

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2023.24242

盐胁迫对花生幼苗离子动态及耐盐基因表达的影响

徐 扬¹ 张 岱² 康 涛³ 温赛群⁴ 张冠初¹ 丁 红¹ 郭 庆¹
秦斐斐¹ 戴良香^{1,*} 张智猛^{1,*}

¹ 山东省花生研究所, 山东青岛 266100; ² 河北农业大学植保学院, 河北保定 071001; ³ 泰安市农业科学院, 山东泰安 271001; ⁴ 河北省农林科学院, 河北石家庄 050050

摘 要: 不同花生品种的耐盐能力各有差异, 本研究以耐盐花生品种花育 25 (Huayu 25, HY25)和盐敏感品种花育 20 (Huayu 20, HY20)为材料, 利用非损伤微测技术, 测定盐胁迫下花生幼苗根尖中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 Cl^- 的流速; 并同期检测了幼苗的生长性状、主要耐盐基因的表达及渗透调节物质(可溶性糖、脯氨酸)含量的变化, 以明确花生的耐盐能力与离子吸收、转运及抗逆调控的关系。结果表明: (1) 盐胁迫下 Na^+ 内流减弱, 外排速率增加, K^+ 内流提高, 但是相对而言, HY25 的 Na^+ 外排速率及 K^+ 内流速率均高于 HY20, 表明 HY25 通过排 Na^+ 保 K^+ 提高耐盐性; (2) 盐胁迫促进 Ca^{2+} 迅速内流, 并且耐盐品种比盐敏感品种 Ca^{2+} 内流速率更高, 可能与耐盐有关; (3) 盐胁迫导致两品种 NO_3^- 外排, 但耐盐品种 HY25 的外排流速更低, 表明 HY25 可通过减缓 NO_3^- 的流失以抵御盐胁迫的危害; (4) 盐胁迫促使耐盐品种 HY25 Cl^- 外排, 但盐敏感品种 Cl^- 的内流速率提高, 表明 HY25 可通过加快 Cl^- 的外排减轻 Cl^- 的毒害; (5) 盐胁迫显著诱导耐盐品种 HY25 耐盐相关基因 *AhNHX1*、*AhHAI*、*AhSAMDC1*、*AhLeaD* 的表达, 可帮助其提高盐耐受性。综上, HY25 的高耐盐能力与较强的离子稳态和较高的耐盐基因表达量密切相关。明确盐胁迫下花生根系的离子流动规律和抗逆机制, 将为改善盐碱地花生出苗、立苗、健苗及其调控技术的建立提供理论支撑。

关键词: 花生; 盐胁迫; 动态离子流; 耐盐基因; 非损伤微测技术

Effects of salt stress on ion dynamics and the relative expression level of salt tolerance genes in peanut seedlings

XU Yang¹, ZHANG Dai², KANG Tao³, WEN Sai-Qun⁴, ZHANG Guan-Chu¹, DING Hong¹, GUO Qing¹, QIN Fei-Fei¹, DAI Liang-Xiang^{1,*}, and ZHANG Zhi-Meng^{1,*}

¹ Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, Shandong, China; ² College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei, China; ³ Tai'an Academy of Agricultural Sciences, Tai'an 271001, Shandong, China; ⁴ Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050050, Hebei, China

Abstract: Different peanut varieties have different salt tolerance. In this study, to determine the flow rates of ions Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , NO_3^- , and Cl^- in root tips of peanut seedlings under salt stress via Non-invasive Micro-test technique, a salt-tolerant peanut variety Huayu 25 (HY25) and a salt-sensitive variety Huayu 20 (HY20) were used as the experimental materials. The growth traits, the relative expression level of major salt tolerance genes, and the contents of osmotic regulatory substances (soluble sugar and proline) were also measured to establish the difference of ion absorption and stress resistance regulation in different varieties. The results showed as follows: (1) Under NaCl stress, Na^+ influx was inhibited, and its efflux increased, but promoted the influx of K^+ . The efflux rate of Na^+ and influx rate of K^+ in HY25 were higher than HY20, which may improve salinity tolerance by preserving K^+ and discharging Na^+ . (2) Salt stress promoted Ca^{2+} influx, and the Ca^{2+} influx rate of salt-tolerant varieties was higher than the salt-sensitive varieties, which might be related to salt tolerance. (3) NO_3^- exhibited efflux in both varieties under salt stress, but the

本研究由国家自然科学基金项目(31971856, 31901574, 31971854)和山东省现代农业产业技术体系项目(SDAIT-04-06)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31971856, 31901574, 31971854) and the Modern Agricultural Industry Technical System of Shandong Province (SDAIT-04-06).

* 通信作者(Corresponding authors): 张智猛, E-mail: qinhdao@126.com; 戴良香, E-mail: liangxiangd@163.com

第一作者联系方式: E-mail: xy52120092661@163.com

Received (收稿日期): 2022-10-28; Accepted (接受日期): 2023-02-21; Published online (网络出版日期): 2023-03-15.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20230314.1600.002.html>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

efflux rate of the salt-tolerant variety HY25 was lower, indicating that HY25 could resist the harm of salt stress by slowing the loss of NO_3^- . (4) Salt stress induced Cl^- efflux in HY25 but influx in salt-sensitive variety, indicating that HY25 could reduce the toxicity of Cl^- by accelerating the efflux of Cl^- . (5) Salt stress significantly up-regulated the relative expression level of salt-tolerant genes *AhNHX1*, *AhHAI*, *AhSAMDC1*, and *AhLeaD* in salt-tolerant variety HY25, which could help improve its salt tolerance. Clarifying the dynamic changes of root ion flow and resistance mechanism under salt stress can provide the theoretical support for improving the emergence, establishment, and development of peanut seedlings in saline-alkali land and the establishment of regulation technology.

Keywords: peanut; salt stress; dynamic ion; salt tolerance genes; non-invasive micro-test technique (NMT)

土壤盐渍化日趋严重,已经影响到农业安全、生态环境、资源利用等领域,是限制农作物生长和产量提高的最严峻的胁迫之一^[1]。据统计全球有近 20% 的耕地受到不同程度盐碱化的影响^[2],造成超过 20% 的粮食减产,因此开发利用盐碱地已刻不容缓^[3]。花生是重要的油料和经济作物,并具中等耐盐、根瘤固氮、抗旱耐瘠等特点,发展盐碱地花生产业对优化农业结构、提高农民收入、促进农业可持续发展,以及提高花生种植面积,保障我国食用油脂安全具有重要的现实意义。花生芽期和幼苗期对土壤盐分较为敏感^[4],盐碱地高盐分会导致花生出苗迟、幼苗整齐度差、荚果不饱满、产量低而不稳等。盐碱土中主要包含由 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 NO_3^- 、 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 组成的不同形式的无机盐,其中毒害最严重的是 Na^+ 和 Cl^- ^[5]。目前科研工作者已围绕盐胁迫下花生品种耐盐型鉴定^[6-7]、栽培关键技术优化^[8]、养分吸收运转^[9]、光合衰老生理特性^[10]、种子际和根际菌群群落结构分析等宏观或微观方向进行了深度研究^[11],但关于盐胁迫下花生根系的离子转运规律并没有明确解析。本研究重点关注盐胁迫下花生根系中的 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 Cl^- 的动态流、植株渗透物质含量的波动、及耐盐基因表达的规律变化,以明确盐胁迫下根系的离子流动态变化规律及与抗逆的关系,为保障盐碱地花生出苗、立苗、健苗及其调控技术的建立提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为耐盐花生品种 HY25 (Huayu 25, HY25) 和盐敏感品种 HY20 (Huayu 20, HY20)^[6-7]。

1.2 试验方法

1.2.1 花生幼苗培养 选取大小均一、饱满无破损的花生种子,用次氯酸钠消毒 10 min,再用去离子水冲洗 5~6 次,将种子均匀置于铺有 2 层滤纸的塑料盆中,加入适量蒸馏水后于 27℃ 光照培养箱中暗培养至发芽,设置光周期为 12 h/12 h (黑暗/光照),

昼夜温度为 25℃/20℃。待子叶打开、芯叶长出后,用 1/2 Hoagland 营养液培养(每隔 2 d 换一次培养液),培养 2 周后挑选长势一致的幼苗 150 株,分别在 0 mmol L⁻¹ NaCl (CK) 和 150 mmol L⁻¹ NaCl 处理 24 h,取材进行各离子的瞬时流速测定(3 次生物学重复)。对照样品命名为 HY20CK 和 HY25CK; 盐胁迫处理样品命名为 HY20S 和 HY25S。

