

DOI:10.11686/cyxb2024456

http://cyxb.magtech.com.cn

张然, 刘琛琢, 苑峰, 等. 长穗偃麦草响应NaHCO<sub>3</sub>胁迫的离子平衡机制及转录组分析. 草业学报, 2025, 34(10): 174-186.

ZHANG Ran, LIU Chen-zhuo, YUAN Feng, et al. Ion balance mechanism and transcriptome analysis of *Elytrigia elongata* in response to NaHCO<sub>3</sub> stress. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(10): 174-186.

# 长穗偃麦草响应NaHCO<sub>3</sub>胁迫的离子平衡机制及转录组分析

张然<sup>1</sup>, 刘琛琢<sup>1</sup>, 苑峰<sup>2</sup>, 刘亚玲<sup>2</sup>, 董笛<sup>1</sup>, 王思宁<sup>1</sup>, 邹博坤<sup>1</sup>, 李晓霞<sup>1\*</sup>

(1. 中国林业科学研究院生态保护与修复研究所, 国家林业和草原局草原研究中心, 北京 100091; 2. 内蒙古草业技术创新中心有限公司, 内蒙古呼和浩特 010070)

**摘要:**长穗偃麦草因其较强的耐盐碱能力常被广泛用于建植盐碱地牧场。为探究其响应盐碱胁迫的离子平衡机制, 本研究以长穗偃麦草‘Orbit’为试验材料, 设置150 mmol·L<sup>-1</sup>的NaHCO<sub>3</sub>溶液人工模拟碱胁迫, 测定了幼苗生长指标及矿质离子(Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)含量, 并利用高通量Illumina HiSeq测序技术对正常处理(CK)和胁迫24 h NaHCO<sub>3</sub>处理下的叶片和根系进行了转录组学分析。结果表明:NaHCO<sub>3</sub>胁迫下, 长穗偃麦草幼苗根系生物量显著增加, 根冠比增大。转录组结果表明, NaHCO<sub>3</sub>处理下叶片中有1833个差异基因(differential expression genes, DEGs), 根系中有1536个DEGs, 140个基因在叶片和根系中均差异表达。GO和KEGG富集分析发现, 叶片和根系中的DEGs均显著富集在与抗氧化相关、离子结合相关、苯丙氨酸和苯丙烷类生物合成等代谢通路; 离子结合通路相关DEGs包括BAK1、CIPK10、STRK1、WAK8及多条laccase基因(laccase-11和laccase-3)等, 可能参与了长穗偃麦草对NaHCO<sub>3</sub>胁迫的响应过程。此外, 生理试验结果进一步证明长穗偃麦草叶片和根系的离子转运与分配受到影响, 表现为Na<sup>+</sup>大量积累, 而对K<sup>+</sup>的吸收能力下降, K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>下降, 根系通过提高对其他阳离子(如Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>和Fe<sup>3+</sup>)的吸收及分配能力来保持体内营养均衡, 以更好地适应盐碱环境。本研究结果可为牧草及其他作物耐盐分子育种提供优异基因资源, 还可为长穗偃麦草推广及盐碱地改良利用提供理论依据。

**关键词:**碱胁迫; 长穗偃麦草; 差异表达基因; 离子稳态

## Ion balance mechanism and transcriptome analysis of *Elytrigia elongata* in response to NaHCO<sub>3</sub> stress

ZHANG Ran<sup>1</sup>, LIU Chen-zhuo<sup>1</sup>, YUAN Feng<sup>2</sup>, LIU Ya-ling<sup>2</sup>, DONG Di<sup>1</sup>, WANG Si-ning<sup>1</sup>, ZOU Bo-kun<sup>1</sup>, LI Xiao-xia<sup>1\*</sup>

1. Institute of Ecological Protection and Restoration, Chinese Academy of Forestry, Grassland Research Center, National Forestry and Grassland Administration, Beijing 100091, China; 2. Inner Mongolia Grassland Technology Innovation Center Co., Ltd., Hohhot 010070, China

**Abstract:** *Elytrigia elongata*, due to its strong salt-alkali tolerance, is widely used to establish salt alkali pastures. This research explored the ion balance mechanism of *E. elongata* in response to salt-alkali stress, using the cultivar ‘Orbit’ as the experimental material, and 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> to simulate alkali stress. The growth indexes and

收稿日期:2024-11-19;改回日期:2025-01-09

基金项目:中国林业科学研究院基本科研业务费专项资金项目(CAFYBB2022XA002)和2023年国家草业技术创新中心(筹)重大创新平台建设专项(CCPTZX2023B01)资助。

作者简介:张然(1995-),女,山西绛县人,助理研究员,博士。E-mail: zhangran@caf.ac.cn

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: lixiaoxia@caf.ac.cn

mineral contents ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NO}_3^-$ ) of seedlings were determined, and high-throughput Illumina HiSeq sequencing technology was used to perform transcriptomic analysis on leaves and roots after exposure to contrasting normal (CK) growth conditions and  $\text{NaHCO}_3$  treatment for 24 hours. It was found that the root biomass and root-shoot ratio of *E. elongata* increased significantly under  $\text{NaHCO}_3$  stress. RNA-Seq results showed that there were 1833 differentially expressed genes (DEGs) in the leaves and 1536 DEGs in the roots under  $\text{NaHCO}_3$  treatment, and 140 genes were differentially expressed in both leaves and roots. GO and KEGG enrichment analysis revealed that DEGs in leaves and roots were significantly enriched in metabolic pathways related to antioxidant synthesis, ion binding, and phenylalanine, and phenylpropanoid biosynthesis. DEGs related to ion binding pathways included *BAK1*, *CIPK10*, *STRK1*, *WAK8*, and multiple laccase genes (*laccase-11* and *laccase-3*), which may be involved in the response process of *E. elongata* to  $\text{NaHCO}_3$  stress. In addition, physiological test results further demonstrate that the ion transport and distribution in the leaves and roots of *E. elongata* are affected. This was evidenced by a large accumulation of  $\text{Na}^+$  and a decrease in ability to absorb  $\text{K}^+$ , resulting in a decrease in the ratio of  $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ . The roots maintained tissue ion balance by improving the absorption and distribution capacity of other cations such as  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$ , so as to better adapt to the saline-alkali environment. The results of this study identify specific genes involved in salt-tolerance, and will be useful to inform molecular breeding of forage and other crops. These results also provide a theoretical underpinning for the promotion of *E. elongata* and the improvement and utilization of saline-alkali land.

