

NaCl胁迫对19个苦荞品种生理特性及*FtNHX1*表达的影响

陆启环¹, 李发良², 张弢¹, 于延冲¹, 杨德翠¹, 高婷¹, 侯晓敏¹, 董春海¹, 杨洪兵^{1*}

¹青岛农业大学生命科学院, 山东省高校植物生物技术重点实验室, 山东青岛266109; ²四川省凉山州农业科学研究所高山作物研究站, 四川凉山616150

摘要:以‘晋荞2号’、‘迪苦1号’、‘西农9909’、‘西农9920’、‘西农9940’、‘西农9943’、‘黔苦2号’、‘黔苦3号’、‘黔苦4号’、‘黔苦5号’、‘黔苦7号’、‘昭苦1号’、‘昭苦2号’、‘西荞2号’、‘西荞3号’、‘云荞1号’、‘云荞2号’、‘九江苦荞’和‘榆6-21’等19个苦荞品种为实验材料, NaCl胁迫下测定相关耐盐生理指标, 并对耐盐基因*FtNHX1*表达量进行分析, 以筛选耐盐和盐敏感苦荞品种。结果表明, NaCl胁迫下‘黔苦3号’种子发芽率和幼苗SOD活性降低幅度较小, 幼苗质膜透性和MDA含量增加幅度较小, 说明盐胁迫下‘黔苦3号’生理特性较为稳定, 且耐盐基因*FtNHX1*在主要拒Na⁺部位表达量的增加幅度最大, 可以有效减少盐分向地上部运输; 而‘西农9909’幼苗质膜透性和MDA含量增加幅度较大, 说明盐胁迫下其膜系统受到很大伤害, 且幼苗叶绿素含量和SOD活性降低幅度较大。因此, 19个苦荞品种中‘黔苦3号’的耐盐性最强, 是耐盐品种; ‘西农9909’的耐盐性最差, 是盐敏感品种。

关键词: 苦荞; 盐胁迫; 生理特性; *FtNHX1*表达量; 耐盐品种; 盐敏感品种

荞麦在世界上广泛分布, 主要有2个栽培品种, 一个是甜荞(*Fagopyrum esculentum*), 另一个是苦荞(*Fagopyrum tataricum*)。苦荞又称乌麦、菠麦, 与人们所熟悉的“何首乌”和“大黄”等同属蓼科(Polygonaceae), 它不仅营养全面丰富, 而且具有保健价值和食疗功效, 是药食两用作物, 苦荞中芦丁(维生素P)含量是甜荞的几倍至十几倍, 芦丁能够软化血管、降低血脂和胆固醇, 对高血压和心血管病有较好的预防和治疗作用, 并具有控制和治疗糖尿病的功效(俞灵莺和李向荣2000; 林汝法2008)。

土壤盐渍化会导致土壤板结与肥力下降, 不利于农作物养分吸收, 盐渍化是限制植物生长发育较为严重的环境胁迫之一(林雷通等2009); 灌溉土壤中盐的积累是作物产量降低的主要因素(Zhu 2001)。据FAO统计, 全世界有8亿hm²盐渍化土地, 盐渍化是世界许多干旱和半干旱地区农业产量下降的主要原因(俞仁培和陈德明1999)。荞麦是一种耐逆性较强的作物, 特别表现在耐贫瘠、耐旱和耐盐等方面, 耐盐荞麦品种若能在盐碱地播种, 就可以充分利用盐渍化土地资源, 提高粮食产量。但目前来看耐盐荞麦品种的耐盐力有限, 即使在盐碱地播种, 经济效益也不高。本文以19个苦荞新品种为实验材料, 研究NaCl胁迫对种子发芽率、幼苗叶片质膜透性、MDA含量、叶绿素含量、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性及*FtNHX1*基因表达的影响, 通过6项指标的对比分析, 筛选耐

盐、中等耐盐及盐敏感苦荞品种, 为作物耐盐机制研究及充分利用盐渍地土壤资源提供依据。

材料与方法

1 实验材料

以19个苦荞[*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.]新品种为实验材料, 提供单位和特性见表1。

2 材料培养和处理

每个苦荞品种挑选121粒籽粒饱满种子, 1 g·L⁻¹高锰酸钾溶液消毒10 min, 蒸馏水吸涨5 h, 均匀撒放于垫有滤纸的培养皿。对照和盐胁迫组分别加入等量蒸馏水和100 mmol·L⁻¹ NaCl溶液, 以没过种子高度1/3为准, 26°C培养箱黑暗培养, 每天同一时间记录发芽数, 连续记录5 d, 计算发芽率。

另外分别挑选籽粒饱满种子, 10% NaClO溶液清洗6~7 min, 吐温水(200 mL去离子水中加3滴吐温水后灭菌)冲洗3次, 每次2 min, 26°C培养箱培养至种子萌发, 幼苗采用1/2Hoagland营养液培养, 每5 d更换一次营养液, 自然光照, 昼夜温度26°C/16°C, 相对湿度60%左右, 根据前期做的50、100、150和200 mmol·L⁻¹ NaCl处理的实验, 发现荞麦对NaCl的平均耐受浓度为100和150 mmol·L⁻¹, 因此选择对荞麦不会造成剧烈毒害又能使植株产生变化的100 mmol·L⁻¹为胁迫浓度。幼苗长至两叶一心期开始

收稿 2017-03-25 修定 2017-07-05

资助 国家自然科学基金(31371552)。

* 通讯作者(E-mail: hbyang@qau.edu.cn)。

表1 19个荞麦品种的提供单位和特性

Table 1 The providing units and characteristics of nineteen tartary buckwheat varieties