1.2.2 RNA 提取和 qRT-PCR 检测 用 TRIzol 方法提取植株的总 RNA,然后将其反转录为 cDNA,过程参照诺唯赞 HiScript III All-in-one RT SuperMix Perfect for qPCR 试剂盒。反应体系共 20 μL: 4 μL 5× All-in-one qRT SuperMix, 1 μL Enzyme Mix, 1 μg 总 RNA, 用 RNase-Free ddH₂O 补足到 20 μL; 混匀后在 50℃ 反应 15 min, 85℃ 反应 3 s。

以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)。利用美国 BIO-RAD 实时荧光定量 PCR 仪,反应体系共 15 μL: 7.5 μL SYBR, 0.75 μL 引物 F, 0.75 μL 引物 R, 1 μL cDNA, 5 μL ddH₂O; 混匀后 95℃ 预变性 60 s, 扩增条件: 95℃, 10 s; 60℃, 10 s; 72℃, 15 s。循环 45 次。读板: Plate read; 65℃, 20 s; 65~95℃, 每 0.5℃ 读值一次并绘制溶解曲线。以花生 *AhActin* 为内参基因。qRT-PCR 所用引物通过 Beacon Designer 8.0 软件设计,引物序列如下: *AhActin*-F: 5'-TTGGAATGGGTCAGAAGGATGC-3', *AhActin*-R: 5'-AGTGGTGCCTCAGTAAGAAGC-3'; *AhNHX1*-F: 5'-CTTATGAGAGGTGCTGTT-3', *AhNHX1*-R: 5'-GGAT TGCTGTTGTGTATG-3'; *AhHAI*-F: 5'-TATTGTGCTT GGCTTCAT-3', *AhHAI*-R: 5'-CCTGTCCTTAGATA TTGTCATA-3'; *AhSOS2*-F: 5'-ATTCTTGAGTTTCG TAATGG-3', *AhSOS2*-R: 5'-TGAGCAACAGCATCTA TA-3'; *AhSOS3*-F: 5'-AGAGTTGAAGGAGATGGT-3', *AhSOS3*-R: 5'-CACGATGGATTCTACGATAT-3'; *AhDREB1*-F: 5'-GTCCTCCTCATCCTCTTC-3', *AhDREB1*-R: 5'-TGTCATCATCCTTGTCAT-3'; *AhSMADCI*-F: 5'-TGTTGGCTATGATTATGAA-3', *AhSAMDC1*-R: 5'-TCTCCTCACAGTAGTATC-3'; *AhAOC9*-F: 5'-TTTC AAACCTTCTACACTT-3', *AhAOC9*-R: 5'-GAGAC GGTTCAACATTAG-3'; *AhLeaD*-F: 5'-GGAAGAACC GACGAGTATG-3', *AhLeaD*-R: 5'-GCCTCCACCTTG TTGAAC-3'。

1.2.3 离子流测定 利用非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technique, NMT, 旭月(北京)科技有限公司)测定花生幼苗根尖的 Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Ca^{2+} 、 NO_3^- 、 Cl^- 离子流, 具体检测方法及原理参照相关文献^[12]。

1.2.4 生长量测定 选取暗培养条件下萌发的种子 90 粒, 每 30 粒为 1 个重复, 共 3 个重复, 分别于 0 和 150 mmol L^{-1} NaCl 处理下光照培养 21 d, 测量株高、干物质量、主要渗透调节物质(脯氨酸、可溶性糖)含量等指标, 其中, 采用烘干法测定干物质量, 分别采用茚三酮比色法和蒽酮比色法^[13-14]测定脯氨酸含量、可溶性糖含量。

1.3 数据分析

离子流检测由旭月(北京)科技有限公司完成, 采用 GraphPad Prism 软件和 Microsoft Excel 进行数据统计分析并作图, 并用 SPSS 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫下根尖阳离子转运规律

2.1.1 盐胁迫下根尖 Na^+ 转运规律 对照处理两品种幼苗根尖 Na^+ 均表现极显著的内流, 且 HY20 的内流速率 ($-7560.40 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) 显著高于 HY25 ($-3735.22 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (图 1-A, B); 盐胁迫降低两品种 Na^+ 内流速率: 初始盐胁迫 120 s 和中期盐胁迫 (408~568 s) 时, HY25 中 Na^+ 的外排明显, 其余时间呈极低内流状态; 但 HY20 中 Na^+ 一直呈比较稳定的低内流现象(图 1-A)。经 NMT 测定离子流 10 min, 盐胁迫下 HY25 Na^+ 平均流速呈外排趋势 ($571.537 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$), 而 HY20 呈内流趋势 ($-1035.24 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (图 1-A, B); 表明盐胁迫下耐盐品种 HY25 外排 Na^+ , 而盐敏感品种 HY20 吸收 Na^+ , 暗示着两者的盐耐受能力的差异与胁迫下的 Na^+ 稳态密切相关。综上, 盐胁迫下耐盐品种 HY25 可通过根系外排 Na^+ 以减少体内的 Na^+ 积累, 可能是其耐盐的原因之一。

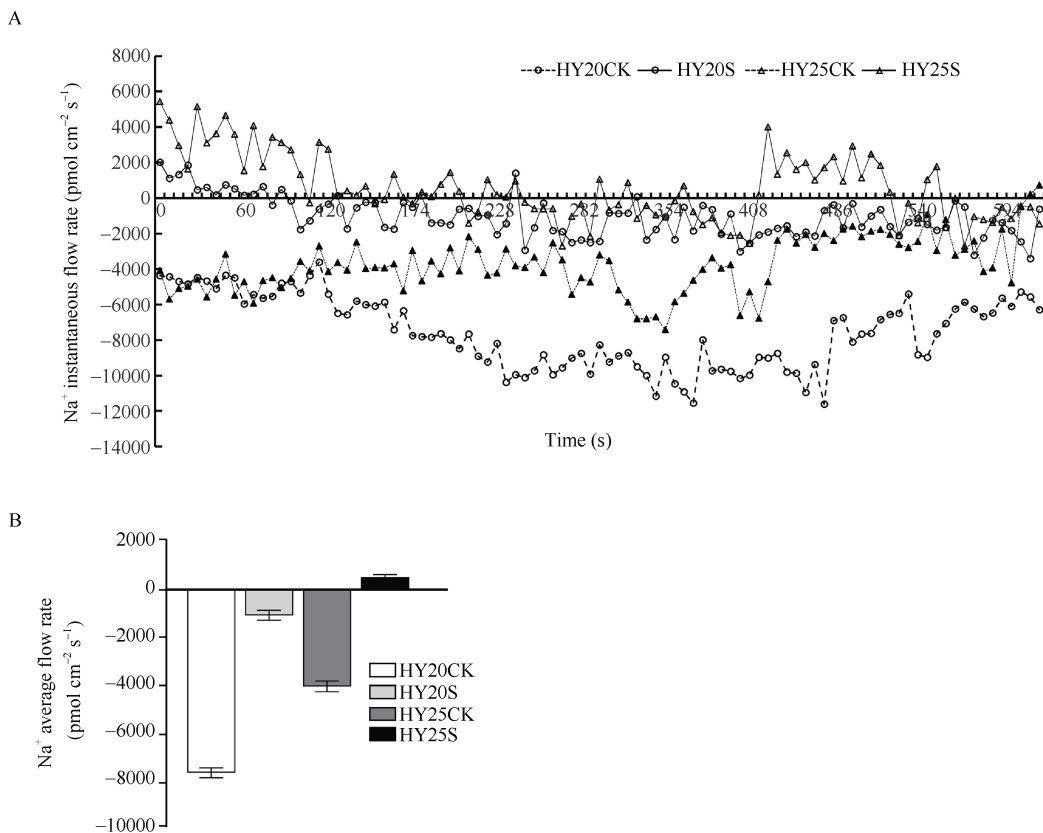


图1 盐胁迫对根尖 Na^+ 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 1 Effects of NaCl stress on instantaneous and average flow rate of Na^+ in root tips

A: 盐胁迫和正常条件下的根尖 Na^+ 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时 Na^+ 平均流速。HY20CK: 对照条件下培养的 HY20 幼苗; HY20S: 150 mmol L^{-1} NaCl 下培养的 HY20 幼苗; HY25CK: 对照条件下培养的 HY25 幼苗; HY25S: 150 mmol L^{-1} NaCl 下培养的 HY25 幼苗。

A: the instantaneous flow rate of Na^+ in root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of Na^+ in root tip under NaCl stress and normal condition via NMT for 10 min. HY20CK: HY20 in normal condition; HY20S: HY20 in 150 mmol L^{-1} NaCl; HY25CK: HY25 in normal condition; HY25S: HY25 in 150 mmol L^{-1} NaCl.

