

基于 Na^+ 、 K^+ 相关指标动态监测 玉米苗期盐碱胁迫伤害

孙 博^{1,2}, 张春宵¹, 刘俊宇^{1,2}, 董 菁¹, 金峰学¹, 刘学岩¹,
石创业², 吴松权², 李晓辉¹

(1. 吉林省农业科学院玉米研究所, 吉林 公主岭 136100; 2. 延边大学农学院, 吉林 延吉 133002)

摘 要: 以3份玉米单交种(郑单958、先玉335、吉单27)及其双亲(郑58/昌7-2、PH6WC/PH4CV、四-287/四-144)为试验材料, 分别用 NaCl 200 mmol/L和 Na_2CO_3 100 mmol/L对其进行苗期盐、碱胁迫处理, 在10个时间点监测苗情和测定 Na^+ 和 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比。通过方差分析和相关性分析, 探究盐碱胁迫对玉米的影响, 并筛选耐盐性评价指标和时间点, 对材料进行耐盐性综合分级。结果表明, 玉米单交种整体的耐盐性明显高于自交系。碱与盐胁迫下 K^+ 相当, Na^+ 差异较大, 说明 K^+ 与 Na^+ 吸收、运输独立, 表明盐、碱胁迫性质不同。鉴于 Na^+ 、 K^+ 相关指标变化具有明显的阶段分化特征, 将全部胁迫点划分为3个阶段, 将胁迫后1、3和5 d确立为玉米苗期耐盐碱鉴定适宜的胁迫时间点, Na^+/K^+ 比为适宜评价指标。

关键词: 玉米; 盐碱胁迫; Na^+ 含量; K^+ 含量; Na^+/K^+ 比

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

Dynamic Monitoring Saline-alkali Stress Injury Based on Na^+ and K^+ Related Indexes at Maize Seedling Stage

SUN Bo^{1,2}, ZHANG Chun-xiao¹, LIU Jun-yu^{1,2}, DONG Jing¹, JIN Feng-xue¹, LIU Xue-yan¹,
SHI Chuang-ye², WU Song-quan², LI Xiao-hui¹

(1. Maize Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100;

2. Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: Using three maize hybrids (Zhengdan958, Xianyu335, Jidan 27) and their parental lines (Zheng 58/Chang7-2, PH6WC/PH4CV, Si-287/Si-144) as experimental materials, they were subjected to salt-alkali stress treatments during the seedling stage using 200 mmol/L NaCl and 100 mmol/L Na_2CO_3 , respectively. Seedling growth was monitored, and the Na^+ and K^+ contents, as well as the Na^+/K^+ ratio, were measured at 10 different time points. Through variance analysis and correlation analysis, the impact of salt-alkali stress on maize was explored, and salt tolerance evaluation indices and time points were selected for comprehensive classification of salt tolerance. The results showed that the overall salt tolerance of the maize hybrids was significantly higher than that of the inbred lines. Under salt-alkali stress, the K^+ levels remained similar while Na^+ levels showed significant differences, indicating that the absorption and transportation of K^+ and Na^+ are independent processes, suggesting that salt-alkali stress are of different natures. Given the obvious phased changes in Na^+ and K^+ -related indicators, all stress points were divided into three stages, and the 1st day, 3rd day, and 5th day after stress application were identified as suitable time points for evaluating salt-alkali tolerance in maize seedlings. The Na^+/K^+ ratio was established as an appropriate evaluation index.

Key words: Maize; Salt-alkali stress; Na^+ content; K^+ content; Na^+/K^+ ratio

录用日期: 2024-02-19

基金项目: 吉林省农业科技创新工程创新团队项目(CXGC2023DX001)、吉林省科技发展计划项目(20220202015NC)

作者简介: 孙 博(1998-), 男, 吉林白城人, 在读硕士, 从事玉米抗逆研究。E-mail: 2021010605@ybu.edu.cn

张春宵为同等贡献作者。

李晓辉和吴松权为本文通信作者。

盐分是一种常见的非生物胁迫,全世界有超过8亿hm²土地受到高盐度的不利影响^[1]。土壤盐渍化及次生盐渍化,严重限制作物生长和发育、生产,并导致可耕地的持续丧失^[2]。近年来,在极端自然条件(降雨少)和人为因素(灌溉依赖的耕作模式)的共同作用下,我国东北、华北和黄淮海平原等玉米主产区耕地盐碱化日益严重,已成为导致玉米减产的主要环境因素之一^[3]。

玉米对盐碱胁迫的应答可分成早期、快速的渗透胁迫和后期、缓慢的离子胁迫两个阶段^[4-5]。其中,在长期胁迫条件下,主要表现为离子胁迫^[6]。对于大多数物种,Na⁺毒性是离子胁迫这一阶段的主要问题^[7]。许多生理学研究已证明,Na⁺毒性是由Na⁺竞争K⁺结合位点以破坏K⁺稳态的能力引起的^[8-10]。此外,细胞内离子浓度的动态平衡是植物在盐碱胁迫下生长的基础。植物细胞应该在细胞质溶胶中维持低Na⁺浓度和高K⁺浓度,以避免在盐碱条件下离子稳态失调,细胞质溶胶中用于代谢的酶位于其中^[11-12]。植物细胞的胞液中通常含有100~200 mmol/L K⁺和1~10 mmol/L Na⁺,这种Na⁺/K⁺比对于许多细胞的代谢和功能是最佳的^[13-14]。因此,探究盐碱胁迫下钠钾离子转运规律,筛选玉米苗期规模化鉴定适宜的胁迫时间点及钠钾离子相关指标,以此推动耐盐碱玉米品种选育,对确保我国粮食安全具有重要意义。本研究以3份玉米单交种及其双亲为试材,探究盐碱胁迫对玉米苗情和钠钾离子相关指标的影响,筛选适宜的胁迫时间点和评价指标,从而为玉米苗期盐碱胁迫伤害动态监测与耐性评价提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以3份优良玉米单交种(郑单958、先玉335、吉单27)及6份亲本自交系(郑58/昌7-2、PH6WC/

PH4CV、四-287/四-144)为试验试材,种子由吉林省农业科学院玉米研究所提供。

1.2 胁迫处理

2023年春,选择大小一致、子粒饱满无破损的种子300粒,用0.1%升汞溶液消毒10 min。将种子播种在玉米幼苗鉴定仪中^[15],每盆仪器种100粒种子,包括3次生物学重复,共计3盆,置于光照培养箱中。培养条件为16 h光照及8 h黑暗交替,湿度为60%,温度为(25±2)℃/(20±2)℃昼/夜交替,光强为50~60 μmol/(m²·s),浇注适量的Hoagland营养液。待幼苗长至3叶1心时,1盆玉米幼苗鉴定仪继续使用Hoagland营养液培养,另外两盆遵照DB 22/T 2621-2017《玉米耐盐碱性鉴定技术规程》^[16],分别使用盐胁迫液(200 mmol/L NaCl)或碱胁迫液(100 mmol/L Na₂CO₃)对幼苗进行胁迫。