品种名	提供单位	特性
‘晋荞2号’	山西省农业科学院	生育期93 d, 株高120 cm, 籽粒褐色, 千粒重18.0 g; 抗旱、抗倒伏、耐瘠薄、田间生长势强、生长整齐、结实集中、落粒性中等
‘迪苦1号’	云南省迪庆州农业科学研究所	生育期87 d, 株高98 cm, 籽粒灰褐色, 千粒重20.0 g; 高产、抗病、抗倒伏、耐瘠薄、适应性强
‘西农9909’	西北农林科技大学	生育期90 d, 株高115 cm, 籽粒灰褐色, 千粒重18.5 g; 抗旱、抗倒伏、耐瘠薄、落粒轻、适应性强
‘西农9920’	西北农林科技大学	生育期88 d, 株高108 cm, 籽粒灰褐色, 千粒重17.9 g; 株型紧凑、抗旱、抗倒伏、落粒轻、耐瘠薄
‘西农9940’	西北农林科技大学	生育期93 d, 株高80 cm, 籽粒灰褐色, 千粒重20.6 g; 抗旱、抗倒伏、耐瘠薄、田间生长势强、生长整齐、结实集中、抗落粒
‘西农9943’	西北农林科技大学	生育期88 d, 株高115 cm, 籽粒黑色, 千粒重19.7g; 抗旱、抗倒伏、耐瘠薄、落粒轻、适应性强
‘黔苦2号’	贵州省威宁县农业科学研究所	生育期80 d, 株高95 cm, 籽粒灰色, 千粒重21.8 g; 矮秆、分枝少、花序柄短、适宜各种播种方式和密植、芦丁含量高
‘黔苦3号’	贵州省威宁县农业科学研究所	生育期90 d, 株高107 cm, 籽粒灰色, 千粒重 23.4 g; 幼茎淡绿、叶片浓绿肥大、不易落粒、抗病、抗旱、抗寒、适应性强、中熟品种
‘黔苦4号’	贵州省威宁县农业科学研究所	生育期83 d, 株高96 cm, 籽粒灰褐色, 千粒重20.2 g; 早熟、高产、矮秆、分枝多、籽粒大、淀粉含量高、出粉率高
‘黔苦5号’	贵州省威宁县农业科学研究所	生育期92 d, 株高121 cm, 籽粒灰色, 千粒重16.8 g; 中熟品种、株型松散、幼茎淡绿、叶片浓绿肥大、不易落粒、抗病、抗旱、抗寒、适应性强
‘黔苦7号’	贵州省威宁县农业科学研究所	生育期78 d, 株高109 cm, 籽粒灰黑色, 千粒重17.3 g; 早熟品种、株型松散、幼茎淡绿、叶片浓绿肥大、不易落粒、抗病、抗旱、抗寒、适应性强
‘昭苦1号’	云南省昭通市农业科学研究所	生育期90 d, 株高101 cm, 籽粒灰白色, 千粒重21.9 g; 株型紧凑、茎为圆形、稍有棱角、幼茎绿色、叶绿色、中早熟品种、结实率高、抗病能力强、抗倒伏、不易落粒、耐旱、生育期短
‘昭苦2号’	云南省昭通市农业科学研究所	生育期96 d, 株高111 cm, 籽粒灰白色, 千粒重23.9 g; 抗旱、抗倒伏、田间生长势强、生长整齐、结实集中、落粒性中等
‘西荞2号’	西昌学院	生育期78 d, 株高100 cm, 籽粒灰色, 千粒重20.8 g; 株型紧凑、矮秆型、叶和茎秆绿色、抗病能力强、抗倒伏、不易落粒、耐旱
‘西荞3号’	西昌学院	生育期85 d, 株高110 cm, 籽粒褐色, 千粒重20.5 g; 叶色浓绿、茎干绿色、抗倒伏、不易落粒、耐旱
‘云荞1号’	云南省农业科学研究院生物技	生育期88 d, 株高102 cm, 籽粒黑色, 千粒重17.4 g; 早熟、抗倒伏、术与种质资源研究所中高秆型、结实率高
‘云荞2号’	云南省农业科学研究院生物技	生育期86 d, 株高114 cm, 籽粒灰色, 千粒重19.8 g; 晚熟品种、株型紧凑直立、属中高秆型、耐寒、无病虫害
‘九江苦荞’	江西省九江市农业科学研究所	生育期80 d, 株高108 cm, 籽粒褐色, 千粒重20.2 g; 抗旱、抗倒伏、耐贫瘠、落粒轻、适应性强、防旱防渍
‘榆6-21’	榆林农业学校	生育期85 d, 株高96 cm, 籽粒黑色, 千粒重21.3 g; 抗旱、抗倒伏、耐寒、适应性强

100 mmol·L⁻¹ NaCl (Hoagland营养液配制)处理, 在阳光充足的天气处理2 d。处理3 d以上就会造成叶片的萎蔫, 不利于后续实验。取材测定相关指标。每个处理设3次重复。

3 生理指标测定

参照李锦树等(1983)的方法测定质膜透性; 参

照林植芳等(1984)的方法测定MDA含量; 参照高方胜和王明友(2011)的方法测定叶绿素含量; 参照李文卿等(2000)的方法测定SOD活性。

4 *FtNHX1*表达量分析

采用Trizol试剂盒(TakaRa)步骤提取组织RNA, 电泳检测质量, 分光光度计测定RNA浓度, 取等量

RNA进行反转录,合成cDNA,参考苦荞*FtNHX1*序列(GenBank登录号KY438929)设计引物,引物序列见表2。通过荧光定量PCR仪(Agilent Technologies Stratagene Mx3000p)进行实时荧光定量PCR,应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法(郭强等2015)计算*FtNHX1*基因的相对表达量。

表2 荧光定量PCR所用引物

Table 2 The primers for real-time PCR

引物	序列(5'→3')	目的片段/bp
<i>Actin</i> -F	GCTGGATTGCTGGAGATGATGC	196
<i>Actin</i> -R	CTTCTCCATGTCATCCAGTTGCT	
<i>FtNHX1</i> -F	CGTTGCTAGGACGCAATGTTCCA	190
<i>FtNHX1</i> -R	ACAGTCCACGTCGGATGCCTTAT	

5 数据处理

数据处理采用SPSS软件,进行标准偏差和差异显著性分析。

实验结果

1 NaCl胁迫对19个苦荞品种种子发芽率的影响

种子内部所有生理生化系统协调作用使胚的生长成为可能,而种子萌发和幼苗生长都以胚的生长为基础,因此对种子萌发指标的测定比其他生理生化指标都更能反映出种子的全貌(沈振荣等