2.1.2 盐胁迫下根尖 K^+ 转运规律 由图 2-A 可知, 盐胁迫促进了根尖 K^+ 内流, 并且对 HY25 的促进效果更为显著。对于 HY20 而言, 其对照和盐胁迫平均外排和内流速率分别为 $64.230 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 和 $-1455.670 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 而 HY25 的平均外排和内流平均速率分别为 $2744.478 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 和 $-3266.010 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (图 2-B), 表明盐胁迫下耐盐品种 HY25 的 K^+ 更容易积累, 维持较高的 K^+ 浓度可能是其耐盐的机制之一。

2.1.3 盐胁迫下根尖 Ca^{2+} 转运规律 由图 3-A 可知, 盐胁迫会在短时间内诱导 Ca^{2+} 迅速内流, 且 HY25 较 HY20 内流流速高。随着时间延长, Ca^{2+} 的内流速度在不同品种中均出现了显著降低, 然而 HY25 的内流速度高于 HY20, 平均流速分别为 $-285.942 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 和 $-134.651 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (图 3-B)。表明 HY25 在响应盐胁迫时可以更有效的促进 Ca^{2+} 的内流以维持体内较高的浓度, 从而增强对盐胁迫的耐受性。

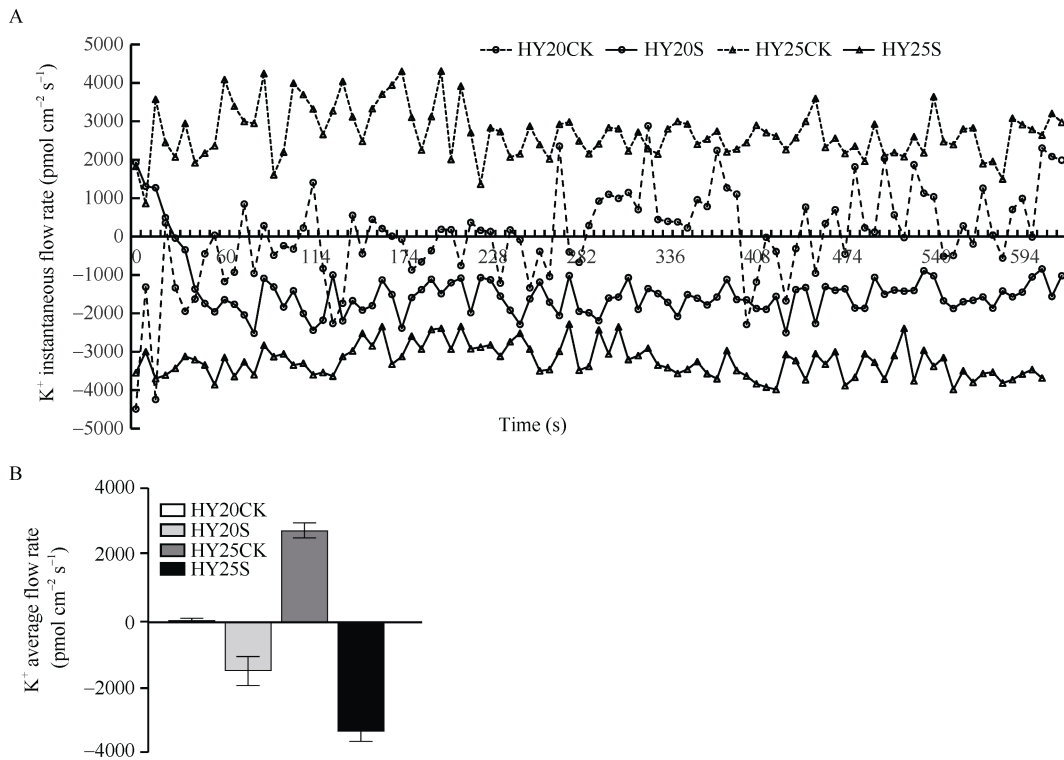
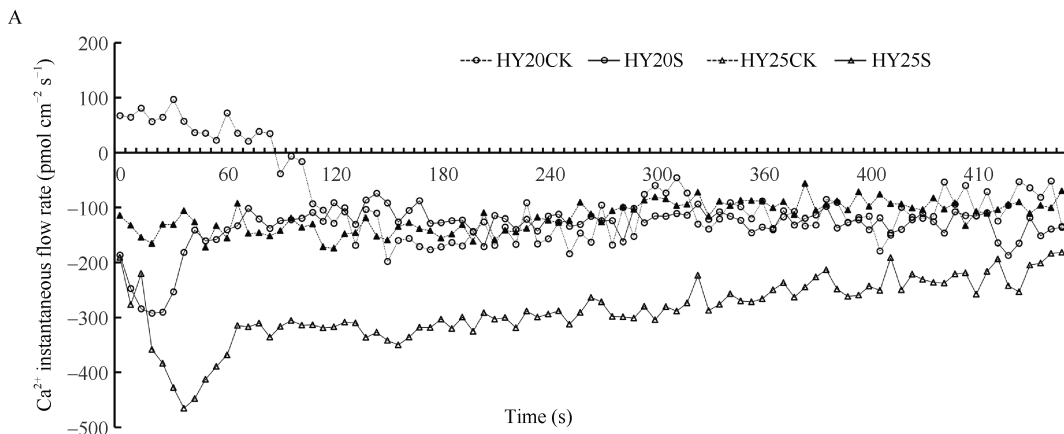


图 2 盐胁迫对根尖 K^+ 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 2 Effects of NaCl stress on instantaneous and average flow rate of K^+ in root tips

A: 盐胁迫和正常条件下根尖 K^+ 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时根尖 K^+ 平均流速。缩写同图 1。

A: the instantaneous flow rate of K^+ in the root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of K^+ in the root tip under NaCl stress and normal condition via NMT for 10 min. Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.



(图 3)

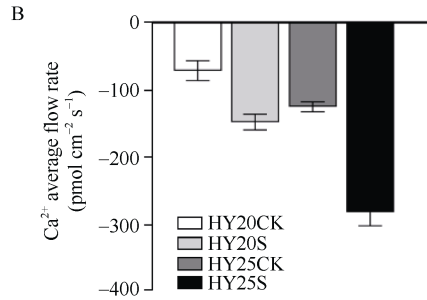


图 3 盐胁迫对根尖 Ca^{2+} 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 3 Effects of salt stress on instantaneous and average flow rate of Ca^{2+} in root tips

A: 盐胁迫和正常条件下的根尖 Ca^{2+} 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时根尖 Ca^{2+} 平均流速。缩写同图 1。

A: the instantaneous flow rate of Ca^{2+} in root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of Ca^{2+} in root tip under NaCl stress and normal condition *via* NMT for 10 min. Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.

2.1.4 盐胁迫下根尖 NH_4^+ 转运规律 与 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 不同, 花生幼苗根尖对 NH_4^+ 的吸收或外排平均速率均较小, 仅在 $-155.768 \sim 155.400 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 范围内波动(图 4-A, B), 暗示着盐胁迫下 NH_4^+ 流动与植物的耐盐性能关系较小。正常条件下, 两品种根尖的 NH_4^+ 外排/内流表现不同: HY25 以较高的流速表现为稳定外排而 HY20 则表现为稳定的内流。盐胁迫改变两品种 NH_4^+ 的流动方向, HY20 由内流变为外排, 而 HY25 由外排变为内流。鉴于 HY25

的耐盐特性, 我们推测盐胁迫下 NH_4^+ 内流有助于植物耐盐。

2.2 盐胁迫下根尖阴离子转运规律

2.2.1 盐胁迫下根尖 NO_3^- 转运规律 由图 5-A 可知, 盐胁迫对 NO_3^- 离子流影响较小。其中, HY20 对照组 NO_3^- 瞬间流速均处于略有内流的平衡状态, 而 HY25 则表现为由初始的内流转变为 100 s 之后的外排。盐胁迫下, 两品种的 NO_3^- 瞬间流速均表现外排, 表明盐胁迫导致植物体内 NO_3^- 的流失。但是相对而

