

盐胁迫下棉花 K^+ 和 Na^+ 离子转运的耐盐性生理机制

王宁, 杨杰, 黄群, 苏桂兰, 周红, 许庆华, 董合林, 严根土*

(中国农业科学院棉花研究所 / 棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000)

摘要: 为了探究棉花的耐盐机制, 以中棉所 49、中棉所 35 和中 51504 为材料, 研究了盐胁迫对棉花幼苗的生长及 K^+/Na^+ 平衡生理的影响。结果表明, $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理对幼苗的生长具有明显抑制作用, 降低了叶片的光合速率(P_n)、PS 实际光量子产额(Φ_{PSII})和电子传递速率(ETR), 增加了非光化学荧光猝灭系数(qN)。与中棉所 49 和中棉所 35 相比, 中 51504 的干物质累积受盐胁迫影响最小, 且保持较高的 P_n 、 Φ_{PSII} 、ETR 和 qN 值及较低的 ETR/ P_n 值。盐胁迫提高了棉花组织中 Na^+ 的浓度, 降低了 K^+ 的浓度; 但中 51504 组织中保持了相对较低的 Na^+ 浓度和较高的 K^+ 浓度, 维持了较高的 K^+/Na^+ 比; 通过非损伤微测技术(NMT)测定的离子流结果也表明, 中 51504 的根系对 Na^+ 有较强的外排能力, 而对 K^+ 有较强的保留和向地上部转运能力。能够有效地调节 Na^+ 和 K^+ 的跨膜转运进而维持 K^+/Na^+ 平衡是棉花耐盐的重要生理机制之一。

关键词: 棉花; 盐胁迫; 耐盐性; 离子流; Na^+/K^+ 离子动态

中图分类号: S562.01 **文献标志码:** A

文章编号: 1002-7807(2015)03-0208-08 **DOI:** 10.11963/issn.1002-7807.201503003

Physiological Salinity Tolerance Mechanism for Transport of K^+ and Na^+ Ions in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Seedlings under Salt Stress

Wang Ning, Yang Jie, Huang Qun, Su Guilin, Zhou Hong, Xu Qinghua, Dong Helin, Yan Gentu*

(State Key Laboratory of Cotton Biology/ Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455000, China)

Abstract: Salinity stress is one of the major abiotic factors affecting the growth and productivity of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). To further understand the possible mechanism of salt tolerance, an experiment was conducted to investigate the effect of salt stress on growth and K^+/Na^+ homeostasis of cotton seedlings using three cultivars (CCRI 49, CCRI 35 and Zhong 51504). We found that $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl treatment significantly decreased biomass accumulation, photosynthesis rate(P_n), photochemical quenching(qP), photochemical quantum yield of photosystem (Φ_{PSII}) and electron transport rate(ETR), but significantly increased non-photochemical quenching coefficients (qN) in PSII. The biomass accumulation of Zhong 51504 was less affected by salt stress than CCRI 49 or CCRI 35, and Zhong 51504 also retained higher P_n , Φ_{PSII} , ETR and qN but lower ETR/ P_n under saline conditions. Compared with the control, the salinity treatment caused a significant rise in Na^+ concentration and decreased K^+ concentration. The limited negative impact in Zhong 51504 derived from the lower content of Na^+ and higher K^+ in the tissues under salt stress. As expected, Zhong 51504 also retained a higher Na^+/K^+ ratio than other cultivars under salt treatment. Experiments of salt shock and long exposure to salt tested by the non-invasive ion flux measuring technique also revealed that Zhong 51504 not only had higher Na^+ exclusion but also showed better K^+ retention. Our results indicated that maintaining the K^+/Na^+ homeostasis can contribute to genotypic differences in salinity tolerance under conditions of high salinity.

Keywords: cotton; salt stress; salt tolerance; ion flux; K^+/Na^+ homeostasis

土壤盐渍化是影响植物生产最主要的非生物胁迫之一, 目前全世界不同类型盐碱土地面积约 $8 \times 10^8 \text{ hm}^2$, 约占地球陆地总面积的 6%, 约占农业耕地面积的 20%^[1]。而在中国大约有 9.2×10^7

收稿日期: 2014-09-04

作者简介: 王宁(1983-), 男, 博士, wangning_4306202@aliyun.com; * 通信作者, yangentu@163.com

基金项目: 河南省现代农业产业技术体系项目 (S2013-07-1); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (1610162014002)

hm² 的盐碱地,约占总耕地面积的 6.6%,并且面积还在不断扩大,严重威胁着我国农业生产与发展^[2]。如何利用和开发我国上亿亩盐渍化土壤,已成为我国农业生产中十分迫切和重要的任务。抗盐性较强的农作物被认为是盐碱地开发及利用的重要作物,利用耐盐生物学特性发展盐碱地农业是缓解这一矛盾的有效途径。