2006)。从图1看出,19个苦荞品种对照组种子发芽率在90%左右,NaCl胁迫下种子发芽率呈明显下降趋势,‘黔苦5号’、‘黔苦7号’、‘西荞2号’和‘云荞1号’降低了30%以上,分别比对照下降了40.77%、32.51%、39.02%和49.35%,其中‘云荞1号’种子发芽率降低幅度最大;‘迪苦1号’、‘西农9909’、‘西农9940’和‘黔苦2号’的降低幅度属于中间水平,分别比对照下降了11.45%、19.36%、10.98%和11.37%;‘西农9920’、‘黔苦3号’、‘昭苦2号’和‘九江苦荞’的降低值在10%以内,分别比对照下降了8.47%、2.40%、5.62%和8.17%,且‘黔苦3号’和‘昭苦2号’的种子发芽率与对照无显著差异。以上结果说明,盐胁迫对‘黔苦3号’和‘昭苦2号’种子萌发阶段的影响较小,而‘云荞1号’种子萌发受盐胁迫的影响较大。

2 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片质膜透性的影响

高浓度NaCl会产生渗透胁迫和离子毒害,破坏质膜结构,细胞内离子大量外渗,造成细胞内离子不平衡,破坏细胞正常生理功能,质膜透性增大是作物受盐胁迫的原初伤害表现(杨洪兵和孙萍2012)。由图2可见,NaCl胁迫下‘西农9909’、‘西农9940’和‘西农9943’叶片质膜透性增加幅度较大,分别比对照增加了32.50%、49.12%和71.51%,‘西农9943’增加幅度最大,说明叶片质膜结构及选择

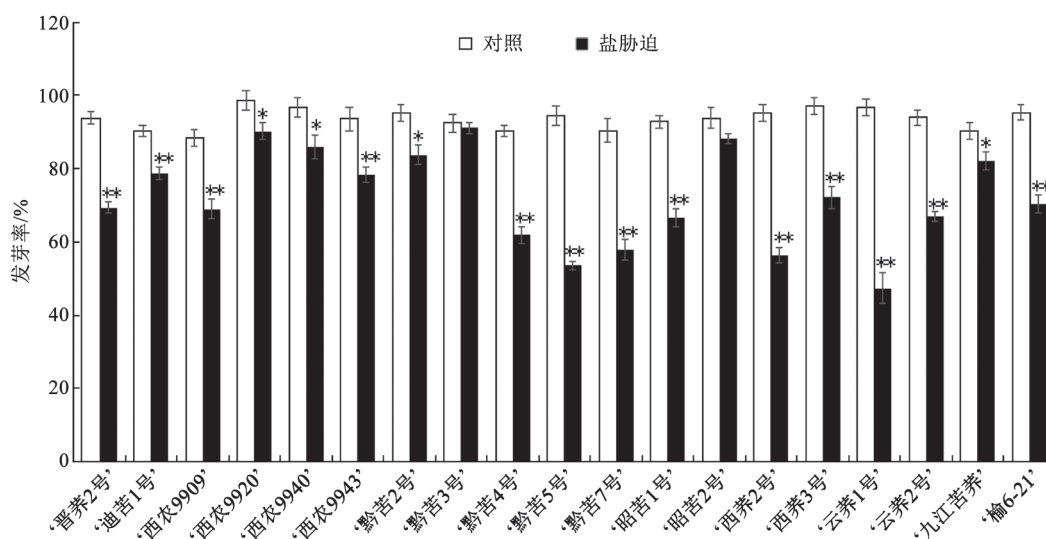


图1 NaCl胁迫对19个苦荞品种种子发芽率的影响

Fig.1 Effect of NaCl stress on seeds germination rate of nineteen tartary buckwheat varieties

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$; 图2~7同此。

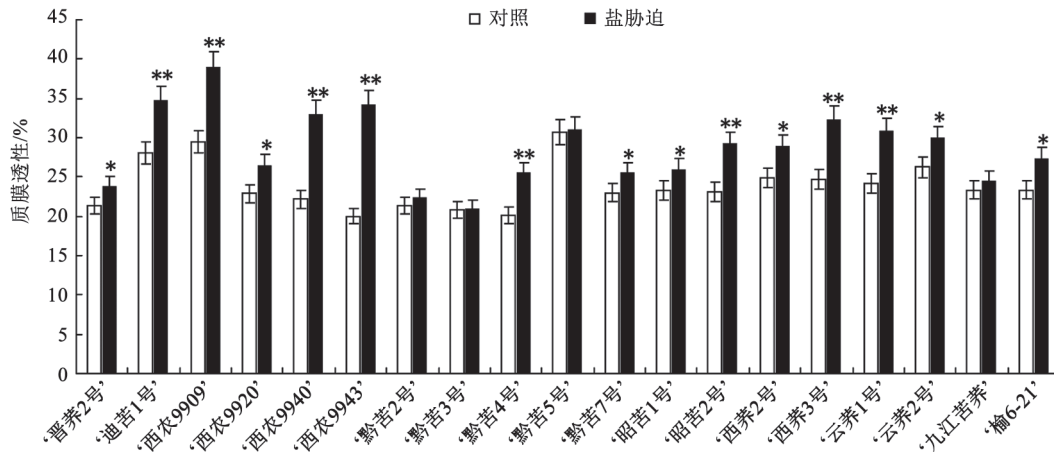


图2 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片质膜透性的影响

Fig.2 Effect of NaCl stress on leaf plasmalemma permeability of nineteen tartary buckwheat varieties

透性被严重破坏;‘迪苦1号’、‘黔苦4号’、‘昭苦2号’、‘西荞3号’和‘云荞1号’叶片质膜透性增加幅度处于中间水平,分别比对照增加了24.10%、27.20%、26.48%、23.27%和28.24%;而‘黔苦2号’、‘黔苦3号’、‘黔苦5号’和‘九江苦荞’4个苦荞品种的叶片质膜透性与对照相比增加不显著,说明盐胁迫对这4个苦荞品种叶片的伤害较小。

3 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片MDA含量的影响

适宜环境条件下,植物细胞内自由基产生和清除处于动态平衡状态,细胞内活性氧浓度很低,不会对细胞产生伤害作用;但盐胁迫下植物体内自由基产生和清除的平衡被破坏,自由基累积,导致膜

脂中不饱和脂肪酸发生过氧化作用,对植物膜系统产生伤害。膜脂过氧化主要产物是MDA,MDA含量一定程度上可作为膜脂过氧化程度的重要指标,代表膜伤害程度大小(丁顺华等2005)。图3显示,NaCl胁迫下19个苦荞品种叶片MDA含量有不同程度的增加,‘西农9909’、‘西农9920’和‘昭苦2号’增加幅度较大,分别比对照增加了78.26%、150.80%和244.54%;‘黔苦4号’、‘昭苦1号’和‘西荞3号’增加幅度相对较小,分别比对照增加了22.72%、20.15%和16.70%;而‘黔苦3号’和‘九江苦荞’叶片MDA含量与对照相比增加不显著,说明盐胁迫对这两个苦荞品种叶片膜脂过氧化伤害较小。

