材料不同组织中  $\text{Ca}^{2+}$  相对含量未表现出与耐盐性有关的规律变化。

线和面扫描结果显示:  $\text{Ca}^{2+}$  在结缕草根系表皮、皮层和中柱中的分布无明显差异, 表明结缕草根系对  $\text{Ca}^{2+}$  没有区隔作用或区隔不明显。

### 3 讨论和结论

植物叶片中  $\text{Ca}^{2+}$  以果胶酸钙形式组成细胞壁的

胞间层, 对细胞壁和细胞膜的形成、细胞壁木质化、细胞壁的弹性等均有重要影响, 对保持植物细胞膜的完整性和选择性也具有重要作用<sup>[11]</sup>。研究发现, 胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平作为植物信号传导中的第二信使, 与脱落酸 (ABA) 和活性氧物质 (ROS) 等一起参与植物抗逆性的信号传递和表达, 与植物的耐盐性能力有重要关联<sup>[12]</sup>。高盐环境下, 植物最先感受到胁迫的部位是根系, 而不同根系区域的离子交换存在空间变异性, 即根系离子流在不同结构区域的变化较大; 如木本植物沙枣 (*Elaeagnus angustifolia* Linn.)<sup>[13]</sup>、胡杨 (*Populus euphratica* Oliv.) 和群众杨 (*Populus popularis* Chon-Lin)<sup>[14]</sup> 根尖分生区的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{H}^+$  流速显著高于成熟区; 盐胁迫下大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] 根尖分生区的  $\text{H}^+$  流速也显著高于其他区域<sup>[15]</sup>; 而甘蓝型油菜 (*Brassica napus* Linn.) 根尖伸长区的  $\text{Ca}^{2+}$  流速最高, 成熟区最低<sup>[16]</sup>; 农作物大麦 (*Hordeum*

*vulgare* Linn.)<sup>[17,18]</sup> 和小麦 (*Triticum aestivum* Linn.)<sup>[19]</sup> 根尖成熟区的  $K^+$  外排速率显著高于其他区域。由此可见,在盐胁迫下不同植物根系不同区域的离子流变化存在较大差异。

### 3.1 结缕草不同根区的 $Ca^{2+}$ 流变化

盐胁迫下,植物根系会吸收过多的  $Na^+$ ,而高浓度  $Na^+$  会引起细胞内  $K^+$  亏缺和  $K^+/Na^+$  失衡<sup>[20,21]</sup>,导致细胞膜的结构和功能发生改变,同时也会破坏细胞内的  $Ca^{2+}$  平衡。 $Na^+$  和  $Ca^{2+}$  具有相似的离子半径,因而细胞质和质外体中高浓度的  $Na^+$  会将质膜、液泡膜和叶绿体膜等细胞膜上的  $Ca^{2+}$  置换下来,破坏膜的结构,导致膜选择透性丧失,甚至发生细胞解体死亡<sup>[22]</sup>。并且,由于膜选择透性的丧失,细胞内离子的种类和浓度会发生变化,核酸和蛋白质的合成和分解也会受到破坏,继而影响植物的生长和发育。有研究表明:盐诱导的  $Ca^{2+}$  可能来源于细胞壁<sup>[23,24]</sup> 或被一些活跃的质膜  $Ca^{2+}$  外排系统介导,而  $Ca^{2+}$  可以帮助植物改变在盐胁迫下的  $K^+/Na^+$  比值,调节体内离子稳态<sup>[25]</sup>。本研究中,NaCl 胁迫前供试 4 个结缕草材料 3 个根区(分生区、伸长区和成熟区)的  $Ca^{2+}$  均以外排为主,NaCl 胁迫后 3 个根区的  $Ca^{2+}$  均变为内流或外排减弱。此外,NaCl 胁迫前 4 个结缕草材料根尖分生区的  $Ca^{2+}$  外排最活跃,伸长区和成熟区则较平缓,分生区的平均  $Ca^{2+}$  流速约为伸长区和成熟区的 10 倍;NaCl 胁迫后 3 个根区的平均  $Ca^{2+}$  流速大致相同,但 NaCl 胁迫前后  $Ca^{2+}$  流变化最大的区域为分生区,因此确定分生区为结缕草根系  $Ca^{2+}$  流最佳测定区域,也是  $Ca^{2+}$  参与 NaCl 胁迫下离子平衡的关键调控区域。这与拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.]<sup>[26]</sup> 和沙枣 (*Elaeagnus angustifolia* Linn.)<sup>[13]</sup> 的相关研究结果一致。