1.3 生理生化指标测定

分别于胁迫后0、5、12 h,1、2、3、4、5、6、7 d,称取叶片和根各0.5 g,每个处理3次生物学重复,置于牛皮纸袋中,在105℃烘箱中杀青30 min后,于85℃烘箱中烘干至恒重,制备盐胁迫下叶(LS)、盐胁迫下根(RS)、碱胁迫下叶(LA)、碱胁迫下根(RA)等样品,真空条件下储存备用。通过微波消解仪(MARS6)消解样品,消解后的样品用原子吸收光谱仪(ZEEnit700)测定Na⁺、K⁺含量并计算Na⁺/K⁺比,试验标准为GB/T 5009.91-2017《食品国家安全标准食品中钾、钠的测定》第一法火焰原子吸收光谱法。试验用水均为去离子水,试验用硝酸(HNO₃)和过氧化氢(H₂O₂)均为优级纯。

1.4 苗期耐盐碱性分级评价标准

根据苗情将玉米苗期耐盐碱性分为5级,分别为高度耐盐碱型、耐盐碱型、中度耐盐碱型、盐碱敏感型和盐碱高度敏感型,其具体苗情表现详见表1。

1.5 数据处理与分析

采用Microsoft Excel 2019整理数据,使用SPSS

表1 修改后的玉米苗期耐盐碱性评价标准
Table 1 Modified standard evaluation score (SES) for salt-alkali tolerance at maize seedlings stage

分 级 Score	耐 性 Tolerance	苗 情 Seedling condition
0		植株生长正常,无受害症状
1	高耐	植株生长基本正常,全株几乎无萎蔫或叶缘蜷曲
2	耐	植株生长迟缓,小部分叶子萎蔫或叶缘蜷曲、叶色发黄
3	中耐	植株生长严重迟缓,部分叶子萎蔫或叶缘蜷曲、叶片较大面积变黄或叶尖青枯
4	敏感	植株完全停止生长,大部分叶子萎蔫或叶缘蜷曲,叶枯、叶落,植株濒临死亡
5	高度敏感	植株枯死或濒临死亡

22.0 进行各胁迫时间点 7 个指标的方差分析、单一胁迫下指标间相关性分析及适宜胁迫时间点下适宜指标的方差检验,有显著或极显著差异时采用 Duncan 法进行多重比较,采用 SigmaPlot 12.5 制图。

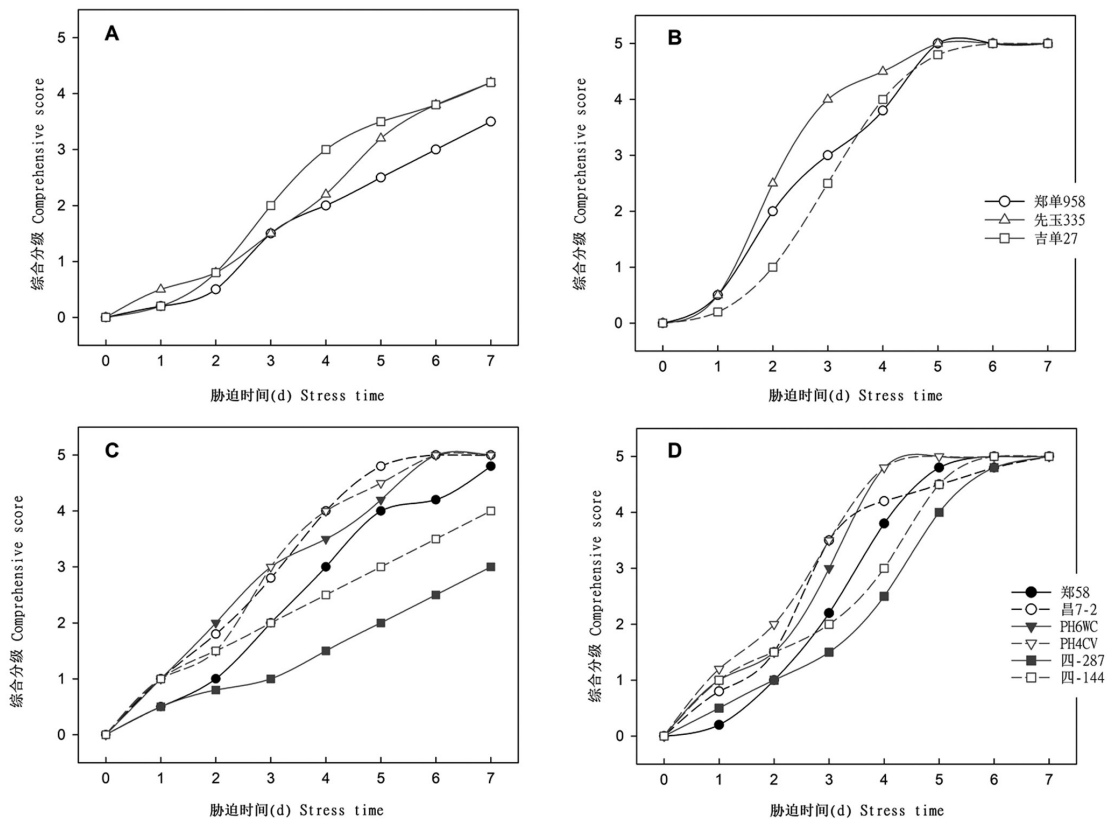
2 结果与分析

2.1 玉米苗期盐碱耐性分级与苗情方差分析

由图 1 可知,盐胁迫下,吉单 27 于胁迫第 4 天叶片出现明显萎蔫,对盐胁迫较为敏感;郑单 958 在胁迫第 7 天叶部萎蔫仍不明显,更具有耐盐性。昌 7-2 于胁迫第 5 天达到濒死状态,萎蔫程度最为明显,对盐胁迫最为敏感;PH6WC 和 PH4CV 在胁迫第 6 天达到濒死状态,郑 58 在胁迫第 7 天达到濒死状态;

四-287 和四-144 表现出较好的耐盐性,在胁迫第 7 天耐盐分级分别为 3 和 4。从耐盐性综合分级来看,郑单 958>先玉 335>吉单 27,四-287>四-144>郑 58>PH6WC>PH4CV>昌 7-2。

碱胁迫下,先玉 335 于胁迫第 4 天达到濒死状态,对碱胁迫较为敏感;在胁迫第 5 天时,全部单交种都已濒死或死亡。PH6WC 和 PH4CV 于胁迫第 4 天时达到濒死状态,对碱胁迫较为敏感;四-287、四-144 和郑 58 随时间变化受胁迫伤害严重程度相对迟缓;在胁迫第 5 天时,全部自交系均已濒死或死亡。从耐碱性综合分级来看,吉单 27>郑单 958>先玉 335,四-287>四-144>郑 58>昌 7-2>PH6WC>PH4CV。



注:A、B 分别为玉米单交种盐、碱胁迫;C、D 分别为自交系盐、碱胁迫。
Note: A-B, C-D is salt-alkali stress for maize single crosses and inbred lines, respectively.