植物耐盐性是一种综合性状的表现,不同植物的耐盐方式和机理也有所不同^[3]。据 Takahashi 等^[4]报道,许多植物能够忍耐土壤中高浓度的盐分,主要与植物自身在盐渍环境中可将 Na^+ 排到胞质外从而维持细胞质中较低的 Na^+ 含量有关。而 Wu 等^[5]研究发现,高盐环境下维持细胞中 K^+ 离子的吸收能力,是植物盐适应性的决定因素之一。植物的正常生长发育需要维持细胞内离子的相对平衡状态,盐分胁迫增加了细胞内 Na^+ 含量,同时高浓度的 Na^+ 会直接干扰和抑制细胞质膜对 K^+ 进行吸收^[6-7],因此植物获得耐盐能力的另一个重要策略是离子稳态的重建,保持细胞质内高 K^+ 低 Na^+ 的平衡状态是植物抵御盐害的重要手段^[8-10]。Shabala 等^[11]也报道,维持组织中较高的 K^+/Na^+ 比值比单纯维持较低的 Na^+ 含量更重要。

棉花是耐盐性较强的农作物,被认为是盐碱地开发利用的先锋作物,但其幼苗对盐分仍然比较敏感^[12-13],因此研究棉花在盐胁迫条件下的自我保护机制,是棉花育种中的重要环节之一。据报道,耐盐棉花品种根系具有一定的截留 Na^+ 作用^[14-15],而根部的 K^+ 向地上部选择性运输可维持叶片中较高的 K^+/Na^+ 比值^[13],这种选择性运输是棉花耐盐性的重要特点。据陈亚华等^[16]、辛承松等^[17]报道,不同耐盐性棉花品种间叶片 Na^+ 含量和 K^+/Na^+ 基本一致,未见不同品种间离子选择运输方面的显著差异。有关棉花的耐盐性,迄今国内外许多研究者已做了大量的研究和报道,然而由于所用材料和测定方法的差异所得结论也不尽一致。

目前,对棉花耐盐的机理尚存在着不同看法和争论,给棉花耐盐育种造成了一定的困难。为了进一步明确棉花耐盐性的生理机制,本研究以不同耐盐性的棉花幼苗为材料,研究盐胁迫对棉花幼苗生长、光合气体交换参数、叶绿素荧光

参数、 K^+ 和 Na^+ 离子含量的影响;同时,采用非损伤微测离子技术 (Non-invasive Micro-test Technique, NMT),分析了盐胁迫下棉花幼苗根系对 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 离子跨膜转运的动态变化,探究盐胁迫对幼苗离子平衡的影响,从离子平衡角度探究棉花抗盐性的内在机制,为培育耐盐棉花品种提供指导,并为制订盐碱地棉花耐盐品种的选育指标提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料培养

中棉所 49(CCRI 49)、中棉所 35(CCRI 35)和中 51504(Zhong 51504)由中国农业科学院棉花研究所培育并提供;实验于 2013 年在中国农业大学光照培养室内进行,光照培养室光照强度为 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照/黑暗时间为 14 h/10 h,昼夜温度分别为 $(30\pm 2)^\circ\text{C}$ 和 $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ 。种子用 9% 的双氧水消毒 30 min,清水漂洗数次后用去离子水浸种催芽直至露白,均匀播于用去离子水冲洗过的沙床。出苗 4 d 后转移至 K^+ 浓度为 $2.50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 1/2 改良 Hoagland 营养液中进行培养,24 h 通气一次,每 4 d 更换一次营养液^[18]。在营养液中培养到一叶期(移苗后 9 d)后进行盐胁迫处理,即每隔 6 h 在营养液中加入 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $NaCl$,直至营养液中 $NaCl$ 终浓度为 $150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对比排列,每处理重复 6 盒,实验重复 4 次以上。幼苗在最终的盐浓度下培养到四叶期(移苗后 18 d),测定棉花幼苗的光合效率、叶绿素荧光、干物质累积、离子含量等生理指标。对培养在含盐量为 0.2%(W/W) $NaCl$ 的沙床上(盐胁迫)和不含 $NaCl$ 的沙床上(对照)9 d 的子叶苗进行 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 离子流速的测定。

1.2 测定方法

光合气体交换参数测定:在晴天的 9:00—11:00 用 Li-6400(Li-COR, Lincoln, USA)光合仪测定幼苗主茎倒 4 叶的净光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r)、气孔导度(g_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)等光合气体交换参数,测定时光照强度设定为 $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 浓度为 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,叶室温度为 25°C 。

叶绿素荧光参数测定:参照文献^[19],用便携

式荧光仪 (PAM 2100, Walz, Effeltrich, Germany) 测定同一叶片的 PS 最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光量子效率(Φ_{PSII})、光化学荧光猝灭系数(qP)和非光化学荧光猝灭系数(qN)等叶绿素参数。光合电子传递速率 (ETR) 通过以下公式计算: $ETR = \Phi_{PSII} \times PAR \times 0.50 \times 0.84$, 其中 PAR 是光照培养室的光照强度($500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 0.50 代表光能在光系统间的分配系数, 0.84 指叶片表面的光能平均有 84% 被叶片吸收^[20]。