本研究结果显示:在 NaCl 胁迫前,不同结缕草材料间的平均  $Ca^{2+}$  流速在伸长区和成熟区无明显差异,但耐盐结缕草在分生区的平均  $Ca^{2+}$  流速( $Ca^{2+}$  外排量)明显高于敏盐结缕草;而 NaCl 胁迫后,耐盐结缕草的平均  $Ca^{2+}$  流速与敏盐结缕草在 3 个根区无明显差异。因此,在 NaCl 胁迫下,耐盐结缕草较敏盐结缕草有更多的  $Ca^{2+}$  内流参与离子调控。同时(或非常短的时间)激活  $Ca^{2+}$  外排和  $Ca^{2+}$  内流系统可能会形成胞质  $Ca^{2+}$  信号,赋予应激信号的特异性<sup>[27-30]</sup>。例如:氧化应激也通过大量  $Ca^{2+}$  转运系统影响  $Ca^{2+}$  稳态<sup>[31-33]</sup>。

### 3.2 结缕草不同根区的 $H^+$ 流变化

$H^+$  是质膜上多种离子交换通道的离子交换物质,对维持质膜内正外负的膜电位有重要作用。稳定的  $H^+$  泵送是维持植物最佳生长的关键<sup>[34]</sup>。张瑞鑫等<sup>[35]</sup> 发现,拟南芥中跨质膜  $H^+$  流是识别里那醇刺激和启动抗虫防御反应的初始信号。并且,通过诱导质膜  $Na^+/H^+$  逆向转运蛋白表达,可提高一些物种耐盐性<sup>[36]</sup>。在 NaCl 胁迫下,NaCl 诱导了质膜和液泡  $H^+$ -ATPase 的激活,这些酶在盐生植物和非盐生植物中均需恢复去极化<sup>[37,38]</sup>。本文中,NaCl 胁迫前,耐盐结缕草 Z011 在 3 个根区的  $H^+$  均为内流,而其他 3 个材料在 3 个根区的  $H^+$  为微弱内流或外排,且与 Z011 差异明显;NaCl 胁迫后,Z011 在 3 个根区  $H^+$  内流均明显减弱,其他 3 个材料在 3 个根区的内流或外排也减弱,但差异不明显。这可能是 NaCl 胁迫触发结缕草根系细胞产生  $H^+$  外排,对细胞质膜系统上多种离子通道和离子泵的活性产生了影响,从而启动下游相关信号系统,使  $H^+$  内流减弱。

本研究结果显示:NaCl 胁迫后,耐盐结缕草与敏盐结缕草在 3 个根区的平均  $H^+$  流速无明显差异。Z011 与 Z015 同为耐盐结缕草,其在 NaCl 胁迫前后的  $Na^+$  和  $K^+$  相对含量变化、离子分布和离子流均大致相同(未发表数据),但 Z015 3 个根区的平均  $H^+$  流速与 Z011 却差异明显。这可能是由于这 2 个材料虽然都具有极强的耐盐性,但不同材料具有不同的  $H^+$  调控机制;且 NaCl 胁迫前 Z011  $H^+$  内流明显可能与其他抗性机制或特性有关,关于 Z011 的  $H^+$  调控机制有待进一步的深入研究。

### 3.3 结缕草根系横切面的 $Ca^{2+}$ 分布

众所周知,盐胁迫主要是由细胞内  $Na^+$  引起的,高浓度的  $Na^+$  会导致植物细胞膜和蛋白结构破坏,并对其基本生理过程如细胞的分裂和体积增加、光合作用、新陈代谢以及矿质营养的平衡等产生消极影响<sup>[39,40]</sup>。大量研究发现,盐胁迫下植物体内的  $Ca^{2+}$  含量会降低,而在适度盐处理下,盐地碱蓬 [*Suaeda salsa* (Linn.) Pall.]<sup>[41]</sup>、海马齿 [*Sesuvium portulacastrum* (Linn.) Linn.]<sup>[42]</sup> 和鹅耳枥 (*Carpinus turczaninowii* Hance)<sup>[43]</sup> 等植物在增加对  $Na^+$  吸收的同时,没有影响甚至增加了对  $Ca^{2+}$  的吸收和运输。本研究结果显示:经  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理后,耐盐结缕草和敏盐结缕草不同组织中  $Ca^{2+}$  相对含量均显著降低,这与大豆<sup>[44]</sup> 和橄榄 [*Canarium album* (Lour.) Rauesch.]<sup>[45]</sup>