**Key words:** alkali stress; *Elytrigia elongata*; differentially expressed gene; ion homeostasis

土壤盐碱化是限制全球农业生产并造成环境危害的主要问题之一<sup>[1]</sup>。土壤中高浓度的 $\text{Na}^+$ 是盐胁迫的主要诱因,植物细胞质中高浓度的 $\text{Na}^+$ 会扰乱质膜转运蛋白的正常功能,阻碍或破坏植物对水分及其他营养离子如 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ 等的吸收,影响其正常生理代谢<sup>[2]</sup>。其通过破坏植物细胞中的离子稳态和水势平衡进而诱导渗透胁迫和离子损伤,引起植物毒性,使植物生长减弱,最终导致死亡<sup>[3]</sup>。而碱性土壤不仅会引起离子毒性或伤害,还会引起 $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ 胁迫和高pH胁迫<sup>[4]</sup>。植物摄入大量的 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 等离子会降低对 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ 等离子的吸收,破坏体内离子平衡。

根系是吸收养分和水分的重要器官,也是最早感知胁迫信号并最直接受害的部位<sup>[5]</sup>,根系吸收的盐分在蒸腾流中经过长距离运输到枝条,并最终在叶片中积累。此外,植物已进化出多种机制来缓解或抵御盐碱胁迫,如 $\text{Na}^+$ 区隔化、调控离子选择性吸收及分配等<sup>[6-7]</sup>。维持细胞质中稳定的 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 是耐盐植物的一个重要适应特征,其可以通过减少细胞质 $\text{Na}^+$ 和增加细胞质 $\text{K}^+$ 来获得,以防止细胞损伤和营养缺乏<sup>[3]</sup>。Imen等<sup>[8]</sup>对罗勒(*Ocimum basilicum*)进行 $\text{NaCl}$ 和 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 胁迫后发现,其叶片、茎秆和根系中的 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 均相比对照显著增高。对平欧杂种榛(*Corylus heterophylla* × *C. avellana*)进行 $\text{NaCl}$ 胁迫发现,叶片中 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 的绝对含量显著高于茎和根,且这两种离子在根系中的增幅最大,表明根系首先会吸收并截留一定数量的 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ ,然后再将其运输至茎和叶中<sup>[9]</sup>。目前对盐胁迫下离子吸收的研究大多主要集中在 $\text{NaCl}$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 等中性盐上,对碱性盐如 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 等胁迫下植物矿质离子转运吸收的研究较少,徐曼<sup>[10]</sup>研究发现长穗偃麦草(*Elytrigia elongata*)在 $\text{NaCl}$ 和 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 胁迫下,随着胁迫浓度的上升, $\text{Na}^+$ 含量及 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 均呈现上升趋势,进行单一 $\text{NaHCO}_3$ 胁迫后发现,150 mmol·L<sup>-1</sup>的浓度会显著降低其发芽率和发芽势,严重影响其正常生长发育,但对其无机离子含量的研究并未见报道。

植物对盐碱胁迫的感知是通过各种传感器进行的,进而启动一系列转录变化,以产生保护性蛋白质和代谢产物<sup>[11]</sup>。随着二代高通量RNA-seq测序技术的发展,研究人员对盐胁迫下植物信号转导、次生代谢、氧化还原酶途径等各个层面都进行了广泛的研究<sup>[12-13]</sup>,但利用转录组技术研究长穗偃麦草对盐碱胁迫的耐受机制仍缺乏相关信息。因此,本研究不仅对长穗偃麦草不同器官矿质离子的选择性吸收、运输、分配机制进行了详细探索,还利用转录组技术分析挖掘了抗逆性调控候选基因,以期全面解析长穗偃麦草对盐碱胁迫的耐受机制提供数据支撑,

为长穗偃麦草耐盐育种及其在我国沿海滩涂等地区的大面积种植推广提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

长穗偃麦草‘Orbit’品种购自北京百斯特草业有限公司。

### 1.2 试验处理

试验于2024年6月在中国林业科学研究院温室进行,将长穗偃麦草品种‘Orbit’的种子进行清选,去除干瘪的种子后种于育苗钵内(直径6 cm×高14 cm),采用沙培法育苗<sup>[14]</sup>,温室温度保持在25 °C/20 °C(白天/夜晚),相对湿度为50%,待95%的种子发芽后开始浇灌Hoagland营养液,每3 d更换一次。连续培养25 d(3~4叶期)后进行处理,对照组(CK)继续浇灌Hoagland营养液,胁迫组浇灌溶有150 mmol·L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>的Hoagland营养液,分别于处理1 d时采集叶片和根系,液氮速冻后放入-80 °C超低温冰箱保存用于后续转录组测定,每个处理3个重复,连续胁迫9 d后收集植株地上部和根系。

### 1.3 生长指标测定

分别采集CK和NaHCO<sub>3</sub>处理第9天的长穗偃麦草幼苗,10株混合为一个重复,每个处理3次重复,测定后取平均值。吸干植株上的水分,将根系和地上部分开称取鲜重,然后将其放入105 °C烘箱中杀青30 min,70 °C烘干至恒重后测定干重,并计算根冠比。根冠比=(地下部分干重/地上部分干重)×100%<sup>[15]</sup>。