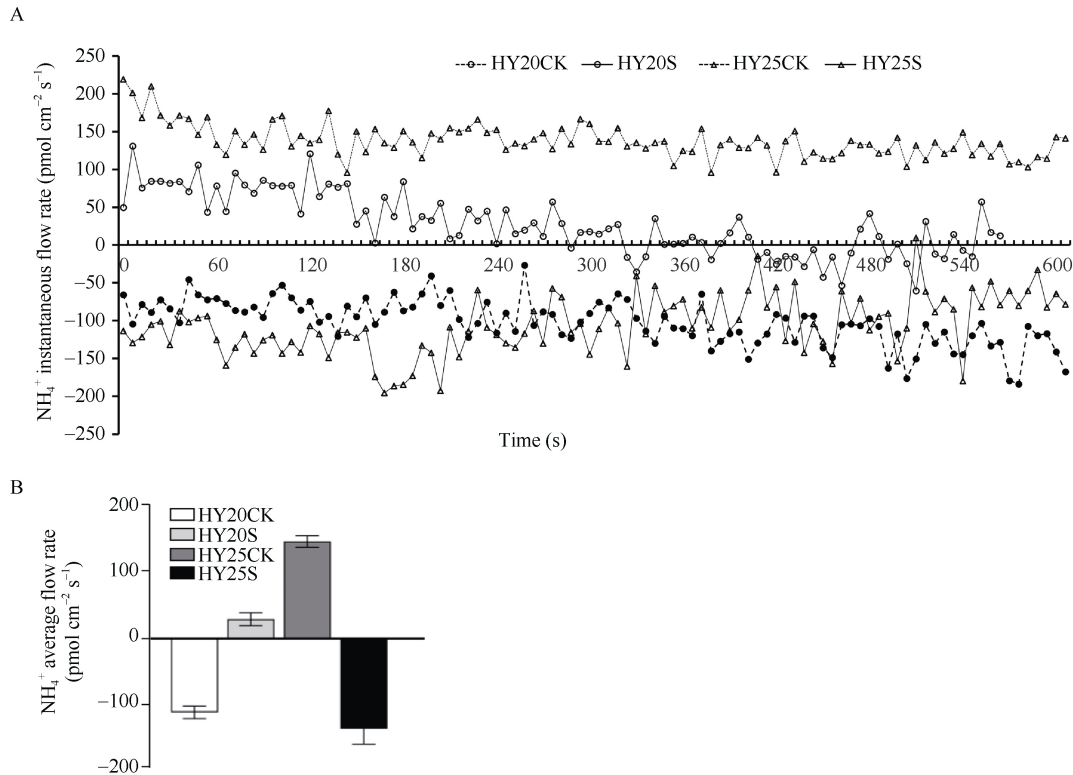


图 4 盐胁迫对根尖 NH_4^+ 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 4 Effects of salt stress on instantaneous and average flow rate of NH_4^+ in root tips

A: 盐胁迫和正常条件下的根尖 NH_4^+ 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时 NH_4^+ 平均流速。缩写同图 1。

A: the instantaneous flow rate of NH_4^+ in root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of NH_4^+ in root tip under NaCl stress and normal condition *via* NMT for 10 min. Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.

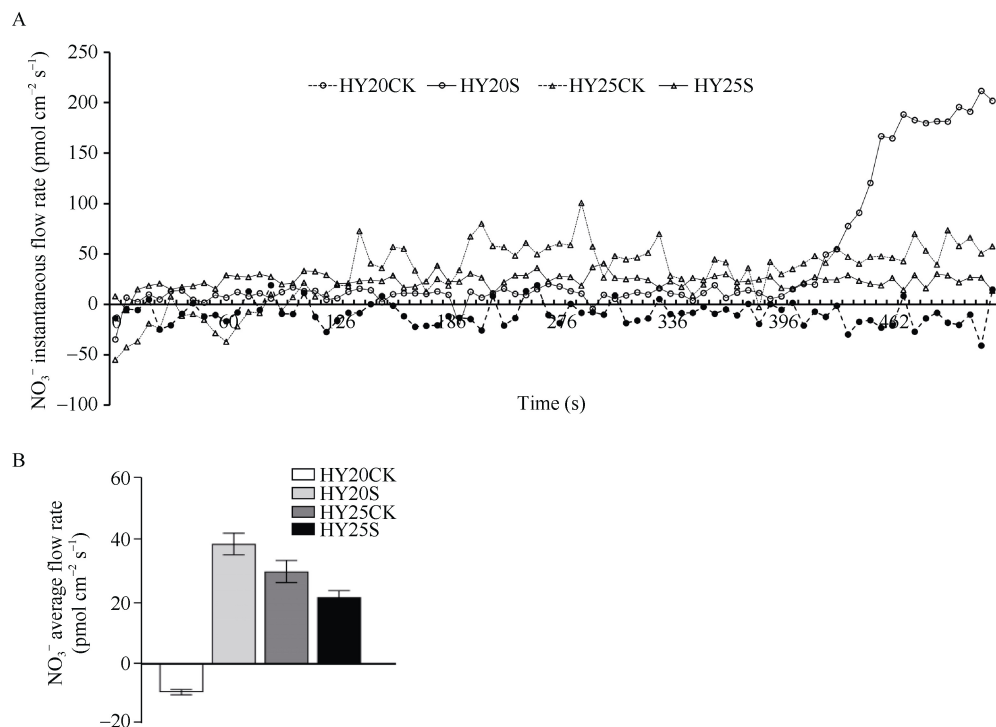


图 5 盐胁迫对根尖 NO_3^- 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 5 Effects of salt stress on instantaneous and average flow rate of NO_3^- in root tips

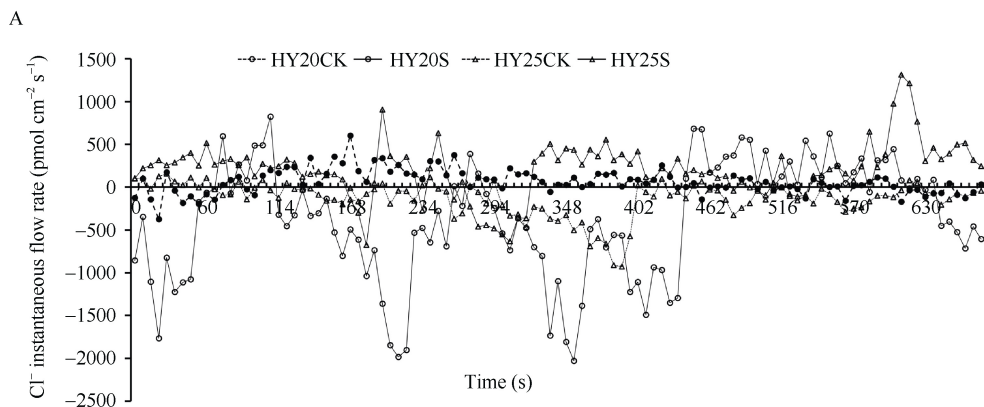
A: 盐胁迫和正常条件下的根尖 NO_3^- 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时 NO_3^- 平均流速。缩写同图 1。

A: the instantaneous flow rate of NO_3^- in root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of NO_3^- in root tip under NaCl stress and normal condition via NMT for 10 min. Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.

言, HY20 的外排速率可以达到 $166.885 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, 而 HY25 处于稳定且缓慢的外排状态。具体表现为: 盐胁迫下 HY20 的平均外排速率($38.478 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$)略高于 HY25 ($21.404 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$) (图 5-B)。表明盐胁迫会导致植物体内的 NO_3^- 流失, 而耐盐品种 HY25 则可一定程度减缓这种流失。

2.2.2 盐胁迫下根尖 Cl^- 转运规律 Cl^- 是植物体内调节细胞膨压、pH、酶活所必需元素之一, 也是一种离子毒害, 盐胁迫会诱导植物体内的 Cl^- 积

累(图 6-A, B)。对于 HY20 而言, Cl^- 的最大流入/流出速率可达 $-2028.168 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}/681.458 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, 盐胁迫下整体表现出快速积累的趋势 ($-367.352 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$), 而 HY25 的最大流入/流出速率可达 $-367.352 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}/1203.590 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, 体内积累的速率极慢, 盐胁迫下整体表现出外排趋势($203.590 \text{ pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$) (图 6-B)。表明耐盐品种 HY25 可以在盐胁迫下外排 Cl^- , 从而减弱 Cl^- 毒害。



(图 6)

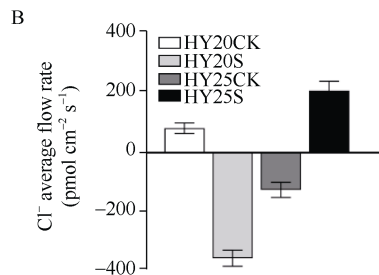


图 6 盐胁迫对根尖 Cl^- 瞬时流速和平均流速的影响

Fig. 6 Effects of salt stress on instantaneous and average flow rate of Cl^- in root tips

A: 盐胁迫和正常条件下的根尖 Cl^- 瞬时动态变化; B: NMT 测定 10 min 时 Cl^- 平均流速。缩写同图 1。

A: the instantaneous flow rate of Cl^- in root tip under NaCl stress and normal condition; B: the average flow rate of Cl^- in root tip under NaCl stress and normal condition via NMT for 10 min. Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.