干物质质量及根冠比测定: 取出盆中待测植株, 用去离子水浸泡 10 min, 再用蒸馏水冲洗干净, 并用吸水纸吸去表面附着的水分。将幼苗根及地上部 (茎和叶) 分开, 分别于 105℃ 杀青 30 min 后, 80℃ 下烘直至恒重, 称其干物质质量。根冠比 = 根干物质质量 / 地上部干物质质量。

Na^+ 和 K^+ 含量测定: 将烘干后的植株粉碎过筛, 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 浸提 12 h, 振荡 30 min, 过滤, 用原子吸收分光光度计 (SpectAA-50/55, Varian, Australia) 测定 K^+ 和 Na^+ 浓度。

离子流测定: 在旭月 (北京) 科技有限公司采用非损伤微测技术 (BIO-001A, Younger USA Sci. & Tech. Corp., Amherst, MA, USA) 测定子叶苗根尖部位 (分生区, 距根尖 300 μm 处) 的 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 离子流速。用蒸馏水冲洗干净根系并在其中放置 15 min, 转入 10 mL 测试液 ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl、 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 、 $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MES、pH 6.0, 为避免引入 Na^+ 和 K^+ , 用低浓度 Tris 和 HCl 调节测试液 pH 值) 中平衡 10 min, 再转入新的 10 mL 测试液中开始测试。测试持续 7~10 min, 计算时舍弃前 2~3 min 的数据^[21]。瞬时盐处理离子

流测定: 记录 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 离子流 5~6 min (达到稳定状态) 之后, 加入一定体积的 NaCl 母液使测试液中 NaCl 最终浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 然后监测根尖离子流动态变化, 直至获得稳定的离子流速。离子流速数据分析根据旭月科技有限公司开发的 Mageflux 软件 (<http://xuyue.net/mageflux>) 进行计算。

1.3 数据统计

所有实验至少重复 3 次, 各次结果趋势一致, 取其中具有代表性的一次进行统计分析。采用 SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 处理数据, 以 Duncan's 多重比较进行差异显著性检验 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对棉花幼苗生长的影响

盐胁迫显著抑制了棉花地上部干物质积累, 但对根系干物质积累没有显著影响, 这就导致棉花幼苗根冠比增高 (表 1)。不同品种对盐胁迫的响应程度表现出明显差异, CCRI 49 和 CCRI 35 受盐胁迫影响较大, 干物质质量分别降低 39.6% 和 36.3%; 而 Zhong 51504 受盐胁迫影响较小, 干物质质量降低 30.1%。同时, Zhong 51504 的根冠比受盐胁迫影响也最小, 盐胁迫处理后根冠比显著低于 CCRI 49 和 CCRI 35。说明 Zhong 51504 的生长受盐胁迫的抑制程度最小。

2.2 盐胁迫对棉花幼苗光合气体交换参数和叶绿素荧光参数的影响

与对照相比, 盐胁迫显著降低了棉花叶片的光合气体交换参数, P_n 、 g_s 、 T_r 和 C_i 的平均值分别

表 1 NaCl 胁迫对不同品种棉花幼苗根干物质质量、地上部干物质质量及根冠比的影响

Table 1 Effects of NaCl on seedling dry weight of root, shoot and root/shoot ratio of different cotton cultivars

NaCl/(mmol·L ⁻¹)	品种 cultivar	根 Root/g	地上部 Shoot/g	根冠比 Root/shoot ratio
0	CCRI 49	0.236 a	1.281 b	0.185 d
	CCRI 35	0.264 a	1.321 ab	0.199 d
	Zhong 51504	0.256 a	1.381 a	0.185 d
150	CCRI 49	0.219 a	0.690 d	0.314 a
	CCRI 35	0.230 a	0.760 c	0.294 b
	Zhong 51504	0.228 a	0.917 b	0.245 c

注: 同一列数据后标以不同小写字母的值间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

Note: Values followed by different letters in vertical lines are significantly different at $P < 0.05$.

降低了 20.2%、28.1%、38.7% 和 8.1%(表 2)。不同品种间比较,在正常条件下三个品种的各项光合气体交换参数均无明显差别;但在盐胁迫条件下,Zhong 51504 表现出明显的优势,各项光合气体交换参数均显著高于 CCRI 35,而 CRI35 又显

著高于 CCRI 49。盐胁迫处理后 Zhong 51504 的 P_n 、 g_s 、 T_r 和 C_i 仅分别降低 6.1%、20.6%、29.2% 和 4.8%, 而 CCRI 35 各参数分别降低 16.3%、26.9%、38.7% 和 8.3%, CCRI 49 各参数分别降低 35.3%、42.3%、48.2% 和 10.9%。

表 2 NaCl 胁迫对不同棉花幼苗叶片光合气体交换参数的影响

Table 2 Effect of NaCl on photosynthesis gas exchange parameters in the leaf of different cotton cultivars

NaCl/(mmol·L ⁻¹)	品种 Cultivar	P_n /($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	g_s /($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	T_r /(mmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	C_i /($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)
0	CCRI 49	9.69 b	116.1 a	2.51 a	387.0 a
	CCRI 35	9.90 ab	111.4 a	2.61 a	392.5 a
	Zhong 51504	10.18 a	119.7 a	2.57 a	392.3 a
150	CCRI 49	6.27 d	67.0 d	1.30 d	344.8 d
	CCRI 35	8.29 c	81.4 c	1.60 c	360.0 c
	Zhong 51504	9.57 b	95.0 b	1.82 b	373.3 b

注:同一列数据后标以不同小写字母的值间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

Note: Values followed by different letters in vertical lines are significantly different at $P<0.05$.