### 1.4 离子含量测定

将烘干至恒重的植物材料(叶片和根)用小型粉碎机(BF-08,河北)磨碎,过0.28 mm筛,每个样品3次重复,各取0.5 g(精确至0.0001 g)用硝酸-高氯酸混合液消煮,分离二氧化硅定容后的同一待测液,利用火焰光度法<sup>[16]</sup>测定Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>含量,利用原子吸收分光光度计GGX-600(北京)测定其他阳离子(Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>和Cu<sup>2+</sup>)含量。阴离子Cl<sup>-</sup>和SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>采用滴定法测定<sup>[17-18]</sup>;NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量采用硝基水杨酸比色法测定<sup>[19]</sup>。计算不同器官对矿质离子的运输能力( $S_{X, Na/Cl}$ ),公式为 $S_{X, Na/Cl} = \text{库器官}[X/Na^+(Cl^-)] / \text{源器官}[X/Na^+(Cl^-)]$ ,式中,若计算阳离子运输能力,X为Ca<sup>2+</sup>含量或Mg<sup>2+</sup>含量或Fe<sup>3+</sup>含量或Cu<sup>2+</sup>含量,若计算阴离子运输能力,X为SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>含量或NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量, $S_{X, Na/Cl}$ 数值越大,表明源器官控制Na<sup>+</sup>或Cl<sup>-</sup>、促进营养元素向库器官的运输能力越强,即库器官的选择性运输能力越强<sup>[20]</sup>。

### 1.5 RNA提取及转录组测定

采用RNA Easy Fast植物组织RNA快速提取试剂盒(DP452)对处理1 d的CK和NaHCO<sub>3</sub>叶片和根系进行RNA提取,利用1%的琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性及是否存在DNA污染,使用NanoPhotometer spectrophotometer检测RNA纯度,使用Agilent 2100 bioanalyzer精确检测RNA完整性。对符合要求的RNA进行高通量文库构建,测序由广州基迪奥生物科技有限公司完成,参考基因组为二倍体长穗偃麦草(*Thinopyrum elongatum*)<sup>[21]</sup>,对下机的raw reads利用fastp进行质控,过滤低质量数据,得到clean reads。使用DESeq Bioconductor Package进行两个组的差异表达分析,基于负二项分布模型确定差异表达,使用Benjamini和Hochberg控制错误发现率,将 $|\log_2 \text{fold change}| > 1$ 和 $P < 0.05$ 的基因指定为差异表达基因<sup>[14]</sup>。

### 1.6 Gene Ontology (GO)富集分析及KEGG富集分析

GO富集分析是将差异表达基因(different expression genes, DEGs)映射到GO数据库中,对差异基因进行富集归类<sup>[22]</sup>,并用超几何分布检验方法<sup>[23]</sup>计算每个GO条目中差异基因富集的显著性。筛选3种分类中对应基因数目大于2的GO条目,按照每个条目对应的 $-\log_{10}(Q \text{ value})$ 由大到小排序,绘制GO富集分析top 20气泡图。

KEGG是有关Pathway的主要公共数据库,利用KEGG数据库对差异表达基因进行Pathway分析,并用超几何分布检验的方法<sup>[23]</sup>计算每个Pathway条目中差异基因富集的显著性。筛选对应基因数目大于2的pathway条目,按照每个条目对应的 $-\log_{10}(Q \text{ value})$ 由大到小排序,绘制KEGG富集分析top 20气泡图。

### 1.7 数据统计与分析

采用SPSS 24.0 Windows版(SPSS Inc., USA)进行数据分析,用平均值±标准误表示测定结果,对照组和

处理组各指标采用  $t$  检验, 采用 GraphPad Prism 8.0.2 作图, 采用 TB tools 绘制差异基因表达数目图、韦恩图和热图。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\text{NaHCO}_3$ 胁迫对长穗偃麦草幼苗生物量和含水量的影响

由表 1 可见,  $\text{NaHCO}_3$  处理降低了长穗偃麦草地上部干重及地上部、地下部含水量, 且与对照处理差异显著 ( $P < 0.01$ ), 而根系干重和根冠比在  $\text{NaHCO}_3$  处理下均相比对照处理极显著增加 ( $P < 0.01$ )。

表 1  $\text{NaHCO}_3$  胁迫对长穗偃麦草生长指标的影响

Table 1 Effect of  $\text{NaHCO}_3$  stress on growth indicators of *E. elongata*

处理 Treatment	地上部干重 Dry weight of above-ground ( $\text{mg} \cdot 10 \text{株}^{-1}$ )	根系干重 Dry weight of root ( $\text{mg} \cdot 10 \text{株}^{-1}$ )	根冠比 Root to shoot ratio (%)	地上部含水量 The water content of aboveground (%)	根系含水量 The water content of root (%)
CK	4.58±0.12	2.44±0.05	53.38±0.98	81.74±0.44	90.91±0.08
$\text{NaHCO}_3$	3.75±0.11***	2.94±0.05**	78.68±2.37**	79.98±0.36**	86.29±0.24**

注: \*代表  $P < 0.05$ , \*\*代表  $P < 0.01$ , \*\*\*代表  $P < 0.001$ 。

Note: \* represents  $P < 0.05$ , \*\* represents  $P < 0.01$ , \*\*\* represents  $P < 0.001$ .

### 2.2 $\text{NaHCO}_3$ 胁迫下长穗偃麦草叶片和根系转录组测序结果分析

**2.2.1 差异表达基因分析** 如图 1A 所示, 与对照组相比,  $\text{NaHCO}_3$  处理下叶片中共有 1833 个 DEGs (CK\_L vs  $\text{NaHCO}_3$ \_L), 其中上调表达的 DEGs 有 1263 个, 下调表达的 DEGs 有 570 个, 上调表达数量是下调数量的 2.22 倍; 相比对照,  $\text{NaHCO}_3$  处理下根系 DEGs 共有 1536 个 (CK\_R vs  $\text{NaHCO}_3$ \_R), 其中上调表达的 DEGs 有 860 个, 下调表达的 DEGs 有 676 个; 叶片中表达的总 DEGs 数量高于根系。此外, 利用韦恩图表示长穗偃麦草  $\text{NaHCO}_3$  胁迫后叶片和根系中差异表达的 DEGs 数量, 由图 1B 可以看出, 有 140 个基因在叶片和根系中均差异表达。