的研究结果一致,也进一步验证了 Ca<sup>2+</sup>流的测定结果,NaCl胁迫24 h后,供试材料根系中 Ca<sup>2+</sup>相对含量降低,根系 Ca<sup>2+</sup>流由外排变为内流。

Peng等<sup>[46]</sup>对禾本科盐生植物碱茅〔*Puccinellia distans* (Linn.) Parl.〕的研究发现,其根系可以通过物理障碍凯氏带减少对 Na<sup>+</sup>的吸收,从而减少叶片对 Na<sup>+</sup>的积累并维持 K<sup>+</sup>平衡。在陆地棉(*Gossypium hirsutum* Linn.)中也发现盐胁迫可以加速其幼苗凯氏带的形成,进而提高幼苗对盐胁迫环境的适应<sup>[47]</sup>。结缕草根系具有明显的离子区隔能力,特别是耐盐结缕草能将 Na<sup>+</sup>区隔在中柱以外并将 K<sup>+</sup>区隔在中柱以内,防止高浓度 Na<sup>+</sup>进入根系产生毒害并防止 K<sup>+</sup>流失以维持体内 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>平衡(未发表数据),由此推测结缕草根系存在类似于凯氏带的结构,能够对 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>产生区隔作用。而本研究中,较短时间(1和6 d)的 NaCl胁迫,4个结缕草材料不同组织中 Ca<sup>2+</sup>相对含量从表皮、皮层到中柱均表现为逐渐降低的趋势,在处理20 d,不同材料根系表皮、皮层和中柱间的 Ca<sup>2+</sup>相对含量存在差异,但4个结缕草材料的 Ca<sup>2+</sup>分布均没有表现出明显区隔,说明结缕草根系对 Ca<sup>2+</sup>并无显著区隔作用。Choi等<sup>[48]</sup>对拟南芥的研究发现,盐胁迫诱导了 Ca<sup>2+</sup>快速且长距离的从根系运输到茎,而本研究对结缕草 Ca<sup>2+</sup>流的测定结果显示在 NaCl胁迫下 Ca<sup>2+</sup>由外排变为内流,同时能谱测定结果也显示结缕草根系对 Ca<sup>2+</sup>无明显区隔作用,这2个方面均说明结缕草在 NaCl胁迫下有助于 Ca<sup>2+</sup>的吸收和运输。

综上所述,NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草的 Ca<sup>2+</sup>由外排变为内流或外排减弱,耐盐结缕草较敏盐结缕草有更强的 Ca<sup>2+</sup>调控能力,分生区为 Ca<sup>2+</sup>参与 NaCl胁迫下离子平衡的关键调控区域;结缕草根系对 Ca<sup>2+</sup>没有区隔作用或区隔不明显。NaCl胁迫下不同耐盐型结缕草的平均 H<sup>+</sup>流速均减小,但没有表现出与耐盐性相关的 H<sup>+</sup>调控机制,而耐盐结缕草 Z011在对照条件下 H<sup>+</sup>内流显著高于其他3个材料,可能具有不同于其他3个材料的 H<sup>+</sup>调控机制。

#### 参考文献:

[1] 赵可夫,李法曾,樊守金,等. 中国的盐生植物[J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 201-207.

[2] 辛建华. 钙素对马铃薯生长发育、光合作用及物质代谢影响的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学园艺学院, 2008: 7-17.

[3] 朱晓军,杨劲松,梁永超,等. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(10):

1497-1503.

[4] 黄萍,张富春,王瑜,等. 跨膜离子转运蛋白与植物耐盐的分子生物学[J]. 生物技术通报, 2007(2): 1-5.