图 1 3 份玉米单交种及其 6 份亲本系盐碱胁迫苗情变化曲线

Fig.1 Seedling condition of 3 single crosses and 6 parental lines at seedling stage under salt-alkali stress

本研究表明,随着胁迫时间的延长,玉米受胁迫伤害程度逐渐增加直至死亡。与盐胁迫相比,碱胁迫对植株的伤害更为严重,植株的存活时间更短。无论盐碱胁迫,0~1 d,植株受胁迫伤害整体表现不明显;2~4 d,随着时间的延长,植株受胁迫伤害程度逐步加深,从第一片叶起逐渐萎蔫,植株生长迟缓,叶片边缘逐步蜷曲、失水;第 5 天部分材料出现

濒死状态,6~7 d 大部分材料死亡或濒临死亡,少数材料存活。

由表 2 结果表明,随着盐碱胁迫时间的延长,不同材料具有不同的变化动态,但材料总体变化趋于一致,即苗情分级逐步上升。对于 3 份单交种,与对照(0 d)相比,盐/碱胁迫除 1 d 差异不显著外其余均显著,盐胁迫 1 d/2 d、6 d/7 d 间差异不显著,碱胁迫

迫 5、6 和 7 d 间差异不显著。对于 6 份自交系,与对照(0 d)相比,盐和碱胁迫 1 ~ 7 d 均差异显著,盐胁迫 5 d 和 6 d、6 d 和 7 d 间差异不显著,碱胁迫 5、6 和 7 d 间差异不显著。玉米单交种整体的耐盐性明显高于自交系。

表 2 盐碱胁迫对玉米苗情的影响
Table 2 Effects of salt or alkali stress on maize seedling condition

胁迫时间(d) Stress time	单交种 Single crosse		自交系 Parental line	
	盐胁迫 Salt stress	碱胁迫 Alkali stress	盐胁迫 Salt stress	碱胁迫 Alkali stress
0	0.00 f	0.00 e	0.00 g	0.00 f
1	0.30 ef	0.40 e	0.83 f	0.78 e
2	0.70 e	1.83 d	1.43 e	1.42 d
3	1.67 d	3.17 c	2.30 d	2.62 c
4	2.40 c	4.10 b	3.08 c	3.85 b
5	3.07 b	4.93 a	3.75 b	4.63 a
6	3.53 a	5.00 a	4.20 ab	4.93 a
7	3.97 a	5.00 a	4.47 a	5.00 a

注:以字母来表示数据的差异,相同字母表示材料间无差异,不同字母表示材料间存在差异。
Note: Differences in data are expressed in letters, with the same letter indicating no difference between materials, and different letters indicating differences between materials.

2.2 玉米苗期耐盐碱鉴定适宜胁迫时间点的选择

2.2.1 不同处理 Na⁺、K⁺相关指标的方差分析

由表 3 可知,单交种盐处理下材料间叶部的 Na⁺含量、Na⁺/K⁺比及碱处理下根部 Na⁺/K⁺比差异不显著,盐处理下材料间叶部 K⁺含量存在显著差异;其余各处理下,材料间、时间点间的 Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比均存在极显著差异。自交系盐处理下时间点间叶部的 K⁺含量差异不显著,其余各处理下,

材料间、时间点间的 Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比均存在极显著差异,说明 3 项指标能够区别材料。

2.2.2 不同胁迫时间点下 Na⁺、K⁺相关指标的方差分析

从生理学层面而言,植物对盐碱胁迫的应答可分成 3 个阶段,盐碱冲击下存在一个瞬态的应激反应阶段 0;早期、快速的渗透胁迫应答阶段 1 和后期、较为缓慢的离子胁迫应答阶段 2^[17]。

表 3 盐碱胁迫下 3 份玉米单交种和 6 份自交系 3 项指标的方差分析
Table 3 Variance analysis on three indices of 3 single crosses and 6 parental lines under salt-alkali stress

指 标 Index	F 值 F value											
	Na ⁺ 含量 Na ⁺ content				K ⁺ 含量 K ⁺ content				Na ⁺ /K ⁺ 比 Na ⁺ /K ⁺ ratio			
	叶(盐) LS	根(盐) RS	叶(碱) LA	根(碱) RA	叶(盐) LS	根(盐) RS	叶(碱) LA	根(碱) RA	叶(盐) LS	根(盐) RS	叶(碱) LA	根(碱) RA
单交种												
材料间	1.19	6.94**	63.39**	7.44**	3.65*	35.76**	24.91**	7.41**	0.24	16.23**	52.18**	2.83
时间点间	69.55**	57.00**	61.17**	85.77**	4.34**	29.38**	7.96**	42.76**	48.76**	55.67**	23.67**	55.60**
自交系												
材料间	79.30**	48.45**	30.70**	20.86**	38.12**	85.91**	34.85**	7.25**	69.60**	27.26**	21.92**	4.85**
时间点间	32.53**	85.25**	29.87**	130.31**	1.49	36.06**	2.82**	45.14**	22.92**	48.17**	30.93**	89.18**

注:“**、*”分别表示差异显著(P<0.01、P<0.05)。
Note: **, * respectively indicate significant difference at the 0.01 and 0.05 level.