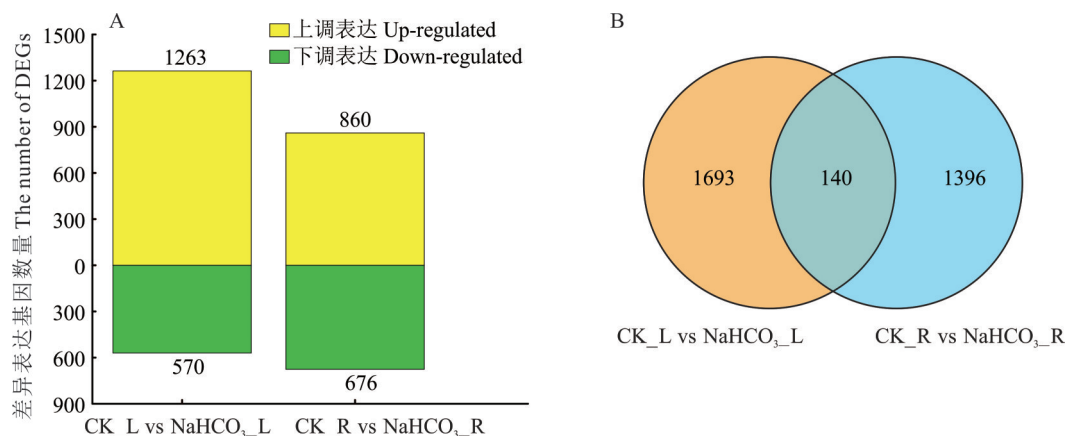


图 1 差异基因表达的数目及韦恩图分析

Fig. 1 The number of different expression genes (DEGs) and Venn analysis

CK\_L vs  $\text{NaHCO}_3$ \_L 代表与对照相比,  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理叶片中差异表达基因的数量; CK\_R vs  $\text{NaHCO}_3$ \_R 代表与对照相比,  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理根系中差异表达基因的数量; 下同。CK\_L vs  $\text{NaHCO}_3$ \_L represents the number of DEGs in leaves treated with  $\text{NaHCO}_3$  stress compared to the control; CK\_R vs  $\text{NaHCO}_3$ \_R represents the number of DEGs in roots treated with  $\text{NaHCO}_3$  stress compared to the control. The same below.

**2.2.2 KEGG 富集通路分析** 与对照处理相比,  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理下叶片 (CK\_L vs  $\text{NaHCO}_3$ \_L) 和根系 (CK\_R vs  $\text{NaHCO}_3$ \_R) 中 DEGs 的 KEGG 富集通路如图 2 所示, 叶片和根系均显著富集的通路有亚油酸代谢、抗坏血酸和醛固酮代谢通路、DNA 复制、同源重组及错配修复通路, 除此之外, 叶片中的大量 DEGs 还富集在二萜

生物合成、类固醇、甜菜碱、多种生物碱生物合成通路及苯丙氨酸、酪氨酸等氨基酸代谢通路(图2A);根中差异基因富集分数最高的代谢通路是苯丙烷类生物合成,富集DEGs数量最多的是代谢途径,如氮代谢、谷胱甘肽代谢和氰基氨基酸代谢等,此外,与植物光合作用相关的光合-天线蛋白、类胡萝卜素生物合成及花青素生物合成等通路均被显著富集(图2B)。