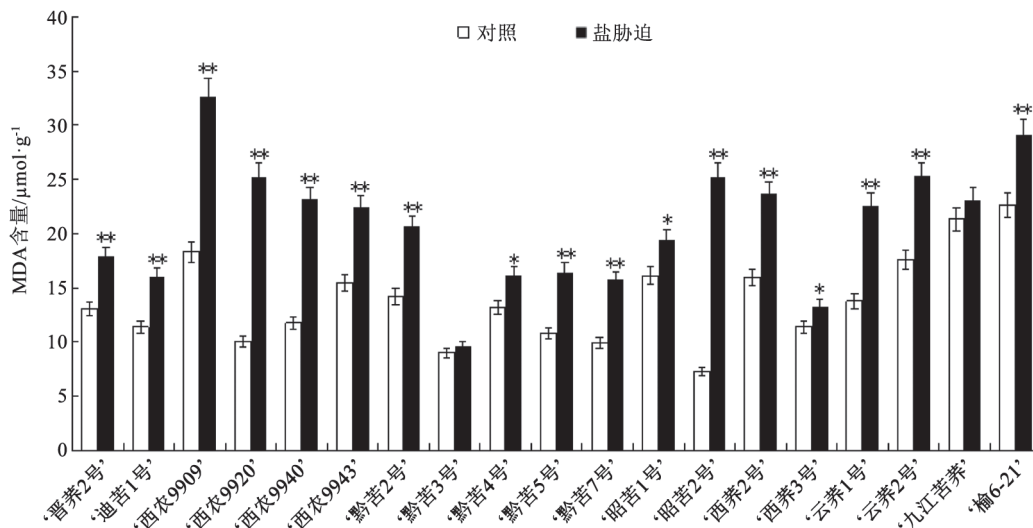


图3 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片MDA含量的影响

Fig.3 Effect of NaCl stress on leaf MDA contents of nineteen tartary buckwheat varieties

4 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片叶绿素含量的影响

叶绿素是植物光合作用的重要物质, 叶绿素含量高低能客观反映植物叶片光合能力强弱, 研究表明, 高盐度胁迫下桉树叶片的叶绿素含量显著降低(翁锦周等2007)。图4可见, NaCl胁迫下‘晋荞2号’、‘迪苦1号’、‘西农9909’、‘西农9920’、‘西荞3号’和‘榆6-21’叶片叶绿素含量显著降低, 分别比对照降低了51.95%、54.83%、71.91%、52.25%、52.42%和61.41%, 其中‘西农9909’降低幅度最大, 说明盐胁迫严重降低了‘西农9909’叶片的光合能力; ‘黔苦3号’、‘昭苦1号’和‘昭苦2号’叶片叶绿素含量降低幅度相对较小, 分别比对照降低了13.20%、17.58%和16.25%; 而‘西农9940’和‘云荞2号’叶片叶绿素含量与对照相比无显著降低, 说明盐胁迫对这两个苦荞品种叶片叶绿素含量影响较小。

5 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片SOD活性的影响

SOD能催化超氧阴离子自由基的歧化反应, 从而清除超氧阴离子自由基, 减少其对膜结构和功能的破坏, 在维护细胞活性氧代谢平衡中起重要作用, SOD还能在一定程度上抑制活性氧对DNA结构的损伤, 该酶活性与植物抗逆性密切相关(耶兴元等2004)。如图5所示, NaCl胁迫下‘西农9909’和‘西荞3号’叶片SOD活性降低幅度较大, 分别比对照降低了37.71%和39.44%; ‘迪苦1号’、‘西农9920’、‘黔苦5号’、‘黔苦7号’、‘昭苦1号’和‘云荞1

号’叶片SOD活性降低幅度相对较小, 分别比对照降低了12.14%、13.83%、15.51%、18.41%、9.61%和10.69%; 而‘西农9940’、‘黔苦3号’、‘昭苦2号’和‘云荞2号’叶片SOD活性与对照相比无显著差异, 说明盐胁迫对这几个苦荞品种叶片抗氧化酶活性的影响较小。

6 NaCl胁迫对19个苦荞品种根部*FtNHX1*表达量的影响

根部是植物吸收 Na^+ 的首要 and 重要部位, Na^+ 从土壤溶液进入植物根系表皮和皮层细胞的过程受 Na^+ 浓度差或电势差控制, Na^+ 在根部的净积累是 Na^+ 被动流入与主动输出达到动态平衡的结果, 耐盐植物限制 Na^+ 向地上部转运与其根部对 Na^+ 的滞留有密切关系(聂莉莉等2008)。图6显示, NaCl胁迫下, ‘西农9920’、‘黔苦3号’、‘黔苦5号’和‘榆6-21’根部*FtNHX1*表达量增加幅度较大, 分别比对照增加了875.00%、1684.62%、690.00%和120.00%, 特别是‘黔苦3号’增加幅度最大; ‘迪苦1号’、‘西农9940’、‘黔苦2号’、‘黔苦4号’、‘黔苦7号’、‘昭苦1号’、‘昭苦2号’、‘西荞2号’、‘云荞1号’、‘云荞2号’和‘九江苦荞’根部*FtNHX1*表达量与对照无显著差异, 说明盐胁迫对这些苦荞品种的影响较小; 而‘晋荞2号’、‘西农9943’和‘西荞3号’根部*FtNHX1*表达量显著降低, 分别比对照降低了67.00%、56.82%和78.57%, 说明盐胁迫下这三个苦荞品种根部对 Na^+ 的滞留能力明显降低。