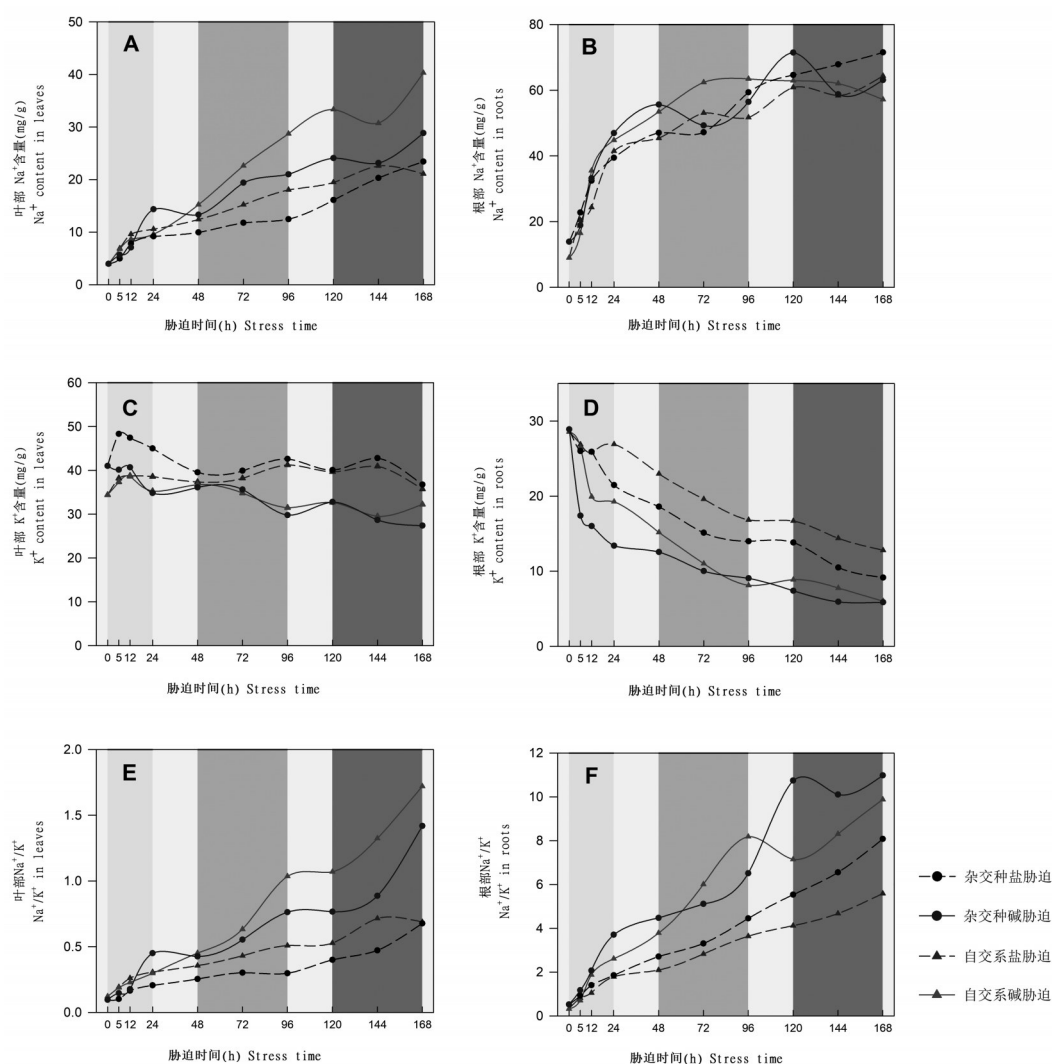


图2 不同胁迫时间对钠钾离子相关指标的影响

Fig.2 Effects of stress time on sodium and potassium ions-related indices

由图2结果表明,无论单交种还是自交系,随盐、碱胁迫时间的延长,叶部和根部的 Na^+ 含量呈一直上升趋势;叶部 K^+ 含量呈先下降后趋于稳定趋势,根部 K^+ 含量呈一直下降趋势;叶部和根部的 Na^+/K^+ 比呈一直上升趋势。遵循“三阶段”理论结合图2曲线变化趋势,本研究将9个胁迫点划分为阶段1(5 h ~ 1 d)、阶段2(2 ~ 4 d)、阶段3(5 ~ 7 d)3个阶段。尽管盐碱胁迫下玉米叶片和根部的 Na^+ 含量累积速度、 K^+ 含量的流失速度和 Na^+/K^+ 比的上升速率不尽相同,仍观察到明显的阶段分化。本研究将盐碱胁迫后1、3和5 d确立为玉米苗期耐盐碱鉴定的适宜胁迫时间点。

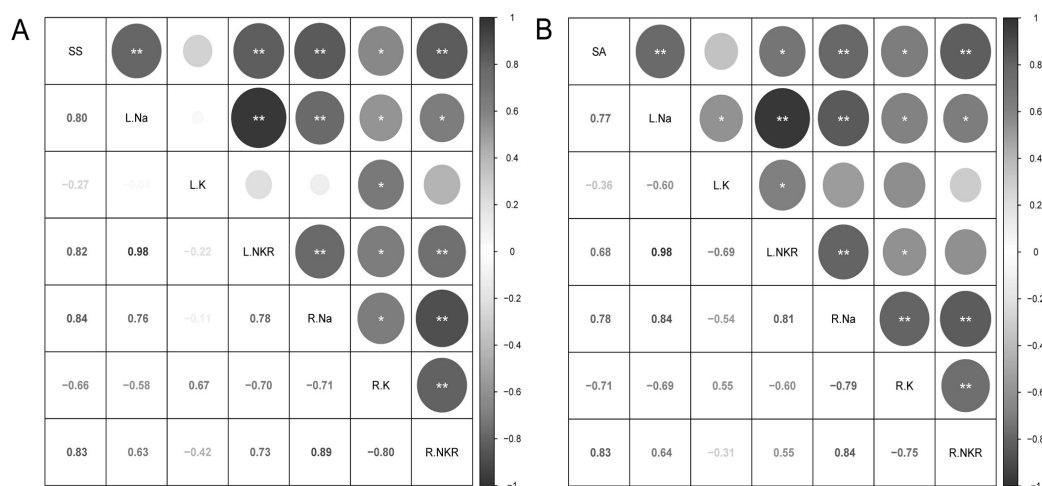
2.3 玉米苗期耐盐碱鉴定适宜指标的选择

2.3.1 盐、碱单一胁迫下不同时间 Na^+ 、 K^+ 相关指标的相关性分析

由盐胁迫下单交种各指标间的相关性分析可知

(图3),在盐胁迫下,叶部 Na^+ 含量、 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比与苗情的相关性 r 分别为0.80**、-0.27、0.82**,根部 Na^+ 含量、 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比与苗情的 r 分别为0.84**、-0.66*、0.83**。同一部位不同指标间,叶部 Na^+ 含量与 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比的 r 分别为-0.04、0.98**,叶部 K^+ 含量与 Na^+/K^+ 比的 r 为-0.22;根部 Na^+ 含量与 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比的 r 分别为-0.71*、0.89**,根部 K^+ 含量与 Na^+/K^+ 比的 r 为-0.80**。同一指标不同部位间,叶部与根部 Na^+ 含量的 r 为0.76**,叶部与根部 K^+ 含量的 r 为0.67*,叶部与根部 Na^+/K^+ 比的 r 为0.73**。

由碱胁迫下单交种各指标间的相关性分析可知,在碱胁迫下,叶部 Na^+ 含量、 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比与苗情的相关性 r 分别为0.77**、-0.36、0.68*;根部 Na^+ 含量、 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比与苗情的 r 分别为0.78**、-0.71*、0.83**。同一部位不同指标间,叶部



注:A、B分别代表盐、碱胁迫。下同。

Note: A, B represents salt stress-alkali stress, respectively. The same below.