进一步分析表明,盐胁迫显著降低了棉花叶片的实际光量子效率(Φ_{PSII})、光化学荧光猝灭系数(qP)和电子传递速率(ETR),提高了非光化学荧光猝灭系数(qN),但对 PS 最大光化学效率(F_v/F_m)无显著影响(表 3)。不同品种间比较,在正常条件下三个品种的各项参数均无明显差别;但在盐胁迫

条件下,Zhong 51504 和 CCRI 35 具有较高的 Φ_{PSII} 、 qP 、ETR 和较低的 ETR/ P_n 比值。说明 Zhong 51504 受盐处理影响最小,在盐胁迫条件下仍然能够保持较高的光合效率,耐盐性在三个品种中最强;其次为 CCRI 35;最差为 CCRI 49,受盐胁迫影响最大。

表 3 NaCl 胁迫对不同棉花幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 3 Effect of NaCl on chlorophyll a fluorescence parameters in the leaf of different cotton cultivars

NaCl/(mmol·L ⁻¹)	品种 Cultivar	F_v/F_m	Φ_{PSII}	qP	qN	ETR/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	ETR/ P_n
0	CCRI 49	0.799 a	0.712 a	0.969 a	0.222 c	149.5 a	15.24 c
	CCRI 35	0.798 a	0.712 a	0.962 a	0.214 c	149.4 a	15.09 c
	Zhong 51504	0.812 a	0.715 a	0.956 a	0.219 c	150.0 a	14.75 c
150	CCRI 49	0.791 a	0.651 c	0.907 c	0.282 a	136.6 c	21.78 a
	CCRI 35	0.794 a	0.697 b	0.949 b	0.233 b	143.9 b	17.65 b
	Zhong 51504	0.806 a	0.690 b	0.939 b	0.278 a	144.9 b	15.10 c

注:同一列数据后标以不同小写字母的值间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

Note: Values followed by different letters in vertical lines are significantly different at $P<0.05$.

2.3 盐胁迫对棉花幼苗根和地上部 Na⁺ 和 K⁺ 离子的影响

盐胁迫显著增加了根系和地上部 Na⁺ 的浓度,平均分别增加了 8.6 倍和 14.3 倍;降低了根系和地上部 K⁺ 浓度,平均分别降低了 42.2% 和 25.1%(表 4)。盐胁迫条件下不同品种间比较,Zhong 51504 根系中 K⁺ 和 Na⁺ 的浓度、地上部中 K⁺ 的浓度以及根系和地上部中 K⁺/Na⁺ 比值均最

高;而 CCRI 49 地上部中 Na⁺ 的浓度最高,K⁺/Na⁺ 比值最低。说明盐胁迫影响了棉花组织中 K⁺ 和 Na⁺ 的分配,而不同品种间表现出明显的差异。与 CCRI 35 和 CCRI 49 比较,Zhong 51504 根系对 Na⁺ 具有较强的截留能力,对 K⁺ 具有较强的转运能力,从而保持了其地上部低 Na⁺ 高 K⁺ 的环境,减轻了过多的 Na⁺ 对叶片等器官的毒害作用,使其功能得以正常发挥。

表 4 NaCl 胁迫对不同棉花幼苗的根和地上部离子浓度及 K^+/Na^+ 比值的影响Table 4 Effects of NaCl on ions concentration and K^+/Na^+ of root and shoot of different cotton cultivars

NaCl/ (mmol·L ⁻¹)	品种 Cultivar	Na ⁺ /(mg·g ⁻¹)		K ⁺ /(mg·g ⁻¹)		K ⁺ /Na ⁺	
		根 Root	地上部 Shoot	根 Root	地上部 Shoot	根 Root	地上部 Shoot
0	CCRI 49	1.88 c	1.87 e	67.90 b	53.65 b	36.12 a	28.69 b
	CCRI 35	2.70 b	2.28 d	67.66 b	52.80 b	25.06 c	23.16 c
	Zhong 51504	2.75 b	1.75 e	78.01 a	64.79 a	28.37 b	37.02 a
150	CCRI 49	22.90 a	32.69 a	40.57 d	40.92 d	1.80 d	1.28 f
	CCRI 35	23.15 a	27.86 c	37.25 e	37.75 e	1.61 e	1.36 e
	Zhong 51504	24.09 a	29.64 b	45.65 c	49.71 c	1.89 d	1.68 d

注:同一列数据后标以不同小写字母的值间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

Note: Values followed by different letters in vertical lines are significantly different at $P<0.05$.