[5] HETHERINGTON A M, BROWNLEE C. The generation of Ca<sup>2+</sup> signals in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55: 401-427.

[6] MAFFEI M E, MITHÖFER A, BOLAND W. Before gene expression: early events in plant-insect interaction[J]. Trends in Plant Science, 2007, 12(7): 310-316.

[7] 王宝山,赵可夫. NaCl胁迫下玉米黄化苗质外体和共质体 Na、Ca浓度的变化[J]. 作物学报, 1997, 23(1): 27-33.

[8] 陈宣,郭海林,陈静波,等. 结缕草属植物两种耐盐评价方法的比较[J]. 草业科学, 2014, 31(6): 1052-1057.

[9] NEWMAN I A. Ion transport in roots: measurement of fluxes using ion-selective microelectrodes to characterize transporter function[J]. Plant, Cell and Environment, 2001, 24: 1-14.

[10] PENG Z, HE S, SUN J, et al. Na<sup>+</sup> compartmentalization related to salinity stress tolerance in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 34548.

[11] 刘炳响,梁海永,李子敬,等. 不同盐碱条件下白榆器官中 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>分布特征[J]. 西北林学院学报, 2008, 23(5): 7-11.

[12] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405-410.

[13] 刘正祥. 沙枣对氯化钠和硫酸钠胁迫差异性响应的生理机制[D]. 北京: 中国林业科学研究院林业研究所, 2013: 98-120.

[14] SUN J, CHEN S L, DAI S X, et al. Ion flux profiles and plant ion homeostasis control under salt stress[J]. Plant Signaling and Behavior, 2009, 4(4): 261-264.

[15] 姜静涵. 大豆苗期耐盐机理研究及耐盐基因定位[D]. 北京: 中国农业科学院作物科学研究所, 2013: 25-33.

[16] CHAKRABORTY K, BOSE J, SHABALA L, et al. Difference in root K<sup>+</sup> retention ability and reduced sensitivity of K<sup>+</sup>-permeable channels to reactive oxygen species confer differential salt tolerance in three *Brassica* species[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(15): 4611-4625.

[17] CHEN Z, ZHOU M, NEWMAN I A, et al. Potassium and sodium relations in salinised barley tissues as a basis of differential salt tolerance[J]. Functional Plant Biology, 2007, 34: 150-162.

[18] CHEN Z, NEWMAN I, ZHOU M, et al. Screening plants for salt tolerance by measuring K<sup>+</sup> flux: a case study for barley[J]. Plant, Cell and Environment, 2005, 28: 1230-1246.

[19] CUIN T A, BETTS S A, CHALMANDRIER R, et al. A root's ability to retain K<sup>+</sup> correlates with salt tolerance in wheat[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(10): 2697-2706.

[20] LEIDI E O, BARRAGÁN V, RUBIO L, et al. The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato[J]. The Plant Journal, 2010, 61: 495-506.

[21] ALEMÁN F, NIEVES-CORDONES M, MARTÍNEZ V, et al. Root K<sup>+</sup> acquisition in plants: the *Arabidopsis thaliana* model[J]. Plant