图3 盐碱胁迫下单交种各指标间的相关性分析

Fig.3 Correlation analysis of each index of single crosses under salt stress-alkali stress

Na⁺含量与K⁺含量、Na⁺/K⁺比的相关性 r 分别为-0.60*、0.98**, 叶部K⁺含量与Na⁺/K⁺比的相关性 r 为-0.69*; 根部Na⁺含量与K⁺含量、Na⁺/K⁺比的相关性 r 分别为-0.79**、0.84**, 根部K⁺含量与Na⁺/K⁺比的相关性 r 为-0.75**。同一指标不同部位间, 叶部与根部Na⁺含量的相关性 r 为0.84**, 叶部与根部K⁺含量的相关性 r 为0.55, 叶部与根部Na⁺/K⁺比的相关性 r 为0.55。

由盐胁迫下自交系各指标间的相关性分析可知(图4), 在盐胁迫下, 叶部Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比与苗情的相关性 r 分别为0.65**、0.17、0.58**, 根部Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比与苗情的相关性 r 分别为0.78**、-0.33、0.61**。同一部位不同指标间,

叶部Na⁺含量与K⁺含量、Na⁺/K⁺比的相关性 r 分别为-0.08、0.96**, 叶部K⁺含量与Na⁺/K⁺比的相关性 r 为-0.32; 根部Na⁺含量与K⁺含量、Na⁺/K⁺比的相关性 r 分别为-0.26、0.80**, 根部K⁺含量与Na⁺/K⁺比的相关性 r 为-0.61**。同一指标不同部位间, 叶部与根部Na⁺含量的相关性 r 为0.67**, 叶部与根部K⁺含量的相关性 r 为0.04, 叶部与根部Na⁺/K⁺比的相关性 r 为0.39。

由碱胁迫下自交系各指标间的相关性分析可知, 在碱胁迫下, 叶部Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比与苗情的相关性 r 分别为0.71**、-0.16、0.80**, 根部Na⁺含量、K⁺含量、Na⁺/K⁺比与苗情的相关性 r 分别为0.69**、-0.69*、0.82**。同一部位不同指标间, 叶

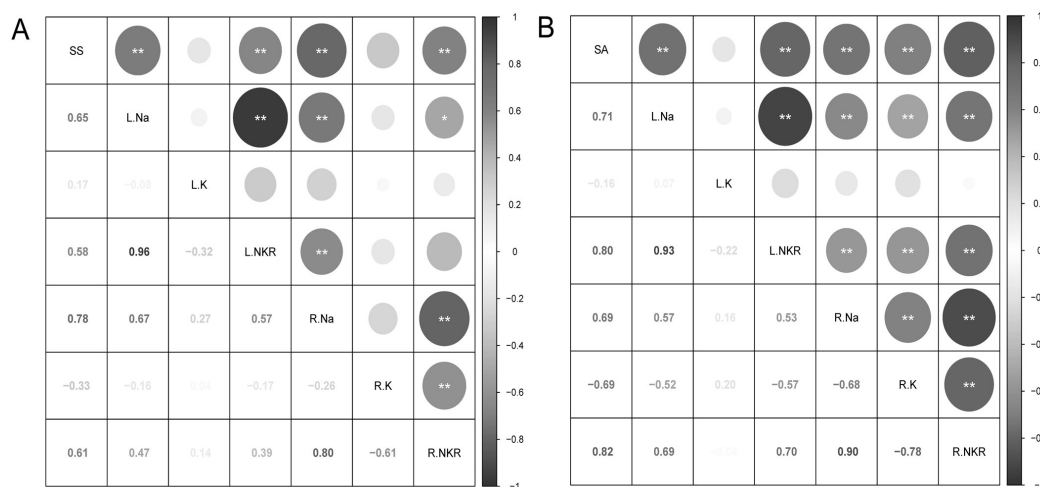


图4 盐碱胁迫下自交系各指标间的相关性分析

Fig.4 Correlation analysis of each index of parental lines under salt stress or alkali stress

部 Na^+ 含量与 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比的相关性 r 分别为0.07、0.93**, 叶部 K^+ 含量与 Na^+/K^+ 比的相关性 r 为-0.22;根部 Na^+ 含量与 K^+ 含量、 Na^+/K^+ 比的相关性 r 分别为-0.68**、0.90**, 根部 K^+ 含量与 Na^+/K^+ 比的相关性 r 为-0.78**。同一指标不同部位间,叶部与根部 Na^+ 含量的相关性 r 为0.57**,叶部与根部 K^+ 含量的相关性 r 为0.20,叶部与根部 Na^+/K^+ 比的相关性 r 为0.70**。

盐碱胁迫下,玉米叶部和根部 Na^+ 含量均与苗情呈极显著正相关;玉米叶部和根部 K^+ 含量与苗情

呈负相关,根部相关性高于叶部;玉米叶部和根部的 Na^+/K^+ 比绝大多数与苗情呈极显著正相关,根部相关性高于叶部。综合 Na^+ 含量和 K^+ 含量, Na^+/K^+ 比更能具体反映耐盐碱强弱。综上所述,本研究将 Na^+/K^+ 比作为适宜的钠钾离子相关指标。

2.3.2 盐碱两种胁迫下 Na^+/K^+ 相关指标的差异分析

由图5可知,叶部 Na^+/K^+ 比在盐碱两种胁迫1 d时,单交种和自交系均差异不显著;胁迫3 d时,单交种和自交系均差异极显著;胁迫5 d时,单交种和自交系均差异极显著。根部 Na^+/K^+ 比在盐碱两种胁迫