2.4 盐胁迫对棉花子叶苗根尖部位离子流动态的影响

为了进一步明确盐胁迫对棉花幼苗离子吸收的影响,通过 NMT 测定瞬时及长时间盐处理条件下幼苗根中 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 离子的动态变化。如图 1 A 所示,瞬时盐处理导致幼苗根尖 Na^+ 的内流迅速增加,当根尖离子吸收动态达到平衡时,CCRI 49 的 Na^+ 内流速率最高,内流速率为 $4201 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; Zhong 51504 最低,为 $2582 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; CCRI 35 介于二者之间,为 $3062 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。同时,瞬时盐处理导致幼苗根尖中 K^+ 外流增加,但随着盐处理时间的延长 K^+ 外流逐渐减弱并最终趋于平衡的状态(图 1 B);然而 CCRI 49 根尖 K^+ 外流在达到平衡后仍显著高于 CCRI 35 和 Zhong 51504, K^+ 外流速率分别是 CCRI 35 和 Zhong 51504 的 2.3 倍和 3.5 倍。盐胁迫对不同品种根尖 H^+ 的跨膜转运作用不同,盐处理条件下,CCRI 35 和 Zhong 51504 根尖 H^+ 外流增强,而 CCRI 49 根尖 H^+ 内流增加(由 $8.81 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 增加到 $20.5 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)(图 1 C)。

正常条件下,棉花幼苗的分生区呈现轻微的 Na^+ 和 K^+ 外流,而长时间盐胁迫显著增加了 Na^+ 和 K^+ 外流(图 2 A, B)。在盐胁迫条件下,CCRI 49 的分生区 Na^+ 外流速率最低($445 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), CCRI 35 分生区 Na^+ 外流速率最高 ($1100 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$); CCRI 49、CCRI 35 和 Zhong 51504 的 K^+ 外流速率在盐胁迫下分别增加到 $146.9 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, $115.2 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and $88.2 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。与正常条件相比较,长时间盐胁迫显著

提高了 CCRI 49 的 H^+ 内流速率($9.31 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 增加到 $15.79 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$),但对 CCRI 35 和 Zhong 51504 的 H^+ 内流速率无显著影响(图 2 C)。

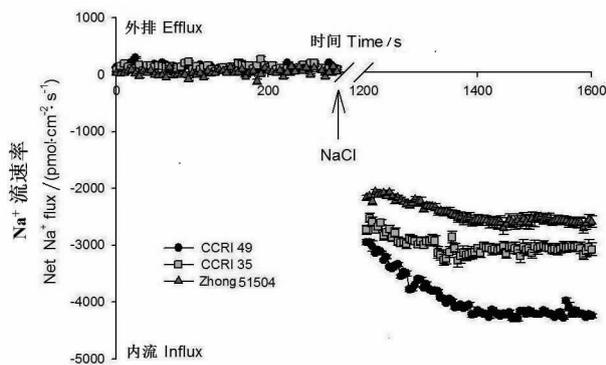
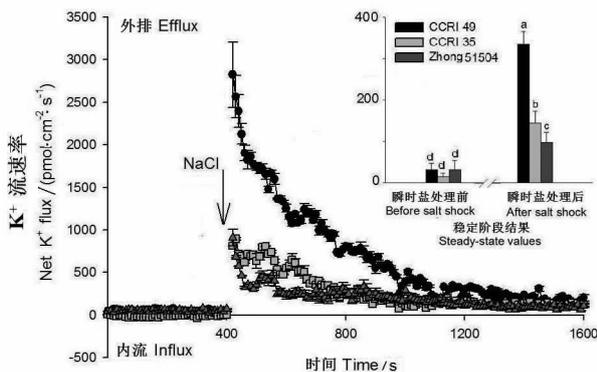
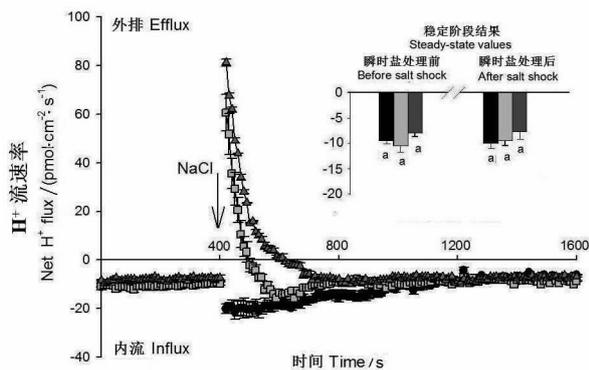
3 讨论