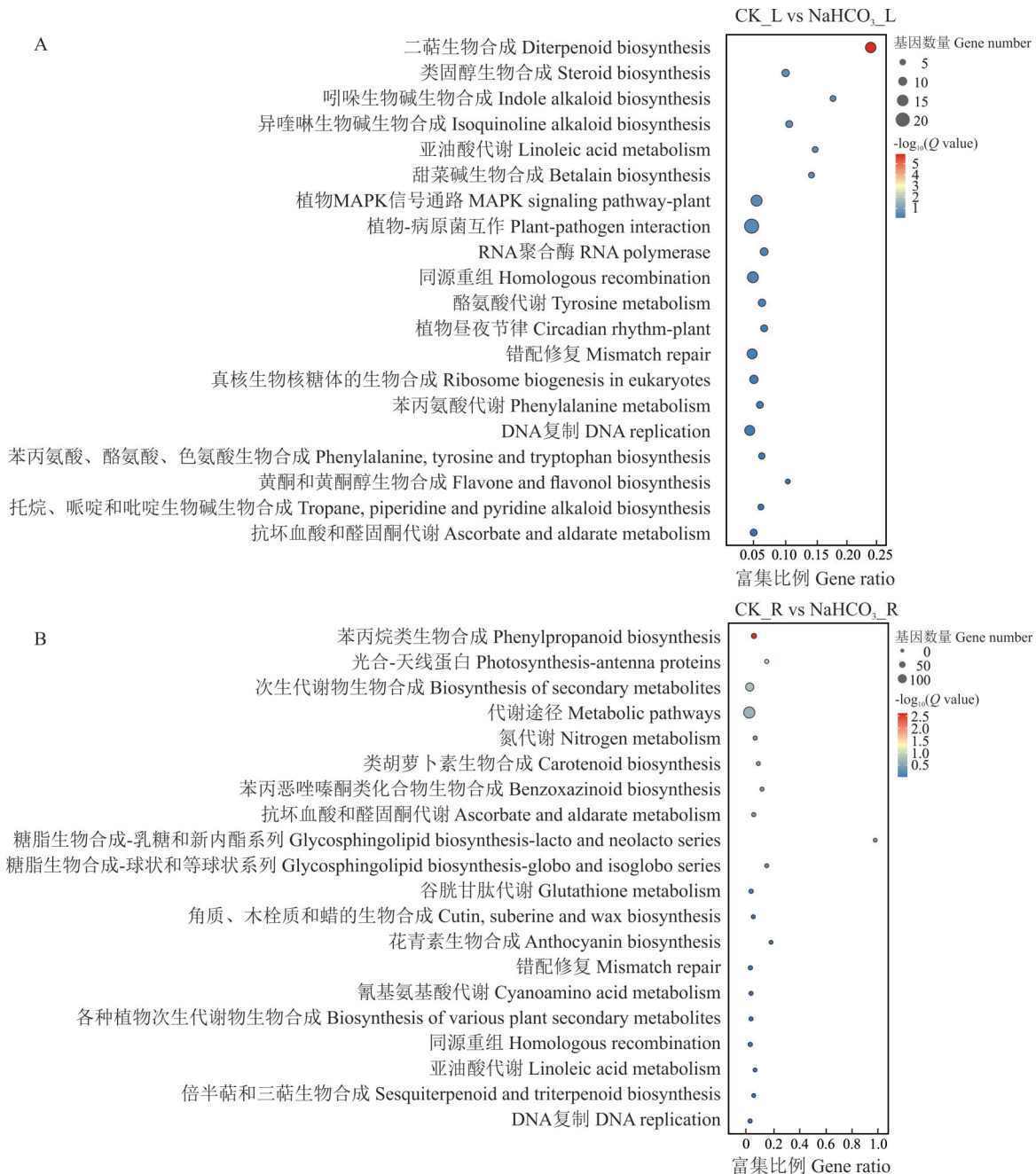


图2 NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理下叶片和根系中差异基因KEGG富集通路分析

Fig. 2 KEGG enrichment pathway of different expression genes (DEGs) in leaves and roots under NaHCO<sub>3</sub> stress treatment

**2.2.3 GO富集通路分析** 与对照处理相比,NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理下叶片(CK\_L vs NaHCO<sub>3</sub>\_L)和根系(CK\_R vs NaHCO<sub>3</sub>\_R)中DEGs的GO富集分析如图3所示,并对前20名显著富集的通路进行了可视化,叶片和根系中的DEGs富集通路明显不同,叶片中DEGs主要富集在ADP结合、核苷酸结合、蛋白激酶活性、碳水化合物衍生物结合相关通路,除此之外,还有大量DEGs显著富集于离子结合相关的通路上,主要是阴离子结合通路(图3A);

而根系中 DEGs 主要富集的通路包括:铜离子结合、铁离子结合等阳离子结合相关通路、四吡咯结合、血红素结合等,此外,差异基因还富集在一系列酶活性相关的通路,其中含有 11 条与氧化还原酶活性相关的通路,1 条四膜醇环化酶活性相关通路,富集比例最高的是对苯二酚:氧化还原酶活性,此外,DEGs 富集数量最多的是催化活性相关通路(图 3B)。



图 3 NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理下叶片和根系中差异基因 GO 富集条目

Fig. 3 GO enrichment terms of different expression genes (DEGs) in leaves and roots under NaHCO<sub>3</sub> stress treatment

**2.2.4 离子结合相关差异基因的表达分析** 基于 GO 富集分析结果,对叶片中的阴离子结合通路和根系中的铜离子结合、铁离子结合相关通路的差异基因进一步分析,挑选出 13 条 NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理下长穗偃麦草离子通道响应基因,如图 4 所示,叶片中共挑选出 10 条 DEGs(图 4A,C),上调表达的有 6 条,其中, *Tel2E01G011400*、*Tel2E01G013300*、*Tel7E01G095200* 均编码 NBS-LRR disease resistance protein, *Tel2E01G963300* 编码

*BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated receptor kinase 1-like (BAK1)*, *Tel4E01G307100* 编码 *CBL-interacting protein kinase 10-like (CIPK10)*, *Tel5E01G125100* 编码 *light-inducible protein CPRF2-like*, 下调表达的有 4 条, 分别是 *Tel1E01G317000*、*Tel2E01G984000*、*Tel7E01G839500* 和 *Tel3E01G506500*, 编码的基因分别是 *salt tolerance receptor-like cytoplasmic kinase 1 (STRK1)*、*wall-associated receptor kinase-like 8 isoform X1 (WAK8)*、*GTP-binding protein OBGM, mitochondrial isoform X2* 和 *cytokinin dehydrogenase 5 (CKX5)*; 根系中挑选 3 条 DEGs(图 4B, C), 均为漆酶 *laccase* 基因, 且均表现为下调表达; 这些基因在长穗偃麦草响应  $\text{NaHCO}_3$  胁迫的离子结合通路中发挥着重要作用。

### 2.3 $\text{NaHCO}_3$ 胁迫对长穗偃麦草离子分配和阴阳离子平衡的影响

**2.3.1  $\text{NaHCO}_3$  胁迫对长穗偃麦草体内阴阳离子含量的影响**  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理下, 长穗偃麦草体内阳离子含量的变化如图 5A~F 所示。胁迫处理后叶片和根系的  $\text{Na}^+$  含量相比对照均极显著增加 ( $P < 0.001$ ), 且根系中