2.3 盐胁迫对根尖离子平衡的影响

假定若 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 平均速率与 Na^+ 的比值等于 1.0 时, 视为各离子与 Na^+ 处于流动平衡状态。由表 1 可知, 盐胁迫下 HY25 的 K^+/Na^+ 最高达 -6.108, HY20 次之为 1.369, 表明盐胁迫条件下耐盐品种 HY25 维持较高的 K^+/Na^+ 以抵御盐胁迫。其他离子比值, Cl^-/Na^+ 、 $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ 、 $\text{NO}_3^-/\text{Na}^+$ 均较低 (相较于 K^+/Na^+ 而言), 表明 K^+/Na^+ 的体内平衡对花生耐盐最为重要。另外, $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 的比值在 HY25S 和 HY20S 中存在差异, 表明体内的 Ca^{2+} 积累可能也是植物应对盐胁迫的重要方式之一。

2.4 盐胁迫对耐盐相关基因的影响

为了进一步分析不同品种的耐盐分子机制差异, 我们分别验证了盐胁迫抗性相关基因在 HY20 和

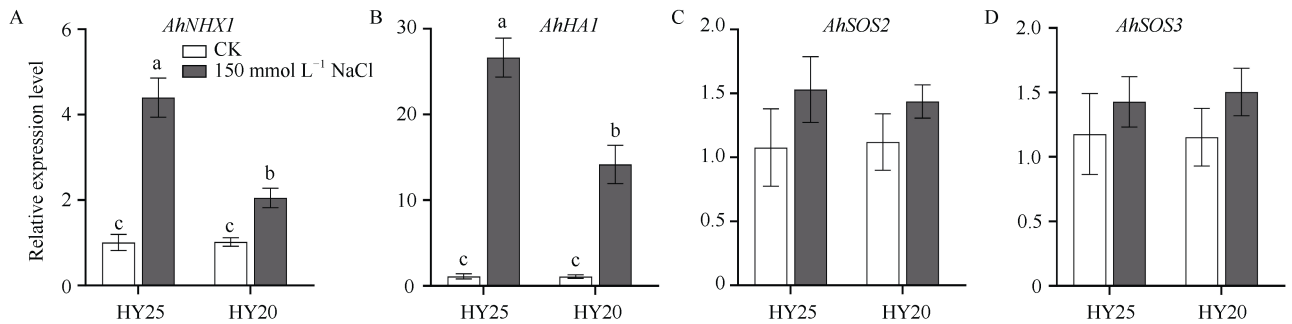
HY25 中的表达情况, 包括 Na^+/H^+ exchanger 1 (*AhNHX1*, GenBank No. HM590627)、 H^+ -ATPase (*AhHAI*, arahy.BJ0TXJ)、Salt overly sensitive 2 (*AhSOS2*, GenBank No. HG797656)、Salt overly sensitive 3 (*AhSOS3*, GenBank No. HG977144)、Dehydration responsive element binding protein 1 (*AhDREB1*, GenBank No. FM955403)、S-Adenosyl-L-Methionine Decarboxylase 1 (*AhSAMDC1*, arahy.0034KJ.1)、Allene oxide cyclase 9 (*AhAOC9*, Araip.673NH) 以及 Late embryogenesis abundant D (*AhLeaD*, GenBank No. MN393179)。结果显示盐胁迫均会诱导 *AhNHX1*、*AhHAI*、*AhSAMDC1*、*AhLeaD* 的表达, 但这种诱导能力在耐盐品种 HY25 中更显著(图 7); *AhDREB1* 和 *AhAOC9* 虽受盐胁迫诱导, 但

表 1 各离子与 Na^+ 平均速率间平衡关系

Table 1 Equilibrium relationship between the average rate of Na^+ and each ion

	K^+/Na^+	$\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$	$\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$	$\text{NO}_3^-/\text{Na}^+$	Cl^-/Na^+
HY20CK	-0.00845	0.0115	0.0134	0.00119	-0.0107
HY20S	1.369	0.139	-0.0276	-0.0362	0.329
HY25CK	-0.683	0.0312	-0.0364	-0.00737	0.0307
HY25S	-6.108	-0.527	-0.254	0.0400	0.387

缩写同图 1。Abbreviations are the same as those given in Fig. 1.



(图 7)

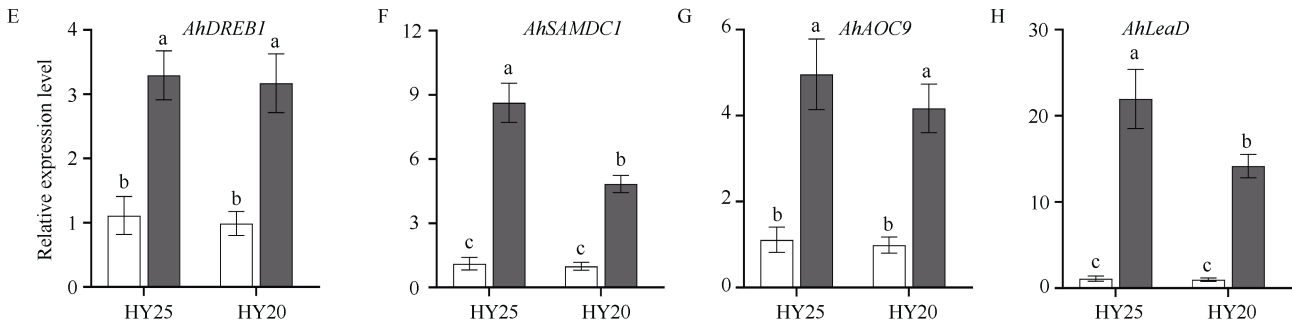


图 7 盐胁迫处理前后耐盐基因表达量检测
Fig. 7 Relative expression level of salt tolerance genes in different peanut varieties with or without salt stress
HY25: 花育 25; HY20: 花育 20. 统计学差异用小写字母表示, 不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$).
HY25: Huayu 25; HY20: Huayu 20. Statistical differences are indicated by lowercase letters above the columns, and different letters represent significant differences among treatments at $P < 0.05$.

在 HY25 和 HY20 中没有差异。表明 *AhNHX1*、*AhHA1*、*AhSAMDC1*、*AhLeaD* 的高表达量可能与 HY25 的高耐盐能力密切相关。

2.5 盐胁迫对渗透调节物质含量的影响

盐胁迫均显著诱导叶片中的脯氨酸和可溶性糖的积累, 但这种诱导能力在 HY25 中较明显(图 8), 表明耐盐品种 HY25 可能通过提高叶片中的渗透调节物的含量以应对盐胁迫。

2.6 盐胁迫对花生幼苗生长的影响

由表 2 可知, 盐胁迫会显著抑制花生幼苗的生长: 主根长度、主茎高度、地上地下的生物量、根冠比等。除根冠比外, 盐胁迫对 HY25 的抑制效果均低于 HY20, 降幅较小。HY20 主根长、主茎高、地上地下部的生物量降幅为 61.57%、36.46%、46.03% 和 42.79%, HY25 主根长、主茎高、地上地下部的生物量降幅分别为 42.62%、35.46%、45.83%和 32.52%。

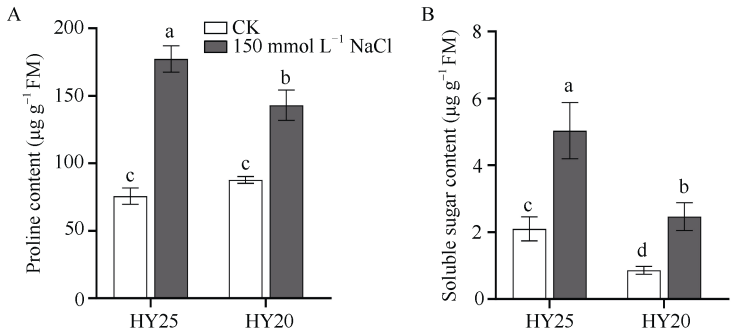


图 8 盐胁迫处理前后的脯氨酸和可溶性糖含量测定
Fig. 8 Proline and soluble sugar contents of different peanut varieties with or without salt stress
HY25: 花育 25; HY20: 花育 20. 统计学差异用小写字母表示, 不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$).
HY25: Huayu 25; HY20: Huayu 20. Statistical differences are indicated by lowercase letters above the columns, and different letters represent significant differences among treatments at $P < 0.05$.