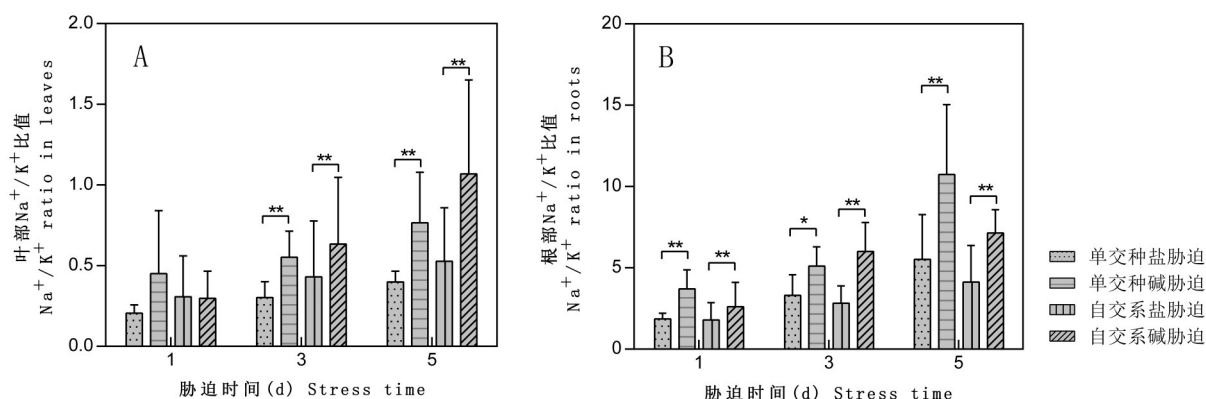


图5 盐碱胁迫下1、3和5 d时 Na^+/K^+ 比的方差分析

Fig.5 Variance analyses among Na^+/K^+ ratio of 1, 3 and 5 d under salt-alkali stress

迫1 d时,单交种和自交系均差异极显著;胁迫3 d时,单交种差异显著,自交系差异极显著;胁迫5 d时,单交种和自交系均差异极显著。在盐碱胁迫下,根部和叶部的 Na^+/K^+ 比对于胁迫的反应存在一定差异。根部在胁迫早期(1 d)表现出显著差异,这与根部最先接触到胁迫液并对胁迫的响应相对较早有关。叶部在较晚的时间点(3 d)表现出显著差异,表明叶部对胁迫的响应相对滞后。盐胁迫下,最能反映材料间指标差异的时间点是胁迫后3 d;碱胁迫下该时间点是胁迫后5 d。

2.4 适宜的盐碱胁迫时间点下3份玉米单交种苗期 Na^+/K^+ 动态变化曲线

Na^+ 是盐碱胁迫下主要的离子毒害物质,植物在盐碱胁迫下维持低 Na^+/K^+ 比是至关重要的。基于适宜的盐碱胁迫时间点(0、1、3和5 d)和 Na^+/K^+ 比,绘制3份玉米单交种苗期盐碱胁迫下 Na^+/K^+ 比变化曲线(图6)。

胁迫前郑单958、先玉335和吉单27叶部的 Na^+/K^+ 比初始值几乎相同。盐胁迫郑单958、吉单27的 Na^+/K^+ 比先快速上升而后缓慢上升,先玉335先快速上升后趋于平缓再快速上升; Na^+/K^+ 比5 d终值郑单958>先玉335>吉单27,差异较小。碱胁迫下

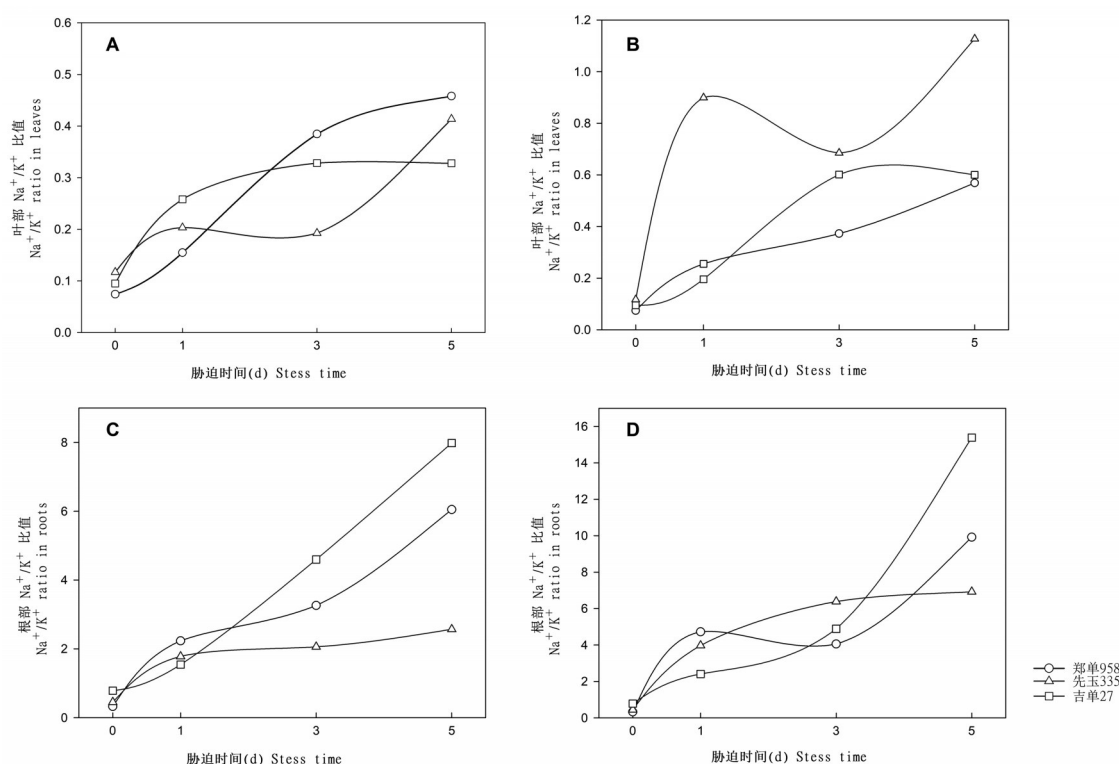
Na^+/K^+ 比变化规律明显不同,郑单958先快速上升而后平缓上升,先玉335整体呈上升趋势,吉单27先快速上升而后趋于稳定; Na^+/K^+ 比5 d终值先玉335>吉单27>郑单958,郑单958和吉单27差异较小,先玉335与其他材料差异较大。

胁迫前郑单958、先玉335和吉单27根部的 Na^+/K^+ 比初始值几乎相同。盐胁迫郑单958和吉单27一直快速上升,先玉335的 Na^+/K^+ 比均先快速上升后缓慢上升; Na^+/K^+ 比5 d终值吉单27>郑单958>先玉335,差异较大。碱胁迫 Na^+/K^+ 比变化规律明显不同,郑单958先快速上升后下降再快速上升,先玉335一直稳定上升,吉单27先缓慢上升后快速上升; Na^+/K^+ 比5 d终值吉单27>郑单958>先玉335,差异较大,整体高于盐胁迫。

同一材料盐、碱胁迫下,叶部指标除个别材料外变化规律相似,差异较大;根部指标变化规律相似但差异较大。不同材料同一胁迫下,叶盐差异较小,根盐差异较大,叶碱和根碱差异均大。结果表明,盐、碱胁迫具有不同的胁迫响应和生理调控机制。

3 结论与讨论

本研究分别在200 mmol/L NaCl盐胁迫和



注: A、C为盐胁迫; B、D为碱胁迫。

Note: A, C represents salt stress, B, D represents alkali stress.