3.1 盐胁迫下品种间耐盐性的差异

盐胁迫会降低相关光合酶活性和破坏光系统结构,导致光合速率下降,抑制棉花幼苗的生长,其下降程度与植物的耐盐性有关^[14-15]。在本文中,CCRI 49 受盐胁迫影响最大,而 Zhong 51504 受盐胁迫影响最小,如干物质累积受盐胁迫影响最小(表 1),维持较高的光合气体交换参数(表 2)等。盐胁迫抑制了光合速率并非是由于损伤了 PS 反应中心,因为 NaCl 处理对 F_v/F_m 无显著影响(表 3),可能是由于降低了 PS 反应中心活力以及增加了热耗散所致^[22],如降低了 qP 、 Φ_{PSII} 和 ETR 值,增加了 qN 值(表 3)。然而,Zhong 51504 的 PS 反应中心受盐胁迫影响较小(较高的 qP 和 Φ_{PSII} 值),同时也增加了过量能量的耗散(qN),可以较多地利用能量从而使得 ETR/P_n 值处于较低的水平(表 3);而 CCRI 49 和 CCRI 35 的能量利用相对较小,使得 ETR/P_n 值显著增加(表 3),可能会产生过剩自由基引发或加剧膜脂过氧化,造成细胞膜系统的损伤^[23]。Wituszyńska 等^[24]和 Lima-Neto 等^[25]研究也发现,对过量能量的利用及消耗也是植物抗逆性的重要特征之一。

3.2 盐胁迫下品种间耐盐性的机理

组织中高水平的 K^+/Na^+ 是棉花耐盐能力的一个重要鉴定指标,盐胁迫下维持细胞质内

A) 瞬时盐处理 Na⁺ 流速率的变化A) Dynamics of Na⁺ fluxes kinetics after salt shockB) 瞬时盐处理 K⁺ 流速率的变化B) Dynamics of K⁺ fluxes kinetics after salt shockC) 瞬时盐处理 H⁺ 流速率的变化C) Dynamics of H⁺ fluxes kinetics after salt shock注:不同字母表示柱值在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。Note: Bars superscripted by different letters are significantly different at $P < 0.05$.图1 瞬时盐处理子叶苗(在沙床上培养9 d)根尖部位(分生区,距根尖 300 μm 处)的离子流的动态变化情况 ($n = 8$)Fig. 1 Effects of salt shock on fluxes kinetics in the meristematic zone (about 300 μm from the root tip) of cotton cotyledon seedlings which were germinated for 9 d in sand medium ($n = 8$)

K⁺/Na⁺ 平衡, 可以通过抑制 Na⁺ 在细胞质中的积累和 K⁺ 的流失来实现^[11]。Zhong 51504 在盐胁迫下 K⁺ 流失较弱且具有较强的 Na⁺ 外排(图 1 和图 2), 具有更强的协调 K⁺/Na⁺ 平衡能力, 这也与组织中较低 Na⁺ 累积和较高 K⁺ 含量的结果相一致(表 4)。与 Zhong 51504 相比, 盐胁迫下 CCRI 49 的 Na⁺ 外排能力较弱(图 1 A, 2 A)且 K⁺ 外流速率较高(图 2 B), 而 CCRI 35 虽具有较强 Na⁺ 的外排能力(图 2 A), 限制了 Na⁺ 的积累(表 4); 但盐胁迫也导致了 K⁺ 大量流失(图 1 B, 2 B), 因此导致了细胞内 K⁺/Na⁺ 失去平衡(表 4)。诸多的学者也报道, 限制 Na⁺ 的积累及 K⁺ 的外流可以增强植物的耐盐能力^[22, 26-27]。

在本实验中, 还发现瞬时盐胁迫迅速提高 Zhong 51504 和 CCRI 35 幼苗根顶端区域 H⁺ 的外流, 但增加了 CCRI 49 的 H⁺ 内流(图 1 C); 而长期盐胁迫增加 CCRI 49 的 H⁺ 内流, 对 Zhong 51504 和 CCRI 35 的 H⁺ 流速无影响(图 2 C)。这些结果暗示, 棉花的耐盐性可能与根细胞较弱的质子泵活性有关。据一些学者报道^[8, 27], 质膜 Na⁺ 外排及 K⁺ 吸收依赖于质膜 H⁺-ATPase 提供的 H⁺ 跨膜梯度, 根细胞具有较强的质子泵活性能维持 H⁺ 的电化学梯度以利于驱动 Na⁺ 外排和限制 K⁺ 的流失。Li 等^[28] 研究也发现, 质子泵活性高低也是决定植物耐盐性的关键因素之一。由此推测, 棉花幼苗根细胞质膜质子泵能够迅速响应盐胁迫, 提高质膜内外 H⁺ 浓度梯度, 从而驱动质膜的 Na⁺ 外排及降低 K⁺ 外流, 质子泵活力高低可能与耐盐性强弱密切相关, 但还需进一步的研究加以验证。

4 结论

NaCl 胁迫导致棉花体内 Na⁺ 含量增加及 K⁺ 含量降低, 影响叶片的生理功能, 抑制幼苗的生长; 盐胁迫下, 棉花品种 Zhong 51504 保持较低的 K⁺ 外流和较强的 Na⁺ 外流, 可以有效地维持细胞内 K⁺/Na⁺ 平衡, 增强幼苗的耐盐能力。这些结果深入认识了棉花耐盐性的机制, 对指导农作物的耐盐性及遗传改良提供了理论依据及良好的种质资源。