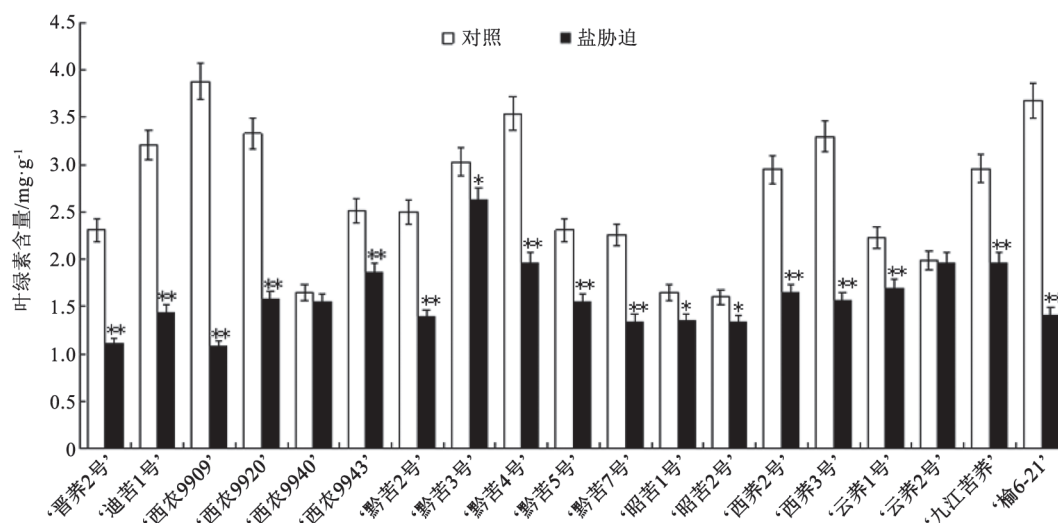


图4 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片叶绿素含量的影响

Fig.4 Effect of NaCl stress on leaf chlorophyll contents of nineteen tartary buckwheat varieties

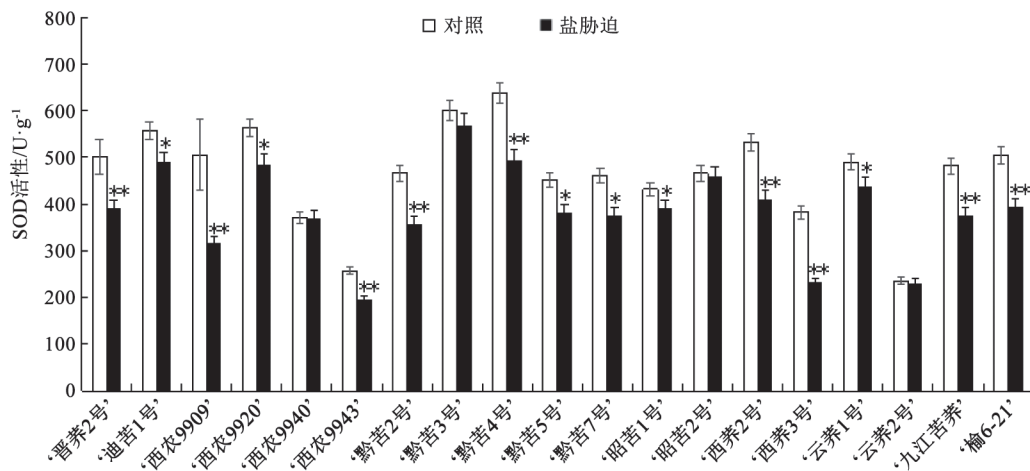
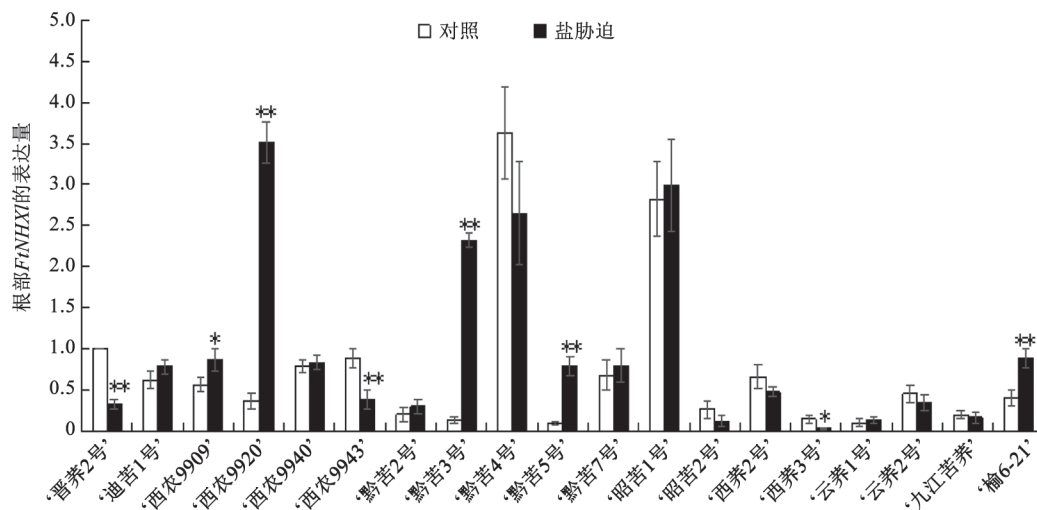


图5 NaCl胁迫对19个苦荞品种叶片SOD活性的影响

Fig.5 Effect of NaCl stress on leaf SOD activities of nineteen tartary buckwheat varieties

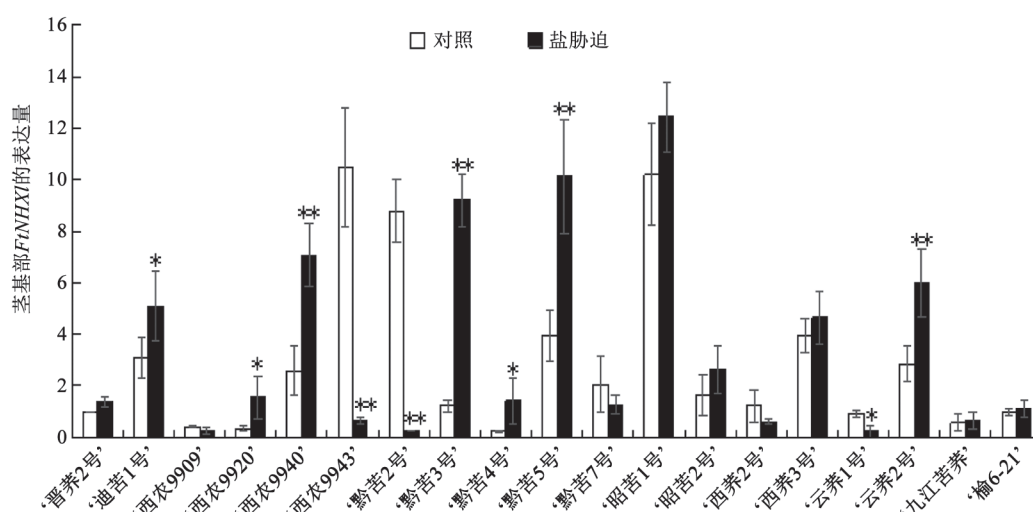
图6 NaCl胁迫对19个苦荞品种根部*FtNHX1*表达量的影响Fig.6 Effect of NaCl stress on relative expression of *FtNHX1* in roots of nineteen tartary buckwheat varieties