图6 3份玉米单交种苗期盐碱胁迫下Na⁺/K⁺比变化曲线

Fig.6 Na⁺/K⁺ ratio of 3 single crosses at seedling stage under salt-alkali stress

100 mmol/L Na₂CO₃碱胁迫下,以3份玉米单交种及其双亲10个胁迫时间点、7个指标的方差分析,将胁迫后1、3和5 d确立为玉米苗期耐盐碱鉴定适宜的胁迫时间点。通过单一胁迫下指标间的相关性分析,确立Na⁺/K⁺比为适宜的评价指标。

3.1 玉米苗期盐碱胁迫伤害动态监测时间点的选择

阶段0期间,加入盐碱胁迫溶液后的最初几分钟到几小时内植株显示膨压和生长速率的短暂降低,并在一段时间后恢复^[18],恢复程度取决于施用胁迫溶液的浓度、植物的敏感性和植物的胁迫适应能力。盐碱胁迫研究中避免阶段0效应是重要的,其瞬时特性在植物育种中是无用的。

阶段1期间,主要与根介质周围盐碱胁迫引起的渗透调节和水分利用效率降低有关,生理上抑制了幼叶的生长,并且该阶段显示的生长抑制与PEG、甘露醇和KCl等渗透剂诱导的生长抑制相似^[19]。因此,这种效应不是盐碱胁迫所特有的。该阶段碳水化合物供应充足,通过渗透调节而维持膨压^[20]。Sumer等发现,Na⁺也会造成阶段1期间玉米的生长速率降低。

阶段2期间,随着长期的盐碱胁迫,Na⁺在植株体内的不断积累,使得植株细胞遭受严重的离子毒害的同时,还因离子拮抗作用导致植物营养不平衡。此阶段由于离子毒性而发生失绿甚至坏死,并且导致成熟叶片的加速衰老。

转录组测序研究过程中,为探查基因瞬时表达情况,前人取样时间多为胁迫后24 h之内^[21]。为了研究植物在胁迫后的长期表现,多在胁迫后7~10 d取样^[22]。本研究首次选择10个时间点,探查基因瞬时表达情况的同时,也可以动态监测玉米苗期盐碱胁迫伤害。通过各时间点间方差分析可知,盐碱胁迫下玉米叶片和根部的Na⁺含量累积速度、K⁺含量的流失速度和Na⁺/K⁺比的上升速率不尽相同,仍观察到明显的阶段分化,结合阶段0、1和2的划分,本研究最终将盐碱胁迫后1、3和5 d确立为玉米苗期耐盐碱鉴定的适宜胁迫时间点。

3.2 Na⁺、K⁺相关指标与盐碱胁迫伤害的相关性

土壤盐分是玉米高产的重要决定因素之一,土壤盐分严重影响玉米苗期的生长发育。不同品种的玉米由于受基因型、形态性状和内部生理生化反应等的影响,对盐碱胁迫的敏感程度不同,耐盐碱性差

异很大^[23]。在盐渍土壤中,选择苗期生长发育良好的品种尤为重要^[24]。当植物受到盐碱胁迫时,自身会通过一系列生理代谢调节来适应环境,其中维持适当的离子平衡对于植物在长期盐碱环境中至关重要。盐碱胁迫可破坏植物细胞的离子稳态并影响 Na^+ 和 K^+ 在细胞中的分布^[25],对植物组织表现出不同影响。因此,调节离子平衡是植物在盐碱环境中适应的关键。

大量研究显示,植物的耐盐性最终是通过几个生理过程表现出来的,其中,包括 Na^+ 的吸收和排斥、离子的稳态,特别是 Na^+ 和 K^+ 之间的稳态及分配^[26]。盐胁迫下高 Na^+/K^+ 比可能损害根细胞膜的选择性和 K^+ 的选择性吸收,从而破坏植物体内的离子平衡^[27]。在盐胁迫下,植物会增加 Na^+ 的吸收,同时降低 K^+ 的吸收^[28],导致 Na^+ 和 K^+ 呈负相关。 K^+ 对植物有益,通过增加 K^+ 含量,植物能够在一定程度上减少对 Na^+ 的吸收,从而降低 Na^+/K^+ 比。 K^+/Na^+ 比可用作许多植物物种(番茄)中耐盐性的重要生理选择指标^[29-31]。前人研究发现,盐胁迫下随着胁迫时间的增加,根部 Na^+ 比叶部 Na^+ 积累多,根部 K^+ 比叶部 K^+ 流失的多,根部 Na^+/K^+ 比比叶部 Na^+/K^+ 比升高地快^[32]。

本研究中,对盐碱处理的6份玉米自交系和3份杂交种的叶部和根部离子含量的比较分析可知,随着胁迫时间延长,植株根部和叶部 Na^+ 含量逐渐增加。叶部 K^+ 含量在初始阶段上升,随后逐渐降低,整体呈下降趋势;根部 K^+ 含量也逐渐降低,同时 Na^+/K^+ 比逐渐升高,表明植株在盐碱胁迫下逐渐失去对 K^+ 的选择性吸收,而对 Na^+ 的吸收能力逐渐增强。6份玉米自交系和3份杂交种的叶部和根部 Na^+ 含量和 Na^+/K^+ 比与苗情等级呈正相关。 K^+ 含量在除6份自交系的叶部盐胁迫处理外,其他情况下均与苗情等级呈负相关, Na^+/K^+ 比与 Na^+ 含量、 K^+ 含量等生理指标呈高度相关,表明随着胁迫时间的延长, Na^+ 的积累抑制了 K^+ 的吸收,导致植物组织中 Na^+/K^+ 比升高,进而引起植株代谢过程的损伤。随着盐碱胁迫时间的延长,进一步观察到植物根部和叶部 Na^+ 和 K^+ 含量的显著变化,根部 Na^+ 的积累高于叶部,同时根部 K^+ 的流失量也较大,表明 Na^+/K^+ 比在根部的升高速度高于叶部。此外还发现,碱胁迫对 Na^+ 和 Na^+/K^+ 比的影响较盐胁迫更为显著,同时 K^+ 在碱胁迫下的流失量也相对较多,说明玉米在盐碱不同胁迫下, Na^+/K^+ 比存在明显差异。以优异玉米杂交种郑单958为例,其双亲自交系郑58和昌7-2根部抑制 Na^+ 向地上部分运输的能力较弱,导致其地上