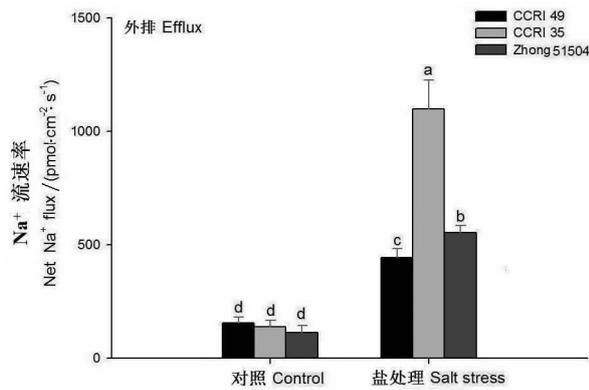
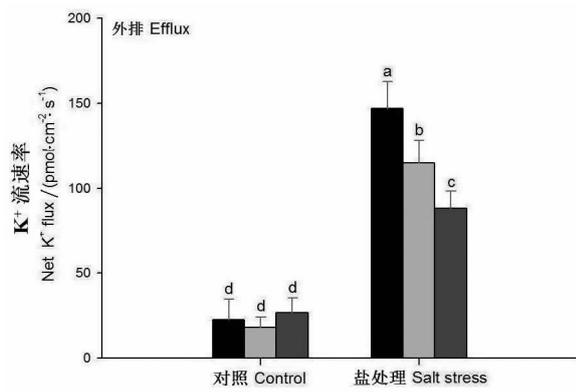
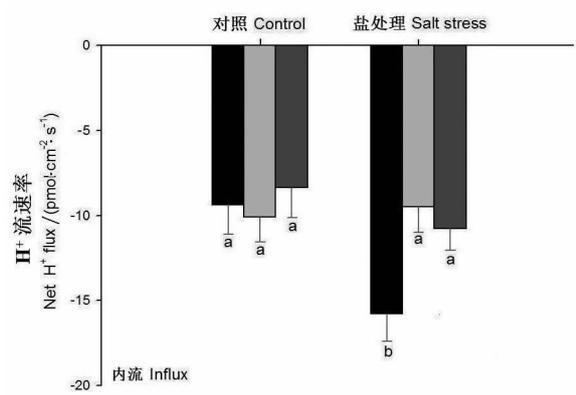
A) 长时间盐处理 Na⁺ 流速率的变化A) Dynamics of Na⁺ fluxes kinetics after long salt treatmentB) 长时间盐处理 K⁺ 流速率的变化B) Dynamics of K⁺ fluxes kinetics after long salt treatmentC) 长时间盐处理 H⁺ 流速率的变化C) Dynamics of H⁺ fluxes kinetics after long salt treatment标以不同字母的柱值在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。Bars superscripted by different letters are significantly different at $P < 0.05$.

图 2 在含有 0.2% NaCl(长期盐胁迫)和不含有 NaCl(对照)的沙床上培养的子叶苗(培养 9 d)根尖部位(分生区,距根尖 300 μm 处)的离子流的动态变化情况 ($n = 8$)

Fig. 2 Fluxes in the meristematic zone (about 300 μm from the root tip) of cotton seedling which were germinated in sand medium without (control) and with 0.2% (salt stress) NaCl for 9 days ($n = 8$)

参考文献:

- [1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual review of plant biology, 2008, 59: 651-681.
- [2] 杨劲松. 中国盐渍土研究的发展历程与展望[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 837-845.
Yang Jinsong. Development and prospect of the research on salt-affected soils in China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45: 837-845.
- [3] 肖雯, 贾恢先, 蒲陆梅. 几种盐生植物抗盐生理指标的研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(5): 818-825.
Xiao Wen, Jia Huixian, Pu Lumei. Studies on physiological index of some halophytes[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000, 20(5): 818-825.
- [4] Takahashi R, Nishio T, Ichizen N, et al. Cloning and functional analysis of the K⁺ transporter, *PhaHAK2*, from salt-sensitive and salt-tolerant reed plants[J]. Biotechnology Letters, 2007, 29: 501-506.
- [5] Wu Honghong, Shabala L, Barry K, et al. Ability of leaf mesophyll to retain potassium correlates with salinity tolerance in wheat and barley[J]. Physiologia Plantarum, 2013, 149: 515-527.
- [6] Zhu Jiankang. Regulation of ion homeostasis under salt stress[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6: 1-5.
- [7] Wang Ruigang, Chen Shaoliang, Zhou Xiaoyang, et al. Ionic homeostasis and reactive oxygen species control in leaves and xylem sap of two poplars subjected to NaCl stress[J]. Tree Physiology, 2008, 28: 947-957.
- [8] Sun Jian, Chen Shaoliang, Dai Songxiang, et al. NaCl-induced alternations of cellular and tissue ion fluxes in roots of salt-resistant and salt-sensitive poplar species[J]. Plant Physiology, 2009, 149: 41-53.
- [9] Ding Mingquan, Hou Peichen, Shen Xin, et al. Salt-induced expression of genes related to Na⁺/K⁺ and ROS homeostasis in leaves of salt-resistant and salt-sensitive poplar species[J]. Plant Molecular Biology, 2010, 73: 251-269.
- [10] Teaklea N L, Bazihizinaa N, Shabalac S, et al. Ion transport in halophytes[J]. Advances in Botanical Research, 2011, 57: 151-199.
- [11] Shabala S, Cui T A. Potassium transport and plant salt tolerance[J]. Physiologia Plantarum, 2008, 133: 651-669.
- [12] Leidi E O, Saiz J F. Is salinity tolerance related to Na⁺ accumulation in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings? [J]. Plant and Soil, 1997, 190: 67-75.
- [13] Ashraf M, Ahmad S. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fiber characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Field Crops Research, 2000, 66: 115-27.
- [14] Kong Xiangqiang, Luo Zhen, Dong Hezhong, et al. Effects of