表 2 盐胁迫对不同花生品种幼苗生长的影响
Table 2 Effects of salt stress on seedling growth of different peanut varieties

品种 Variety name	处理 Treatment	主根长 Primary root length	主茎高 Main shoot height	每株地下干重 Underground dry weight per plant (g)	每株地上干重 Aboveground dry weight per plant (g)	根冠比 Root/shoot ratio
花育 25 Huayu 25	CK	4.450±0.308 a	19.320±1.071 a	0.240±0.0163 a	1.640±0.0829 a	0.146±0.00303 a
	150 mmol L ⁻¹ NaCl	2.553±0.244 b	12.470±0.474 b	0.130±0.00816 c	1.107±0.0946 c	0.119±0.00347 c
花育 20 Huayu 20	CK	4.997±0.418 a	12.380±0.849 b	0.210±0.00817 b	1.433±0.184 b	0.148±0.0138 a
	150 mmol L ⁻¹ NaCl	1.920±0.153 c	7.867±0.818 c	0.113±0.0125 d	0.820±0.0993 d	0.139±0.00984 b

同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$).
Mean values followed by different letters within a column are significantly different among treatments at $P < 0.05$.

花生幼苗生长的抑制以地上部光合产物的形成与积累最为显著, 进而抑制产量的形成与提高。

3 讨论

无机离子和有机离子均是植物生长发育必不可少的营养元素, 其中 NH_4^+ 和 NO_3^- 是重要的氮素营养吸收形式, K^+ 是众多酶的活化剂和植物的渗透调节物之一, Ca^{2+} 是生物膜稳定剂, Cl^- 对光合作用、叶和根细胞的分裂都至关重要, 但含量不能过高(易造成离子毒害)。盐胁迫会干扰和抑制植物对营养元素(K^+ 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_3^-)的吸收, 从而造成离子失衡、渗透压改变、活性氧(ROS)积累等^[4]。而植物则可通过促进 Na^+ 外排、减缓 K^+ 流失(保持较高的 K^+/Na^+), 以维持细胞内的离子平衡^[15]。宁夏枸杞^[16]、潮间带生境盐地碱蓬^[17]、胡杨^[15]、柳树(雌性根)^[18]、葡萄砧木株系^[19]、坛紫菜藻体^[20]、库安托杨^[21]、钝顶螺旋藻^[22]等均具有较高的排 Na^+ 保 K^+ 能力, 因此也均表现出较强的耐盐能力^[23]。本研究证实 Na^+ 外排和 K^+ 摄入是花生适应盐胁迫的重要策略之一: 随着盐胁迫处理时间的延长, 耐盐品种的 Na^+ 外排速率增加且会呈现瞬间陡增的状态, 而盐敏感品种则一直处于 Na^+ 内流状态, 并最终造成过量的 Na^+ 积累(图 1); 盐胁迫促进 K^+ 内流, 且这种效果在 HY25 中显著强于 HY20(图 2)。可见花生品种耐盐性亦是通过排 Na^+ 保 K^+ 能力的提高而提高。

植物在受到盐胁迫时, 胞内钙离子浓度迅速增加, 瞬时激活 CaM 蛋白, 活化的 CaM 蛋白通过钙调磷酸酶途径激活信号网络, 进一步通过调节相关基因的表达、蛋白活性等, 缓解盐诱导损伤。Cui 等^[24]在螺旋藻中的研究显示, Ca^{2+} 在盐胁迫期间均表现为内流, 并随盐浓度的升高和胁迫响应时间的增加而进一步增加, 最终增强了植物的盐耐受性。甘薯在盐胁迫的 0~10 min 内 Ca^{2+} 外排速率逐渐减小, 10 min 后, 钙离子外排明显转变为内流^[25]。本研究证实盐胁迫会促进 Ca^{2+} 迅速内流, 之后内流速率逐渐降低直至平稳, 并且耐盐品种比盐敏感品种 Ca^{2+} 内流速率更高(图 3), 有效的增强了对盐胁迫的耐受。

盐胁迫条件下, 给予盐生植物 NH_4^+ 营养供给较 NO_3^- 表现出更好的效果, 主要体现在改善了盐胁迫造成的玫瑰假丝酵母的生长^[26], 表明盐胁迫下适度的吸收 NH_4^+ 有利于植物的生长。施加 NH_4^+ 有效的减轻了盐胁迫对大麦(*Hordeum vulgare*)^[27]、互花米草(*Spartina alterniflora*)^[28]、双色高粱(*Sorghum*

bicolor)^[29]的毒害, 这可能是由于 NH_4^+ 减弱了植物对 Na^+ 等阳离子的吸收。但也有研究提出反对意见, 施 NH_4^+ 会增强灰杨(*Populus canescens*)^[30]对盐胁迫的敏感性。本研究结果显示, 盐胁迫处理降低了盐敏感品种的 NH_4^+ 吸收速率, 但增强了耐盐品种对 NH_4^+ 吸收(图 4), 表明 NH_4^+ 在花生中可能也参与植物耐盐, 但这种效果可能在不同的物种、组织中是不同的。

盐分与养分的交互作用对植物生长的影响较为复杂, 不仅因植物种类、生长阶段的不同而不同, 且不同盐分与养分形式对其影响也不同^[31]。 NO_3^- 是植物生长的重要氮源, 但盐胁迫会抑制植物对 NO_3^- 的吸收^[32]。有研究表明, 盐胁迫抑制 NO_3^- 吸收在耐盐性较弱的大麦中被放大, 而在耐盐性较强的品种中却促进其吸收^[33]。我们的结果显示, 盐胁迫处理导致花生 NO_3^- 呈外流态势, 造成营养流失, 但耐盐品种 HY25 显然可以减少这种流失(图 5), 以减弱盐胁迫的危害。

Cl^- 虽然是植物体内调节细胞膨压、pH、酶活所必需元素之一, 但过量积累却会干扰叶绿素生成^[34]。潮间带生境盐地碱蓬可比内陆生境碱蓬排出更多的 Cl^- ^[35]。抗盐性强的大麦品种“鉴四”对 Cl^- 的吸收显著小于盐敏感的洋草麦^[36]。本研究显示盐胁迫促使盐敏感花生品种吸收并积累 Cl^- , 但耐盐品种却通过抑制内流、促进外排 Cl^- , 从而减少体内 Cl^- 积累(图 6)。

NHX1 是编码定位于液泡膜的 Na^+/H^+ 逆转运蛋白的基因, *NHX1* 可将细胞内过量的 Na^+ 运输至液泡中(区隔化), 从而减轻胞质中的 Na^+ 积累^[37]; 质膜定位的 H^+ -ATPase (HA) 可将细胞质内的 H^+ 泵出到质外体, 从而为 SOS1 介导的 Na^+ 外排提供源源不断的质子驱动力^[38]; *SAMDC* 是渗透调节物质多胺的关键合成酶, 可维持植物组织的阴阳离子平衡, 提高植物胁迫耐受性^[39]; *LeaD* 基因属于 *LEA* 基因家族, 其编码的 *LEA* 蛋白是一类参与植物抵御逆境胁迫的功能性蛋白^[40]。多种研究表明, *NHX1*、*HAI*、*SAMDC1* 和 *LeaD* 基因的表达与作物的耐盐性有关。Yin 等^[41]研究结果显示, 转基因玉米植株的耐盐性与叶子中 *AtNHX1* 的表达表现出一定的相关性。在拟南芥植株中过表达海马齿(*Sesuvium portulacastrum* L.)质膜 *HA* 基因使其本身的耐盐能力提高^[42]。Roy 等^[43]研究表明 *SAMDC* 基因的过量表达可提高水稻的多胺含量, 且增强其耐盐性。*AhLea-D* 基因的过量表达提高了转基因花生的耐盐性^[44]。本研究的结果显示, 盐

胁迫下耐盐品种 HY25 中 *AhNHX1*、*AhHAI*、*AhSAMDC1*、*AhLeaD* 表达量显著高于盐敏感品种,与两者的盐耐受能力呈正相关,这几个基因可能是花生重要耐盐基因,将为花生抗逆耐盐育种提供参考基因资源。