7 NaCl胁迫对19个苦荞品种茎基部*FtNHX1*表达量的影响

Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是生物界普遍存在的负责 Na^+ 、 H^+ 交换的一种跨膜运输蛋白,在植物中扮演重要角色,是植物耐盐的关键因子(曾华宗和罗利军2003)。拟南芥中已克隆到6个*NHX*基因,即*AtNHX1-6*,这些基因表现出不同时空表达模式,在不同器官发挥着各自功能(Yokoi等2002)。由图7可以看出,盐胁迫下‘西农9940’、‘黔苦3号’、‘黔苦5号’和‘云芥2号’茎基部*FtNHX1*表达量增加幅度较大,分别比对照增加了174.03%、661.98%、155.56%和109.82%,其中‘黔苦3号’增加幅度最大;

‘晋芥2号’、‘西农9909’、‘黔苦7号’、‘昭苦1号’、‘昭苦2号’、‘西芥2号’、‘西芥3号’、‘九江苦芥’和‘榆6-21’茎基部*FtNHX1*表达量与对照无显著差异;而‘西农9943’、‘黔苦2号’和‘云芥1号’茎基部*FtNHX1*表达量显著降低,分别比对照降低了94.17%、97.27%和72.83%,说明盐胁迫下这三个苦荞品种的茎基部的拒 Na^+ 能力明显降低。

综合分析得出,盐胁迫下‘黔苦3号’种子发芽率和幼苗SOD活性降低幅度较小,幼苗质膜透性和MDA含量增加幅度较小,耐盐基因*FtNHX1*在主要拒 Na^+ 部位表达量的增加幅度最大;而‘西农9909’幼苗质膜透性和MDA含量增加幅度较大,

图7 NaCl胁迫对19个苦荞品种茎基部*FtNHX1*表达量的影响Fig.7 Effect of NaCl stress on relative expression of *FtNHX1* in stem base of nineteen tartary buckwheat varieties

幼苗叶绿素含量和SOD活性降低幅度较大。因此, 19个苦荞品种中‘黔苦3号’的耐盐性最强, 是耐盐品种, 耐盐性仅次于‘黔苦3号’的有‘九江苦荞’、‘黔苦5号’、‘昭苦2号’和‘云荞2号’; 而‘西农9909’的耐盐性最差, 是盐敏感品种, 其他对盐较敏感品种有‘西农9943’、‘晋荞2号’、‘西荞3号’和‘云荞1号’; ‘迪苦1号’、‘西农9920’、‘西农9940’、‘黔苦2号’、‘黔苦4号’、‘黔苦7号’、‘昭苦1号’、‘西荞2号’和‘榆6-21’等9个品种为中等耐盐品种。

讨 论

盐胁迫可直接或间接影响植物生理代谢和生长发育(杨洪兵和孙萍2012); 研究表明, 盐胁迫下质膜透性、MDA含量、抗氧化酶活性及净光合速率变化幅度与植物耐盐性高低密切相关, 可作为植物耐盐性鉴定的生理指标(战伟龔等2009a, 2009b)。多数植物在盐胁迫下种子萌发受到抑制, 在无盐条件下萌发较好(Unga 1978), ‘黔苦3号’在NaCl胁迫下仍保持较高的种子发芽率, 说明其种子阶段的耐盐性较强。质膜透性及膜脂过氧化产物MDA含量是植物膜系统稳定性的重要指标, 膜系统稳定性与植物抗逆性密切相关(郭启芳等2004)。本文中, NaCl胁迫下‘黔苦3号’幼苗质膜透性和MDA含量变化幅度较小, 说明盐胁迫下其膜系统稳定性较好, 而‘西农9909’幼苗质膜透性和

MDA含量变化幅度较大, 说明盐胁迫下其膜系统受到很大的伤害。

叶绿素是植物光合作用的重要物质, 也是反映叶片光合能力的重要指标。SOD能清除细胞内氧自由基, 是氧自由基代谢的第一个关键酶(Kalir和Poljakoff-Mayber 1981); SOD是细胞内的重要保护酶, 该酶的活性与植物抗逆性密切相关(白爽等2006)。本文中, NaCl胁迫下‘黔苦3号’幼苗SOD活性降低不显著, 保持了较高的清除细胞内氧自由基的能力; 而‘西农9909’幼苗叶绿素含量和SOD活性均显著降低, 说明‘西农9909’幼苗对盐胁迫较敏感。

植物耐盐机理主要是 Na^+ 的外排和区隔化, 这些已经在拟南芥和西红柿中得到证实(Apse等1999; Zhang和Blumwald 2001)。在同等盐胁迫环境下, 在非盐生和盐生植株中过表达*NHX1*基因后均能提高植株的耐盐性(Li等2008)。相似的结果也在转拟南芥*NHX1*基因的水稻中表现出来(Ohta等2002)。所以, Na^+/H^+ 逆向转运蛋白对植物的耐盐性起着重要作用, Na^+ 通过 Na^+/H^+ 逆向转运在液泡中积累是盐生植物和耐盐甜土植物的主要特征(李翠2010)。盐胁迫下 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白活性的增加很可能是诱导了 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白合成的结果。本文中, NaCl胁迫下‘黔苦3号’幼苗根部和茎基部*FtNHX1*的表达量增加幅度最大, 说明盐胁迫明显诱导‘黔苦3号’ Na^+/H^+ 逆向转运蛋白合成, 因为

根部和茎基部是荞麦主要拒 Na^+ 部位(马德源等2011), 盐胁迫下‘黔苦3号’幼苗主要拒 Na^+ 部位 $FtNHX$ 表达量的显著增加, 有利于减少盐分向地上部运输, 耐盐性强。