- non-uniform root zone salinity on water use, Na⁺ recirculation, and Na⁺ and H⁺ flux in cotton[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(5): 2105-2116.
- [15] Li Maoying, Li Fangjun, Yue Yuesen, et al. NaCl-induced changes of ion fluxes in roots of transgenic *Bacillus thuringiensis*(Bt) cotton(*Gossypium hirsutum* L.)(J). Journal of Integrative Agriculture, 2013, 12(3): 436-444.
- [16] 陈亚华, 沈振国, 刘有良, 等. NaCl 胁迫对棉花幼苗的离子平衡[J]. 棉花学报, 2001, 13(4): 225-229.
Chen Yahua, Shen Zhen'guo, Liu Youliang, et al. Ion homeostasis in NaCl-stressed cotton[J]. Cotton Science, 2001, 13(4): 225-229.
- [17] 辛承松, 董合忠, 唐薇, 等. 棉花盐害与耐盐性的生理和分子机理研究进展[J]. 棉花学报, 2005, 17(5): 309-313.
Xin Chensong, Dong Hezhong, Tang Wei, et al. Physiological and molecular mechanisms of salt injury and salt tolerance in cotton[J]. Cotton Science, 2005, 17(5): 309-313.
- [18] 李博, 王春霞, 张志勇, 等. 适用于低钾条件下棉花苗期根冠通讯研究的三种嫁接方法[J]. 作物学报, 2009, 35(2): 363-369.
Li Bo, Wang Chunxia, Zhang Zhiyong, et al. Three types of grafting techniques available for research of root-shoot communication in cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings under low-potassium condition[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(2): 363-369.
- [19] Sperdoui I, Moustakas M. A better energy allocation of absorbed light in photosystem II and less photooxidative damage contribute to acclimation of *Arabidopsis thaliana* young leaves to water deficit[J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171: 587-593.
- [20] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 659-668.
- [21] Shabala S. Ionic and osmotic components of salt stress specifically modulate net ion fluxes from bean leaf mesophyll[J]. Plant Cell and Environment, 2000, 23: 825-837.
- [22] Chen Peng, Yan Kun, Shao Hongbo, et al. Physiological mechanisms for high salt tolerance in wild soybean(*Glycine soja*) from yellow river delta, china: photosynthesis, osmotic regulation, ion flux and antioxidant capacity[J]. PLOS ONE, 2013, 8(12): 1-12.
- [23] Wang Ning, Hua Hanbai, Eneji A E, et al. Genotypic variations in photosynthetic and physiological adjustment to potassium deficiency in cotton(*Gossypium hirsutum*)[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 2012, 110: 1-8.
- [24] Wituszyńska W, Gałązka K, Rusaczzonek A, et al. Multivariable environmental conditions promote photosynthetic adaptation potential in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170: 548-559.
- [25] Lima-Neto M C, Lobo A K, Martins M O, et al. Dissipation of excess photosynthetic energy contributes to salinity tolerance: a comparative study of salt-tolerant *Ricinus communis* and salt-sensitive *Jatropha curcas*[J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(1): 23-30.
- [26] Coskun D, Britto D T, Jean Y K, et al. K⁺ efflux and retention in response to NaCl stress do not predict salt tolerance in contrasting genotypes of rice(*Oryza sativa* L.)(J). PLOS ONE, 2013, 8(2): 1-16.
- [27] Bose J, Shabala L, Pottosin I, et al. Kinetics of xylem loading, membrane potential maintenance, and sensitivity of K⁺-permeable channels to reactive oxygen species: physiological traits that differentiate salinity tolerance between pea and barley[J]. Plant Cell and Environment, 2014, 37: 589-600.
- [28] Li Xiaojun, Guo Chengjin, Gu Juntao, et al. Overexpression of VP, a vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene in wheat(*Triticum aestivum* L.), improves tobacco plant growth under Pi and N deprivation, high salinity, and drought[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(2): 683-696. ●