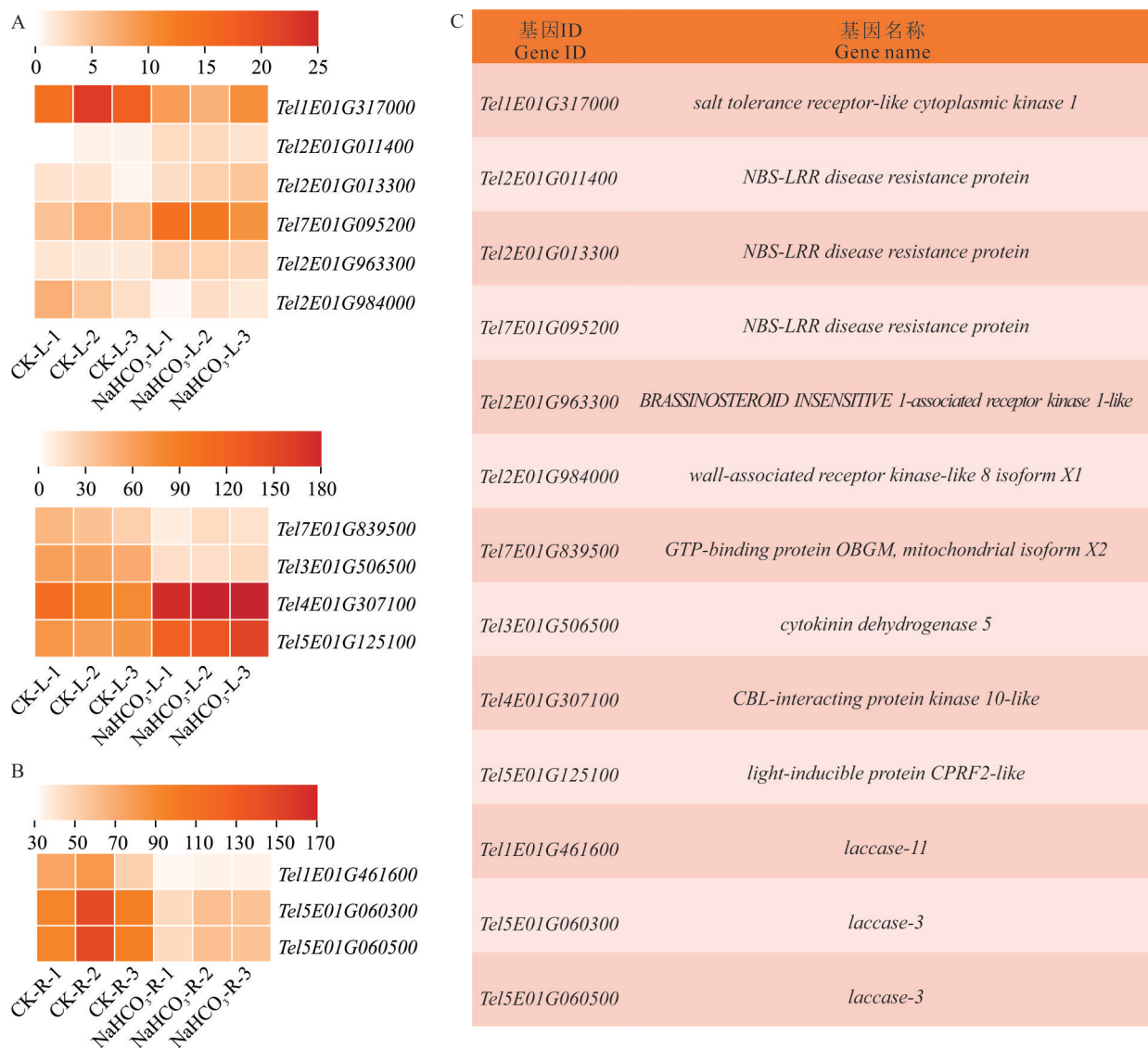


图 4  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理下叶片和根系离子通路候选基因热图分析及基因名称

**Fig. 4 Heat map analysis of ion pathway candidate genes in leaves and roots under  $\text{NaHCO}_3$  stress treatment and gene names**

CK-L-1, CK-L-2 和 CK-L-3 代表对照处理叶片的 3 个生物学重复,  $\text{NaHCO}_3$ -L-1,  $\text{NaHCO}_3$ -L-2 和  $\text{NaHCO}_3$ -L-3 代表  $\text{NaHCO}_3$  处理叶片的 3 个生物学重复; CK-R-1, CK-R-2 和 CK-R-3 代表对照处理根系的 3 个生物学重复,  $\text{NaHCO}_3$ -R-1,  $\text{NaHCO}_3$ -R-2 和  $\text{NaHCO}_3$ -R-3 代表  $\text{NaHCO}_3$  处理根系的 3 个生物学重复。CK-L-1, CK-L-2, and CK-L-3 represent three biological replicates of control in leaves, while  $\text{NaHCO}_3$ -L-1,  $\text{NaHCO}_3$ -L-2, and  $\text{NaHCO}_3$ -L-3 represent three biological replicates of  $\text{NaHCO}_3$  treated in leaves; CK-R-1, CK-R-2, and CK-R-3 represent three biological replicates of control in roots, while  $\text{NaHCO}_3$ -R-1,  $\text{NaHCO}_3$ -R-2, and  $\text{NaHCO}_3$ -R-3 represent three biological replicates of  $\text{NaHCO}_3$  treated in roots.

积累的  $\text{Na}^+$  更多, 是对照处理  $\text{Na}^+$  含量的 4.79 倍(图 5A), 而  $\text{K}^+$  含量呈现相反的变化趋势, 均极显著低于对照处理 ( $P < 0.001$ )(图 5B)。  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理对叶片和根系中  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  含量的影响一致, 均表现为叶片中较对照处理含量显著降低, 而根系中这两个离子的含量相比对照显著升高(图 5C, D)。此外, 与对照相比, 长穗偃麦草受胁迫后表现为叶片和根系对  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  吸收的增加(图 5E, F)。

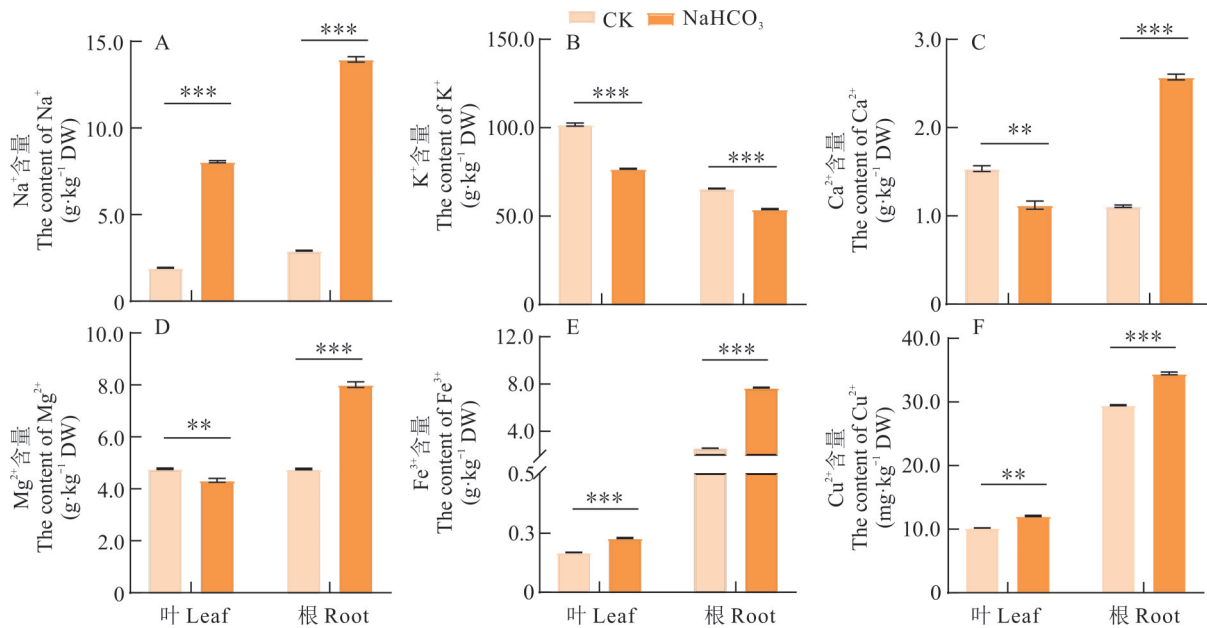


图 5  $\text{NaHCO}_3$  胁迫对长穗偃麦草叶片和根系  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  含量的影响