参考文献

- Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter in *Arabidopsis*. *Science*, 285 (5431): 1256–1258
- Bai S, Song QP, Liu GF, Jiang Y, Lin SJ (2006). The analysis of salt tolerance of transgenic *Populus simonii* XP. *nigra* pollen plantlets with *betA* gene. *Mol Plant Breeding*, 4 (1): 41–44 (in Chinese with English abstract) [白爽, 宋启平, 刘桂丰, 姜莹, 林士杰 (2006). 转 β etA基因的小黑杨花粉植株耐盐性分析. 分子植物育种, 4 (1): 41–44]
- Ding SH, Li YY, Wang BS (2005). Effect of exogenous trehalose on salt tolerance of wheat seedlings. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 25 (3): 513–518 (in Chinese with English abstract) [丁顺华, 李艳艳, 王宝山 (2005). 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响. 西北植物学报, 25 (3): 513–518]
- Gao FS, Wang MY (2011). Effects of salt stress on physiological characteristics of fennel. *J Henan Agric Sci*, 40 (12): 126–128, 132 (in Chinese with English abstract) [高方胜, 王明友 (2011). 盐胁迫对茴香生理特性的影响. 河南农业科学, 40 (12): 126–128, 132]
- Guo Q, Meng L, Li SS, Zhang L, Mao PC, Tian XX (2015). Cloning of *Iris lactea* var. *chinensis* *NHX* and analysis of gene expression. *Plant Physiol J*, 51 (11): 2006–2012 (in Chinese with English abstract) [郭强, 孟林, 李杉杉, 张琳, 毛培春, 田小霞 (2015). 马蔺 NHX 基因的克隆与基因表达分析. 植物生理学报, 51 (11): 2006–2012]
- Guo QF, Ma QQ, Sun C, Lü SZ, Zhang QM, Wang W (2004). Effects of exogenous glycinebetaine on the salt-tolerance of wheat. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 24 (9): 1680–1686 (in Chinese with English abstract) [郭启芳, 马千全, 孙灿, 吕守忠, 张青蒙, 王玮 (2004). 外源甜菜碱提高小麦幼苗抗盐性的研究. 西北植物学报, 24 (9): 1680–1686]
- Kalir A, Poljakoff-Mayber A (1981). Changes in activity of malate dehydrogenase, catalase, peroxidase and superoxide dismutase in leaves of *Halimione portulacoides* (L.) Aellen exposed to high sodium chloride concentrations. *Ann Bot*, 47: 75–85
- Li C (2010). Isolation, functional characterization and expression pattern of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene *FtNHX* from *F. tartaricum* Gaertn [Master's thesis]. Shanghai: East China Normal University (in Chinese with English abstract) [李翠 (2010). 荞麦 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 $FtNHX$ 的克隆、功能验证及表达分析(硕士学位论文). 上海: 华东师范大学]
- Li JS, Wang HC, Wang WY, Zhu YF (1983). Effect of drought on the permeability and membrane lipid composition from maize leaves. *Acta Phytophysiol Sin*, 9 (3): 223–229 (in Chinese with English abstract) [李锦树, 王洪春, 王文英, 朱亚芳 (1983). 干旱对玉米叶片细胞渗透性及膜脂的影响. 植物生理学报, 9 (3): 223–229]
- Li JY, He XW, Xu L, Zhou J, Wu P, Shou HX, Zhang FC (2008). Molecular and functional comparisons of the vacuolar Na^+/H^+ exchangers originated from glycophytic and halophytic species. *J Zhejiang Univ (Sci B)*, 9 (2): 132–140
- Li WQ, Pan TG, Ke YQ, Chen FX (2000). Effects of soil water on metabolism of active oxygen in leaves of sweet potato seedling. *Fujian J Agric Sci*, 15 (4): 45–50 (in Chinese with English abstract) [李文卿, 潘廷国, 柯玉琴, 陈凤翔 (2000). 土壤水分胁迫对甘薯苗期活性氧代谢的影响. 福建农业学报, 15 (4): 45–50]
- Lin LT, Tong DW, Chen ZM (2009). Research progress of the effects of soil salinization on physiology and biochemistry of tobacco. *J Hebei Agric Sci*, 13 (11): 6–7, 10 (in Chinese with English abstract) [林雷通, 童德文, 陈郑盟 (2009). 土壤盐渍化对烟草生理生化影响的研究进展. 河北农业科学, 13 (11): 6–7, 10]
- Lin RF (2008). Exerting the advantages of tartary buckwheat growing and strengthening its industry. *Crops*, (5): 1–4 (in Chinese) [林汝法 (2008). 发挥苦荞种植优势 做大做强苦荞产业. 作物杂志, (5): 1–4]
- Lin ZF, Li SS, Lin GZ, Sun GC, Guo JY (1984). Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in relation to senescence of rice leaves. *Acta Bot Sin*, 26 (6): 605–615 (in Chinese with English abstract) [林植芳, 李双顺, 林桂珠, 孙谷畴, 郭俊彦 (1984). 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 26 (6): 605–615]
- Ma DY, Zhan WY, Yang HB, Yi YJ (2011). Study on main Na^+ exclusion localization and Na^+/H^+ antiporter activity of buckwheat. *Sci Agric Sin*, 44 (1): 185–191 (in Chinese with English abstract) [马德源, 战伟龔, 杨洪兵, 衣艳君 (2011). 荞麦主要拒 Na^+ 部位及其 Na^+/H^+ 逆向转运活性的研究. 中国农业科学, 44 (1): 185–191]
- Nie LL, Zhang Y, Liu ZQ (2008). Mechanism of salt tolerance in plant. *Tianjin Agric Sci*, 14 (1): 6–9 (in Chinese with English abstract) [聂莉莉, 张越, 刘仲齐 (2008). 植物抵御盐害的生理机制. 天津农业科学, 14 (1): 6–9]
- Ohta M, Hayashi Y, Nakashima A, Hamada A, Tanaka A, Nakamura T, Hayakawa T (2002). Introduction of a Na^+/H^+ antiporter gene from *Atriplex gmelini* confers salt tolerance to rice. *FEBS Lett*, 532 (3): 279–282
- Shen ZR, Yang WR, Xu XM (2006). Effect of salt stress on germination of Alfalfa seeds fengmei. *Seed*, 25 (4): 34–37 (in Chinese with English abstract) [沈振荣, 杨万仁, 徐秀梅 (2006). 不同盐分胁迫对苜蓿种子萌发的影响. 种子, 25 (4): 34–37]
- Unga IA (1978). Halophyte seed germination. *Bot Rev*, 44 (2): 233–264
- Weng JZ, Lin JB, Lin JG, Zhang MK, Chen YK, Zeng RQ, Wu SJ (2007). Effect of salt stress on the growth and the content of