部分 Na^+ 含量较高,叶片受损。若增强根部抑制 Na^+ 向地上部分运输的能力,势必增加自交系及杂交种的耐盐碱性^[33]。以往研究表明,维持适当的离子平衡对于植物在盐碱环境中的适应至关重要, Na^+/K^+ 比是评估水稻耐盐性的可靠指标^[34]。本研究进一步证明,1、3和5 d可被确定为评估玉米耐盐碱性的合适时间点, Na^+/K^+ 比与耐盐碱等级、 Na^+ 含量、 K^+ 含量等生理指标呈高度相关,因此,可作为玉米耐盐性筛选的有效指标。根部是最先受到胁迫影响的部位,对胁迫的反应更为迅速,可作为评估玉米耐盐性的关键部位。本研究对深入了解玉米育种和提高其耐盐碱性具有重要的指导作用。

参考文献:

- [1] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.
- [2] PONS R, CORNEJO M J, SANZ A. Differential salinity-induced variations in the activity of H^+ -pumps and Na^+/H^+ antiporters that are involved in cytoplasm ion homeostasis as a function of genotype and tolerance level in rice cell lines[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49, 1399-1409.
- [3] 姜佩弦, 张凯, 王艺桥, 等. 玉米耐盐分子机制研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(1): 49-60.
JIANG P X, ZHANG K, WANG Y Q, et al. Advances in molecular mechanisms of salt tolerance in maize[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(1): 49-60. (in Chinese)
- [4] DEINLEIN U, STEPHAN A B, HORIE T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(6): 371-379
- [5] LIANG W, MA X, WAN P, et al. Plant salt-tolerance mechanism: A review[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 495(1): 286-291
- [6] 罗稀. 玉米耐盐候选基因功能研究及耐盐RIL群体构建[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- [7] SUMER A, ZORB C, YAN F, et al. Evidence of sodium toxicity for the vegetative growth of maize(*Zea mays* L.) during the first phase of salt stress[J]. Journal of Applied Botany, 2004, 78, 135-139.
- [8] VOLKOV V, AMTMANN A. Thellungiella halophila, a salt-tolerant relative of Arabidopsis thaliana, has specific root ion-channel features supporting K^+/Na^+ homeostasis under salinity stress[J]. Plant Journal, 2006, 48, 342-353.
- [9] SHABALA S, CUIN T A. Potassium transport and plant salt tolerance[J]. Physiologia Plantarum, 2007, 133: 651-669.
- [10] HASEGAWA P M. Sodium(Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants[J]. Environmental and Experimental Botany, 2013, 92: 19-31.
- [11] ZHU J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6(5): 441-445.
- [12] PARDO J M, CUBERO B, LEIDI E O, et al. Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57: 1181-1199.
- [13] KADER M A, SEIDEL T, GOLLDACK D, et al. Expressions of OsHKT1, OsHKT2, and OsVHA are differentially regulated under Na-

- Cl stress in salt-sensitive and salt-tolerant rice(*Oryza sativa* L.) cultivars[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(15): 4257–68.
- [14] ZHANG Y, FANG J, WU X, et al. Na⁺/K⁺ Balance and transport regulatory mechanisms in weedy and cultivated rice(*Oryza sativa* L.) under salt stress[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 375.
- [15] 郭 虎. 玉米幼苗鉴定仪[P]. 中国专利: ZL200920177285.0, 2010-05-26.
- [16] DB 22/T 2621-2017, 玉米耐盐碱性鉴定技术规程[S]. 长春: 吉林省质量监督局, 2016.
- [17] SCHUBERT S. Salt resistance of crop plants: physiological characterization of a multi-genic trait[J]. Wiley Blackwell, Ames, USA, 2011, pp. 443–455.
- [18] THIEL G, LYNCH J, LAUCHIL A. Short-term effects of salinity stress on the turgor and elongation of growing barley leaves[J]. Journal of Plant Physiology, 1988, 132: 38–44.
- [19] MUNNS R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses[J]. Plant Cell and Environment, 1993, 16: 15–24.
- [20] DE C W, ZORB C, HARTUNG W, et al. Salt resistance is determined by osmotic adjustment and abscisic acid in newly developed maize hybrids in the first phase of salt stress[J]. Physiologia Plantarum, 2007, 131: 311–321.
- [21] SHAN X X, LI Y D, JIANG Y, et al. Transcriptome profile analysis of maize seedlings in response to high-salinity, drought and cold stresses by deep sequencing[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(6): 1485–1491.
- [22] DING D, ZHANG L F, WANG H, et al. Differential expression of miRNAs in response to salt stress in maize roots[J]. Annals of Botany, 2009, 103(1): 29–38.
- [23] 杨晓杰, 李旭业, 王海艳, 等. 玉米自交系耐盐种质的筛选及耐盐性评价[J]. 玉米科学, 2014, 22(4): 19–25.
- YANG X J, LI X Y, WANG H Y, et al. Maize inbred lines of salt resistant germplasm screening and salt resistance evaluation[J]. Journal of Maize Sciences, 2014, 22(4): 19–25. (in Chinese)
- [24] KHAYATNEZHAD M, GHOLAMIN R, JAMAATI-E-SOMARIN S H, et al. Study of NaCl salinity effect on wheat(*Triticum aestivum* L.) cultivars at germination stage[J]. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 2010, 9: 128–132.
- [25] NIU X, BRESSAN R A, HASEGAWA P M, et al. Ion homeostasis in NaCl stress environments[J]. Plant Physiology, 1995, 109: 735–742.
- [26] REN Z H, GAO J P, LI L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter[J]. Nature Genetics, 2005, 37(10): 1141–1146.
- [27] ASHRAF M, AHMAD S. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fibre characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. Field Crops Research, 2000, 66: 115–127.
- [28] HORIE T, YOSHIDA K, NAKAYAMA H, et al. Two types of HKT transporters with different properties of Na⁺ and K⁺ transport in *Oryza sativa*[J]. Plant Journal, 2001, 27(2): 129–138.
- [29] JUAN M, RIVERO R M, ROMERO L, et al. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars[J]. Environmental and Experimental Botany, 2005, 54: 193–201.
- [30] TEJERA N A, SOUSSI M, LLUCH C. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions[J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 58: 17–24.
- [31] UNAL B T, GUVEN LY A A. Salinity induced differences in growth and nutrient accumulation in five barley cultivars[J]. Turkish Journal of Field Crops, 2011, 16: 84–92.
- [32] GAO Y, LU Y, WU M, et al. Ability to remove Na⁺ and retain K⁺ correlates with salt tolerance in two maize inbred lines seedlings [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1716.
- [33] ZHANG M, LI Y, LIANG X, et al. A teosinte-derived allele of an HKT1 family sodium transporter improves salt tolerance in maize [J]. Plant Biotechnology Journal, 2023, 21(1): 97–108.
- [34] CHUNTHABUREE S, DONGSANSUK A, SANITCHON J, et al. Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2016, 23(4): 467–77.

(责任编辑:姜媛媛)