Fig. 5 Effects of  $\text{NaHCO}_3$  stress on the contents of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  in leaves and roots of *E. elongata*

DW: 干重 Dry weight. \*代表  $P < 0.05$ , \*\*代表  $P < 0.01$ , \*\*\*代表  $P < 0.001$ , 下同。\* represents  $P < 0.05$ , \*\* represents  $P < 0.01$ , \*\*\* represents  $P < 0.001$ . The same below.

$\text{NaHCO}_3$  胁迫处理下, 长穗偃麦草体内阴离子含量的变化如图 6A~C 所示。相比对照处理,  $\text{NaHCO}_3$  处理显著降低了叶片和根系中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{NO}_3^-$  的含量(图 6A, B), 其中, 叶片  $\text{Cl}^-$  和  $\text{NO}_3^-$  含量相比对照分别减少 24.26% ( $P < 0.01$ ) 和 37.19% ( $P < 0.001$ ), 根系  $\text{Cl}^-$  和  $\text{NO}_3^-$  含量相比对照分别减少 24.41% ( $P < 0.05$ ) 和 53.18% ( $P < 0.01$ ), 而叶片和根系对  $\text{SO}_4^{2-}$  含量的吸收未受到显著影响(图 6C)。

**2.3.2  $\text{NaHCO}_3$  胁迫对长穗偃麦草体内离子分配的影响** 植物细胞离子平衡被破坏是盐胁迫下植物生长受抑制的主要原因之一, 由表 2 可以看出, 在  $\text{NaHCO}_3$  处理下, 长穗偃麦草叶片和根系中的各阳离子/ $\text{Na}^+$  与对照相比均显著降低, 这些结果表明盐胁迫下长穗偃麦草对  $\text{Na}^+$  的相对吸收大幅增加, 而对营养元素的吸收相对减少。

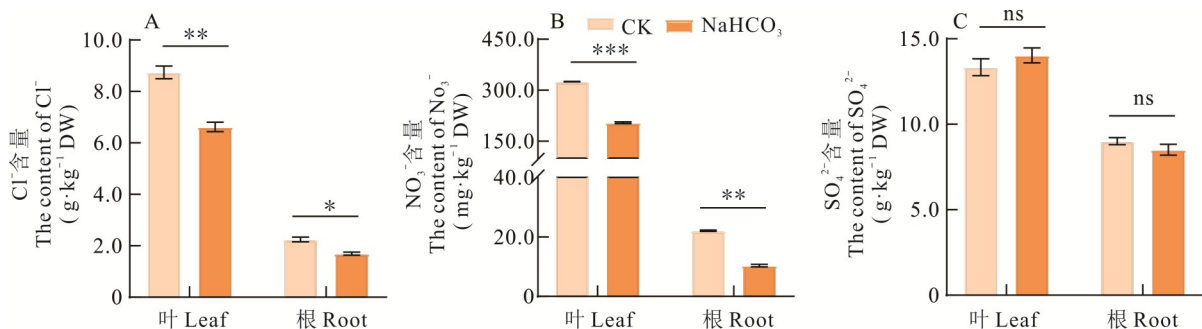


图 6  $\text{NaHCO}_3$  胁迫对长穗偃麦草叶片和根系  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量的影响

Fig. 6 Effects of  $\text{NaHCO}_3$  stress on the contents of  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  in leaves and roots of *E. elongata*

ns 代表  $P > 0.05$ . ns represents  $P > 0.05$ .

其中,相比对照而言, $K^+/Na^+$ 和 $Cu^{2+}/Na^+$ 在叶片和根系中的降低比例基本一致,且差异极显著( $P<0.001$ ),而 $Mg^{2+}/Na^+$ 和 $Fe^{3+}/Na^+$ 在叶片与根系中降低水平差异较大,叶片中相比对照分别降低82.28%、66.67%,根系中这两个比值相比对照分别降低52.63%、38.20%,表明在胁迫处理下植物不同组织间对各离子的吸收也存在一定差异。

表2 NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理对长穗偃麦草地上部和地下部离子分配的影响

Table 2 Effects of NaHCO<sub>3</sub> stress on ion allocation in the upper and underground parts of *E. elongata*

组织 Tissue	处理 Treatment	阳离子/ $Na^+$ Cation/ $Na^+$					阴离子/ $Cl^-$ Anions/ $Cl^-$	
		$K^+/Na^+$	$Ca^{2+}/Na^+$	$Mg^{2+}/Na^+$	$Fe^{3+}/Na^+$	$Cu^{2+}/Na^+$	$NO_3^-/Cl^-$	$SO_4^{2-}/Cl^-$
叶片 Leaf	CK	52.64±0.89	2.47±0.05	0.79±0.03	0.09±0.00	0.005±0.00	0.037±0.00	1.53±0.02
	NaHCO <sub>3</sub>	9.54±0.05***	0.54±0.01***	0.14±0.00***	0.03±0.00***	0.002±0.00***	0.031±0.00*	2.12±0.12*
根 Root	CK	22.52±0.37	1.64±0.03	0.38±0.01	0.89±0.01	0.01±0.00	0.010±0.00	4.02±0.21
	NaHCO <sub>3</sub>	3.87±0.03***	0.57±0.00***	0.18±0.00***	0.55±0.01***	0.002±0.00***	0.006±0.03**	5.02±0.24ns

注: ns代表 $P>0.05$ ,下同。

Note: ns represents  $P>0.05$ , the same below.