4 结论

本研究利用非损伤微测技术检测了盐胁迫下花生根尖的 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 NO_3^- 离子动态转运规律,证实花生的耐盐主要依赖于排 Na^+ 保 K^+ 策略,也可促进 Ca^{2+} 和 NH_4^+ 吸收、抑制 Cl^- 内流、阻止 NO_3^- 流失等减轻盐胁迫毒害。进一步 qRT-PCR 检测结果显示,耐盐品种中 *AhNHX1*、*AhHAI*、*AhSAMDC1* 和 *AhLeaD* 表达量显著高于盐敏感品种,与耐盐性密切相关。本试验初步阐明了盐胁迫下花生根尖不同离子动态转运规律与耐盐的关系,并为花生抗逆耐盐育种提供了重要的基因资源。

References

- [1] Jafar M Z, Farooq M, Cheema M A, Afzal I, Basra S M A, Wahid M A, Aziz T, Shahid M. Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions. *J Agron Crop Sci*, 2012, 198: 38–45.
- [2] 杨帆, 魏晓岑, 张士超, 王宝山. 不同甜高粱品种萌发期抗盐和抗旱性比较. *植物生理学报*, 2015, 51: 1604–1610.
Yang F, Wei X C, Zhang S C, Wang B S. Comparison on salt and drought resistances of different varieties of *Sorghum bicolor* at germination stage. *Plant Physiol J*, 2015, 51: 1604–1610 (in Chinese with English abstract).
- [3] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 651–681.
- [4] 吴兰荣, 陈静, 许婷婷, 苗华荣, 胡文广, 禹山林. 花生全生育期耐盐鉴定研究. *花生学报*, 2005, 34(1): 20–24.
Wu L R, Chen J, Xu T T, Miao H R, Hu W G, Yu S L. Identification of salt tolerance in peanut growth duration. *J Peanut Sci*, 2005, 34(1): 20–24 (in Chinese with English abstract).
- [5] 郭瑞, 李峰, 周际, 李昊儒, 夏旭, 刘琪. 亚麻响应盐、碱胁迫的生理特征. *植物生态学报*, 2016, 40: 69–79.
Guo R, Li F, Zhou J, Li H R, Xia X, Liu Q. Eco-physiological responses of linseed (*Linum usitatissimum*) to salt and alkali stresses. *Chin J Plant Ecol*, 2016, 40: 69–79 (in Chinese with English abstract).
- [6] 慈敦伟, 张智猛, 丁红, 宋文武, 符方平, 康涛, 戴良香. 花生苗期耐盐性评价及耐盐指标筛选. *生态学报*, 2015, 35: 805–814.
Ci D W, Zhang Z M, Ding H, Song W W, Fu F P, Kang T, Dai L X. Evaluation and selection indices of salinity tolerance in peanut seedling. *Acta Ecol Sin*, 2015, 35: 805–814 (in Chinese with English abstract).
- [7] 温赛群, 袁光, 张智猛, 张冠初, 慈敦伟, 丁红, 徐扬, 姜常松, 戴良香. 花生品种苗期耐盐性评价与筛选. *农学学报*, 2021, 11: 29–35.
Wen S Q, Yuan G, Zhang Z M, Zhang G C, Ci D W, Ding H, Xu Y, Jiang C S, Dai L X. Salt tolerance of peanut varieties at seedling stage: assessment and screening. *J Agric*, 2021, 11: 29–35 (in Chinese with English abstract).
- [8] 史晓龙, 张智猛, 戴良香, 张冠初, 田家明, 丁红, 慈敦伟, 温赛群. 施钙对盐胁迫下花生荚果发育动态的影响. *中国农学通报*, 2019, 35(20): 6–12.
Shi X L, Zhang Z M, Dai L X, Zhang G C, Tian J M, Ding H, Ci D W, Wen S Q. Calcium fertilizer affects the development of peanut pod under salt stress. *Chin Agric Sci Bull*, 2019, 35(20): 6–12 (in Chinese with English abstract).
- [9] 史晓龙, 张智猛, 戴良香, 张冠初, 慈敦伟, 丁红, 田家明. 外源施钙对盐胁迫下花生营养元素吸收与分配的影响. *应用生态学报*, 2018, 29: 3302–3310.
Shi X L, Zhang Z M, Dai L X, Zhang G C, Ci D W, Ding H, Tian J M. Effects of calcium fertilizer application on absorption and distribution of nutrients in peanut under salt stress. *Chin J Appl Ecol*, 2018, 29: 3302–3310 (in Chinese with English abstract).
- [10] 温赛群, 丁红, 徐扬, 张冠初, 张智猛, 戴良香. 不同花生品种对 NaCl 胁迫生理响应特征. *西北植物学报*, 2021, 41: 1535–1544.
Wen S Q, Ding H, Xu Y, Zhang G C, Zhang Z M, Dai L X. Physiological response characteristics of peanut varieties with different salt resistance under NaCl stress. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2021, 41: 1535–1544 (in Chinese with English abstract).
- [11] 戴良香, 徐扬, 张冠初, 史晓龙, 秦斐斐, 丁红, 张智猛. 花生根际土壤细菌群落多样性对盐胁迫的响应. *作物学报*, 2021, 47: 1581–1592.
Dai L X, Xu Y, Zhang G C, Shi X L, Qin F F, Ding H, Zhang Z M. Response of rhizosphere bacterial community diversity to salt stress in peanut. *Acta Agron Sin*, 2021, 47: 1581–1592 (in Chinese with English abstract).
- [12] 刘容秀, 崔金腾, 张克中. NaCl 胁迫对‘Robina’百合叶片和根部抗氧化酶系统及根尖离子流速的影响. *北京农学院学报*, 2020, 35(2): 77–83.
Liu R X, Cui J T, Zhang K Z. Effects of NaCl stress on the antioxidant enzyme system in leaves and roots and ion flux in root tip of *Lilium* ‘Robina’. *J Beijing Univ Agric*, 2020, 35(2): 77–83 (in Chinese with English abstract).
- [13] 刘阿康, 马瑞琦, 王德梅, 王艳杰, 杨玉双, 赵广才, 常旭虹. 覆膜和补施氮肥对晚播冬小麦冬前植株生长及群体质量的影响. *作物学报*, 2022, 48: 1771–1786.
Liu A K, Ma R Q, Wang D M, Wang Y J, Yang Y S, Zhao G C, Chang X H. Effects of filming and supplemental nitrogen fertilizer application on plant growth and population quality of late sowing winter wheat before winter. *Acta Agron Sin*, 2022, 48: 1771–1786 (in Chinese with English abstract).
- [14] 朱春权, 魏倩倩, 项兴佳, 胡文君, 徐青山, 曹小闯, 朱练峰, 孔亚丽, 刘佳, 金千瑜, 张均华. 褪黑素和茉莉酸甲酯基质育秧对水稻耐低温胁迫的调控作用. *作物学报*, 2022, 48: 2016–2027.
Zhu C Q, Wei Q Q, Xiang X J, Hu W J, Xu Q S, Cao X C, Zhu L F, Kong Y L, Liu J, Jin Q Y, Zhang J H. Regulation effects of seedling raising by melatonin and methyl jasmonate substrate on