- chlorophyll in seedling leaves of *Eucalyptus*. Chin J Trop Crops, 28 (4): 15–20 (in Chinese with English abstract) [翁锦周, 林江波, 林加耕, 张梅坤, 陈永快, 曾日秋, 吴水金(2007). 盐胁迫对桉树幼苗的生长及叶绿素含量的影响. 热带作物学报, 28 (4): 15–20]
- Yang HB, Sun P (2012). Effects of exogenous salicylic acid and jasmonic acid on physiological traits of salt tolerance in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seedlings. Plant Physiol J, 48 (8): 767–771 (in Chinese with English abstract) [杨洪兵, 孙萍(2012). 外源水杨酸和茉莉酸对荞麦幼苗耐盐生理特性的效应. 植物生理学报, 48 (8): 767–771]
- Ye XY, Ma FW, Wang SC, Liang D (2004). Physiological effects of kiwifruit lamina under high temperature stress. J Northwest Sci-Tech Univ Agric For (Nat Sci Ed), 32 (12): 33–37 (in Chinese with English abstract) [耶兴元, 马锋旺, 王顺才, 梁东(2004). 高温胁迫对猕猴桃幼苗叶片某些生理效应的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 32 (12): 33–37]
- Yokoi S, Quintero F J, Cubero B, Ruiz MT, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (2002). Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. Plant J, 30 (5): 529–539
- Yu LY, Li XR (2000). Research advances of plant flavonoids on anti-diabetic and complications. For Med Sci Sec Hyg, 27 (6): 331–335 (in Chinese) [俞灵莺, 李向荣(2000). 植物黄酮类抗糖尿病及其并发症的研究进展. 国外医学卫生学分册, 27 (6): 331–335]
- Yu RP, Chen DM (1999). Development and utilization of saline soil resources in China. Chinese J Soil Sci, 30 (4): 158–159 (in Chinese) [俞仁培, 陈德明(1999). 我国盐渍土资源及其开发与利用. 土壤通报, 30 (4): 158–159]
- Zeng HZ, Luo LJ (2003). A review on plant drought and salt tolerance gene. J Plant Gen Res, 4 (3): 270–273 (in Chinese with English abstract) [曾华宗, 罗利军(2003). 植物抗旱、耐盐基因概述. 植物遗传资源学报, 4 (3): 270–273]
- Zhan WY, Qiu NW, Zhao FG, Ma DY, Yang HB (2009a). Effect of salt and water stress on physiological characters of different buckwheat varieties. Chin Agric Sci Bull, 25 (17): 129–132 (in Chinese with English abstract) [战伟龔, 邱念伟, 赵方贵, 马德源, 杨洪兵(2009a). 盐和水胁迫对不同荞麦品种生理特性的影响. 中国农学通报, 25 (17): 129–132]
- Zhan WY, Zhang XJ, Yang DC, Ma DY, Yang HB (2009b). Effect of NaCl and iso-osmotic PEG on SOD and APX activity in *Fagopyrum esculentum* Moench. Jiangsu Agric Sci, (5): 101–102 (in Chinese) [战伟龔, 张学杰, 杨德翠, 马德源, 杨洪兵(2009b). NaCl和等渗PEG对荞麦SOD及APX活性的影响. 江苏农业科学, (5): 101–102]
- Zhang HX, Blumwald E (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. Nat Biotech, 19 (8): 765–768
- Zhu JK (2001). Plant salt tolerance. Trends Plant Sci, 6 (2): 66–71

Effect of NaCl stress on physiological characteristics and *FtNHX1* expression of nineteen tartary buckwheat varieties

LU Qi-Huan¹, LI Fa-Liang², ZHANG Tao¹, YU Yan-Chong¹, YANG De-Cui¹, GAO Ting¹, HOU Xiao-Min¹, DONG Chun-Hai¹, YANG Hong-Bing^{1,*}

¹Key Laboratory of Plant Biotechnology in Universities of Shandong, College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; ²Research Station of Alpine Crop, Department of Agriculture and Science, Liangshan, Sichuan 616150, China

Abstract: The nineteen tartary buckwheat varieties including ‘Jinqiao No.2’, ‘Diku No.1’, ‘Xinong 9909’, ‘Xinong 9920’, ‘Xinong 9940’, ‘Xinong 9943’, ‘Qianku No.2’, ‘Qianku No.3’, ‘Qianku No.4’, ‘Qianku No.5’, ‘Qianku No.7’, ‘Shaoku No.1’, ‘Shaoku No.2’, ‘Xiqiao No.2’, ‘Xiqiao No.3’, ‘Yunqiao No.1’, ‘Yunqiao No.2’, ‘Jiujiang tartary buckwheat’ and ‘Yu 6-21’ were used as the experimental materials. Through determining the physiological indexes of salt tolerance and analyzing the expressions of salt tolerance gene *FtNHX1* under NaCl stress to select the salt tolerant and salt sensitive tartary buckwheat variety. The results showed that the seeds germination rate and seedlings SOD activity of ‘Qianku No.3’ were decreased slightly under NaCl stress, and the seedlings plasmalemma permeability and MDA content were increased slightly. These indicated that the physiological characteristics of ‘Qianku No.3’ were smoothly changed under salt stress, and the expression of *FtNHX1* in the main Na⁺ exclusion localization increased obviously, which could effectively prevent the salt transport to shoot. While the seedlings plasmalemma permeability and MDA content of ‘Xinong 9909’ were increased greatly, indicating the membrane system was harmed greatly under salt stress, and the seedlings chlorophyll content and SOD activity were decreased significantly. Therefore, ‘Qianku No.3’ was the most salt tolerant one among the nineteen tartary buckwheat varieties, which was a salt-tolerant variety, while ‘Xinong 9909’ was a salt-sensitive variety.

Key words: tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*); salt stress; physiological characteristics; relative expression of *FtNHX1*; salt tolerant variety; salt sensitive variety

Received 2017-03-25 Accepted 2017-07-05

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31371552).

*Corresponding author (E-mail: hbyang@qau.edu.cn).