- and Cell Physiology, 2011, 52(9): 1603–1612.
- [22] CRAMER G R, LÄUCHLI A, POLITO V S. Displacement of  $\text{Ca}^{2+}$  by  $\text{Na}^+$  from the plasmalemma of root cells: a primary response to salt stress? [J]. Plant Physiology, 1985, 79(1): 207–211.
- [23] ARIF I, NEWMAN I A, KEENLYSIDE N. Proton flux measurements from tissues in buffered solution[J]. Plant, Cell and Environment, 1995, 18: 1319–1324.
- [24] SHABALA S, NEWMAN I. Salinity effects on the activity of plasma membrane  $\text{H}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  transporters in bean leaf mesophyll: masking role of the cell wall [J]. Annals of Botany, 2000, 85: 681–686.
- [25] LIU J, ZHU J K. An *Arabidopsis* mutant that requires increased calcium for potassium nutrition and salt tolerance [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(26): 14960–14964.
- [26] LI Q, LI B H, KRONZUCKER H J, et al. Root growth inhibition by  $\text{NH}_4^+$  in *Arabidopsis* is mediated by the root tip and is linked to  $\text{NH}_4^+$  efflux and GMPase activity [J]. Plant, Cell and Environment, 2010, 33: 1529–1542.
- [27] DEMIDCHIK V, DAVENPORT R J, TESTER M. Nonselective cation channels in plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 67–107.
- [28] DEMIDCHIK V, MAATHUIS F J M. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development [J]. New Phytologist, 2007, 175: 387–404.
- [29] KNIGHT H, KNIGHT M R. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(6): 262–267.
- [30] LUDWIG A A, ROMEIS T, JONES J D G. CDPK-mediated signalling pathways: specificity and cross-talk [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(395): 181–188.
- [31] DEMIDCHIK V, SHABALA S N, COUTTS K B, et al. Free oxygen radicals regulate plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ - and  $\text{K}^+$ -permeable channels in plant root cells [J]. Journal of Cell Science, 2003, 116(1): 81–88.
- [32] DEMIDCHIK V, CUIN T A, SVISTUNENKO D, et al. *Arabidopsis* root  $\text{K}^+$ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death [J]. Journal of Cell Science, 2010, 123(9): 1468–1479.
- [33] ZEPEDA-JAZO I, VELARDE-BUENDÍA A M, ENRÍQUEZ-FIGUEROA R, et al. Polyamines interact with hydroxyl radicals in activating  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{K}^+$  transport across the root epidermal plasma membranes [J]. Plant Physiology, 2011, 157(4): 2167–2180.
- [34] SZE H, LI X, PALMGREN M G. Energization of plant cell membranes by  $\text{H}^+$ -pumping ATPases: regulation and biosynthesis [J]. The Plant Cell, 1999, 11: 677–689.
- [35] 张瑞鑫, 高海波, 闫素丽, 等. 跨膜  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^+$  离子流参与里那醇诱导的拟南芥中抗虫防御反应 [J]. 植物生理学报, 2014, 50(4): 471–476.
- [36] ZHU J K. Plant salt tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 66–71.
- [37] YANG Y, XU S, AN L, et al. NADPH oxidase-dependent hydrogen peroxide production, induced by salinity stress, may be involved in the regulation of total calcium in roots of wheat [J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164: 1429–1435.
- [38] BOSE J, RODRIGO-MORENO A, LAI D, et al. Rapid regulation of the plasma membrane  $\text{H}^+$ -ATPase activity is essential to salinity tolerance in two halophyte species, *Atriplex lentiformis* and *Chenopodium quinoa* [J]. Annals of Botany, 2015, 115: 481–494.
- [39] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651–681.
- [40] TEAKLE N L, TYERMAN S D. Mechanisms of  $\text{Cl}^-$  transport contributing to salt tolerance [J]. Plant, Cell and Environment, 2010, 33: 566–589.
- [41] 张海燕. 盐胁迫下盐地碱蓬体内无机离子含量分布特点的研究 [J]. 西北植物学报, 2002, 22(1): 129–135.
- [42] 杨成龙, 段瑞军, 李瑞梅, 等. 盐生植物海马齿耐盐的生理特性 [J]. 生态学报, 2010, 30(17): 4617–4627.
- [43] 周琦, 祝遵凌. NaCl 胁迫对 2 种鹅耳枥幼苗生长及离子吸收、分配与运输的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(12): 7–16.
- [44] ESSA T A. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2002, 188(2): 86–93.
- [45] LOUPASSAKI M H, CHARTZOULAKIS K S, DIGALAKI N B, et al. The concentration of mineral elements in the leaves, stems and roots of six olive cultivars under saline and normal irrigation regimes [J]. Acta Horticulturae, 2002, 586: 411–414.
- [46] PENG Y H, ZHU Y F, MAO Y Q, et al. Alkali grass resists salt stress through high  $[\text{K}^+]$  and an endodermis barrier to  $\text{Na}^+$  [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(398): 939–949.
- [47] REINHARDT D H, ROST T L. Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots [J]. Environmental and Experimental Botany, 1995, 35(4): 563–574.
- [48] CHOI W G, TOYOTA M, KIM S H, et al. Salt stress-induced  $\text{Ca}^{2+}$  waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(17): 6497–6502.

(责任编辑: 郭严冬)