- low temperature stress tolerance in rice. *Acta Agron Sin*, 2022, 48: 2016–2027 (in Chinese with English abstract).
- [15] 赵楠. 胞外 ATP 调控不同耐盐性杨树 K^+/Na^+ 离子平衡的信号网络研究. 北京林业大学博士学位论文, 北京, 2017.
- Zhao N. The Role of Extracellular ATP-Mediated Salt Signaling in the Regulation of K^+/Na^+ Homeostasis in Two Poplars with Contrasting Salt Tolerance. PhD Dissertation of Beijing Forestry University, Beijing, China, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [16] 朱志明, 毛桂莲, 许兴, 王盛, 郑蕊, 杨淑娟. 盐胁迫下宁夏枸杞根系 Na^+ 、 K^+ 平衡及抑制剂对其影响的研究. 干旱地区农业研究, 2017, 35(6): 140–145.
- Zhu Z M, Mao G L, Xu X, Wang S, Zheng R, Yang S J. Effect of salt stress and inhibitor on uptake and transportation of Na^+ and K^+ in the root of Ningxia *Lycium barbarum* L. *Agric Res Arid Areas*, 2017, 35(6): 140–145 (in Chinese with English abstract).
- [17] 刘晴晴. 不同生境盐地碱蓬根系拒盐机制研究. 山东师范大学硕士学位论文, 山东济南, 2018.
- Lui Q Q. Study on the Mechanism of Salt Exclusion in the Roots of *Suaeda salsa* in Different Habitats. MS Thesis of Shandong Normal University, Jinan, Shandong, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [18] Feng S, Sun H W, Ma H P, Zhang X, Ma S R, Qiao K, Zhou A M, Bu Y Y, Liu S K. Sexual differences in physiological and transcriptional responses to salinity stress of *Salix linearistipularis*. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 517962.
- [19] 付晴晴. ‘左山一’杂交砧木株系耐盐评价及钠离子吸收分配特征研究. 山东农业大学硕士学位论文, 山东泰安, 2018.
- Fu Q Q. Salt tolerance Evaluation and Na^+ Absorption and Distribution Characteristics of Hybrid Roots Tocks from ‘Zuo Shan 1’. MS Thesis of Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [20] 邢磊, 王文磊, 徐燕, 纪德华, 许凯, 陈昌生, 谢潮添. 低盐胁迫对坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)离子转运的影响. 集美大学学报(自然科学版), 2021, 26(1): 1–7.
- Xing L, Wang W L, Xu Y, Ji D H, Xu K, Chen C S, Xie C T. Effects of low salt stress on ion transport in *Pyropia haitanensis*. *J Jimei Univ (Nat Sci)*, 2021, 26(1): 1–7 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李丹, 黄娟, 张伟溪, 丁昌俊, 苏晓华, 黄秦军. 盐胁迫条件下转多基因库安托杨根尖离子流变化. 林业科学, 2015, 51(9): 35–41.
- Li D, Huang J, Zhang W X, Ding C J, Su X H, Huang Q J. Ion fluxes of multiple transgenic *Populus × euramericana* ‘Guariento’ under salt stress. *Sci Silvae Sin*, 2015, 51(9): 35–41 (in Chinese with English abstract).
- [22] 董彬彬. 盐胁迫对钝顶螺旋藻生长、离子响应及代谢产物的影响研究. 南京农业大学硕士学位论文, 江苏南京, 2019.
- Dong B B. Effects of Salt Stress on Growth, Ion Response and Metabolites of *Spirulina platensis*. MS Thesis of Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [23] Chen Z, Pottosin I I, Cuin T A, Fuglsang A T, Tester M, Jha D, Zepeda-Jazo I, Zhou M, Palmgren M G, Newman I A, Shabala S. Root plasma membrane transporters controlling K^+/Na^+ homeostasis in salt stressed barley. *Plant Physiol*, 2007, 145: 1714–1725.
- [24] Cuin T A, Betts S A, Chalmandrier R, Shabala S. A root's ability to retain K^+ correlates with salt tolerance in wheat. *J Exp Bot*, 2008, 59: 2697–2706.
- [25] Yu Y C, Xu T, Li X, Tang J, Ma D F, Li Z Y, Sun J. NaCl-induced changes of ion homeostasis and nitrogen metabolism in two sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars exhibit different salt tolerance at adventitious root stage. *Environ Exp Bot*, 2016, 129: 23–36.
- [26] Tang Z H, Liu Y J, Guo X R, Zu Y G. The combined effects of salinity and nitrogen forms on *Catharanthus roseus*: the role of internal ammonium and free amino acids during salt stress. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2011, 174: 135–144.
- [27] Kant S, Kant P, Lips H, Barak S. Partial substitution of NO_3^- by NH_4^+ fertilization increases ammonium assimilating enzyme activities and reduces the deleterious effects of salinity on the growth of barley. *J Plant Physiol*, 2007, 164: 303–311.
- [28] Hessini K, Ghandour M, Albouchi A, Soitani A, Werner K H, Abdelly C. Biomass production, photosynthesis, and leaf water relations of *Spartina alterniflora* under moderate water stress. *J Plant Res*, 2008, 121: 311–318.
- [29] Miranda R D S, Mesquita R O, Costa J H, Alvarez-Pizarro J C, Prisco J T, Gomes-Filho E. Integrative control between proton pumps and SOS1 antiporters in roots is crucial for maintaining low Na^+ accumulation and salt tolerance in ammonium-supplied *Sorghum bicolor*. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58: 522–536.
- [30] Ehrling B, Dłuzniewska P, Dietrich H, Selle A, Teuber M, Hañsch R, Nehls U, Polle A, Schnitzler J P, Rennenberg H, Gessler A. Interaction of nitrogen nutrition and salinity in grey poplar (*Populus tremula* L.). *Plant Cell Environ*, 2007, 30: 796–811.
- [31] Sagi M, Dovrat A, Kipnis T, Lips H. Ionic balance, biomass production, and organic nitrogen as affected by salinity and nitrogen source in annual ryegrass. *J Plant Nutr*, 1997, 20: 1291–1316.
- [32] Aslam M, Huffaker R C, Rains D W. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant Physiol*, 1984, 76: 321–325.
- [33] 龚明, 赵方杰, 吴颂如, 汪良驹, 刘友亮. NaCl 胁迫对大麦硝酸盐吸收和有关的酶活的影响. 植物生理学通讯, 1990, (2): 13–16.
- Gong M, Zhao F J, Wu S R, Wang L J, Lui Y L. Influences of NaCl stress on nitrate uptake and related enzyme activities of barley seedlings. *Plant Physiol Biochem*, 1990, (2): 13–16 (in Chinese with English abstract).
- [34] Tavakkoli E, Fatehi F, Coventry S, Pichu Rengasamy P, McDonald G K. Additive effects of Na^+ and Cl^- ions on barley growth under salinity stress. *J Exp Bot*, 2011, 62: 2189–2203.
- [35] 高奔, 宋杰, 刘金萍, 隋娜, 范海, 王宝山. 盐胁迫对不同生境盐地碱蓬光合及离子积累的影响. 植物生态学报, 2010, 34: 671–677.
- Gao B, Song J, Liu J P, Sui N, Fan H, Wang B S. Effects of salt stress on photosynthesis and ion accumulation patterns of *Suaeda salsa* under different habitats. *Chin J Plant Ecol*, 2010, 34: 671–677 (in Chinese with English abstract).
- [36] Aslam M, Huffaker R C, William R D. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant Physiol*, 1984, 76: 321–325.

- [37] Apse M P, Aharon G S, Snedden W A, Blumwald E. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, 285: 1256–1258.
- [38] 孔伟伟. 花生质膜 H^+ -ATPase 基因 *AhHA1* 在盐胁迫响应中的功能研究. 山东师范大学硕士学位论文, 山东济南, 2020.
- Kong W W. Role of Peanut Plasma Membrane H^+ -ATPase Gene *AhHA1* in Salt Stress Response. MS Thesis of Shandong Normal University, Jinan, Shandong, China, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [39] Mellidou I, Moschou P N, Ioannidis N E, Pankou C, Gemes K, Valassakis C, Andronis E A, Beris D, Haralampidis K, Roussis A, Karamanoli A, Matsi T, Kotzabasis K, Constantinidou H I, Roubelakis-Angelakis K A. Silencing S-Adenosyl-L-Methionine Decarboxylase (SAMDC) in *Nicotiana tabacum* points at a polyamine-dependent trade-off between growth and tolerance responses. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 379.
- [40] Koubaa S, Brini F. Functional analysis of a wheat group 3 late embryogenesis abundant protein (TdLEA3) in *Arabidopsis thaliana* under abiotic and biotic stresses. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 156: 396–406.
- [41] Yin X Y, Yang A F, Zhang K W, Zhang J R. Production and analysis of transgenic maize with improved salt tolerance by the introduction of *AtNHX1* gene. *Acta Bot Sin*, 2004, 46: 854–861.
- [42] Fan Y, Wan S, Jiang Y, Xia Y Q, Chen X H, Gao M Z, Cao Y X, Luo Y H, Zhou Y, Jiang X Y. Over-expression of a plasma membrane H^+ -ATPase Sp *AHA1* conferred salt tolerance to transgenic *Arabidopsis*. *Protoplasma*, 2018, 255: 1827–1837.
- [43] Roy M, Wu R. Overexpression of S-adenosylmethionine decarboxylase gene in rice increases polyamine level and enhances sodium chloride-stress tolerance. *Plant Sci*, 2002, 163: 987–992.
- [44] 姜平平, 潘雷雷, 黄建斌, 纪红昌, 唐艳艳, 于明洋, 朱虹, 隋炯明, 王晶珊, 乔利仙. 花生 *AhLea-D* 基因的克隆及耐盐性验证. 农业生物技术学报. 2020, 28: 811–822.
- Jiang P P, Pan L L, Huang J B, Ji H C, Tang Y Y, Yu M Y, Zhu H, Sui J M, Wang J S, Qiao L X. Cloning and salt tolerance validation of *AhLea-D* gene in peanut (*Arachis hypogaea*). *J Agric Biotechnol*, 2020, 28: 811–822 (in Chinese with English abstract).