2.3.3 NaHCO<sub>3</sub>胁迫对长穗偃麦草体内离子运输的影响 由表3可以看出,NaHCO<sub>3</sub>胁迫下,根系向叶片运输的 $S_{Ca^{2+},Na^+}$ 、 $S_{Mg^{2+},Na^+}$ 和 $S_{Fe^{3+},Na^+}$ 值相比对照均显著升高( $P<0.01$ ),且由根向叶片选择性运输 $Fe^{3+}$ 的能力高于对 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 的运输,而根向叶片运输的 $S_{K^+,Na^+}$ 和 $S_{Cu^{2+},Na^+}$ 值相比对照显著降低( $P<0.01$ ),这些结果表明NaHCO<sub>3</sub>胁迫对长穗偃麦草由地下部分向地上部分的阳离子选择性运输产生了一定的影响,尤其促进了对微量元素 $Fe^{3+}$ 的运输能力,相比对照提高了91.3%。此外,研究发现,胁迫处理根系向叶片运输的 $S_{NO_3^-,Cl^-}$ 值与对照处理差异不显著,而 $S_{SO_4^{2-},Cl^-}$ 值相比对照显著降低,表明根系向叶片运输 $SO_4^{2-}$ 的能力显著下降( $P<0.05$ )。

表3 NaHCO<sub>3</sub>胁迫处理对长穗偃麦草阴阳离子运输的影响

Table 3 Effects of NaHCO<sub>3</sub> stress on cation and anion transport in *E. elongata*

处理 Treatment	$S_{K^+,Na^+}$	$S_{Ca^{2+},Na^+}$	$S_{Mg^{2+},Na^+}$	$S_{Fe^{3+},Na^+}$	$S_{Cu^{2+},Na^+}$	$S_{NO_3^-,Cl^-}$	$S_{SO_4^{2-},Cl^-}$
CK	0.43±0.00	0.48±0.02	0.66±0.02	10.12±0.15	1.92±0.03	2.63±0.15	0.26±0.00
NaHCO <sub>3</sub>	0.41±0.00**	1.32±0.05**	1.07±0.01***	19.36±0.43***	1.65±0.01**	2.37±0.23ns	0.20±0.01*

### 3 讨论

植物在遭受盐胁迫后,其正常的生长发育会受到抑制或影响,植物会通过主动调节相关生理代谢,以保护自身免受胁迫造成的损伤,这些调节方式包括但不限于平衡离子浓度调节渗透势,改变信号离子调控以及调整表观形态等<sup>[24-25]</sup>。植物生长指标是反映其受盐害程度的重要指标,刘莹等<sup>[26]</sup>的研究结果显示,盐胁迫显著抑制了甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)幼苗的生物量积累,且根冠比随着盐胁迫程度的增大而呈现增高趋势,本研究结果与其类似,NaHCO<sub>3</sub>胁迫下长穗偃麦草的地上部干重及含水量均显著低于对照处理,表明长穗偃麦草幼苗地上部生长受盐胁迫抑制程度较大,此外,长穗偃麦草根系干重显著高于对照处理,根冠比值增大,表明长穗偃麦草通过增加根系生物量的分配,最大限度地保留盐离子,控制其向地上部的转移。

转录组技术的运用为了解植物在盐胁迫下的基因表达调控网络和抗逆性调控机制的研究提供了重要线索<sup>[27-28]</sup>。杨闯等<sup>[29]</sup>对盐胁迫下的甘蓝型油菜(*Brassica napus*)进行了基因表达谱分析,发现盐胁迫响应后期,根系中的差异基因GO富集主要在对过氧化氢的响应、有机羟基化合物合成、钙离子平衡信号通路及木质素代谢相关的过程,本研究结果与其有相似之处。本研究对胁迫下叶片和根系进行了转录组分析,KEGG富集分析发现,叶片和根系中的DEGs还显著富集在抗坏血酸、苯丙氨酸、苯丙烷类生物合成等相关的代谢通路,已有研究表明,苯

丙烷代谢作为植物重要的次级代谢途径之一,其代谢产物如木质素以及有机酸等均在调控植物适应逆境生长中发挥着重要作用<sup>[30]</sup>。本研究 GO 富集分析发现,叶片中大量基因富集在碳水化合物相关通路,表明地上部可能通过调节一系列渗透物质来抵抗盐胁迫,根系中检测到的差异基因大量富集在与氧化还原相关的通路,表明长穗偃麦草根系通过不断调控氧化还原稳态以适应盐胁迫。叶片和根系中的差异基因均富集在离子结合相关通路,表明长穗偃麦草在受到盐胁迫后,离子稳态失衡,叶片和根系不断调整离子通路相关基因的表达以适应盐胁迫。此外,Vijayata 等<sup>[31]</sup>利用 RNA-Seq 技术,对盐碱胁迫下的水稻(*Oryza sativa*)进行差异表达基因分析,注释并验证了水稻根中与渗透调节(*DREB2A* 和 *LEA3*)和离子平衡(*HKT2;1* 和 *SOS1*)相关的超表达基因与抗盐胁迫有关。本研究主要针对离子结合通路也进行了重要耐盐候选基因的筛选,其中,筛选到一条 *STRK1* 基因显著差异表达,Zhou 等<sup>[32]</sup>对水稻的研究发现,*STRK1* 可通过磷酸化和激活 CatC 调节体内  $H_2O_2$  平衡来改善盐胁迫及氧化胁迫的耐受性。此外,本研究中筛选出来的激素和钙信号相关基因 *CKX5*、*CIPK10* 和 *BAK1* 均被报道在植物早期信号的起始和感知中发挥必不可少的作用,与植物的抗逆关系密切<sup>[33]</sup>。除此之外,本研究在根系中检测到多条漆酶基因下调表达,漆酶基因主要参与木质素聚合物的自由基形成,同时也在植物抗逆中起重要作用<sup>[34]</sup>。研究发现,非生物胁迫(如盐、干旱和重金属)下,水稻 *OsLAC10* 可通过催化单木酚氧化产生木质素,且 *OsLAC10* 的过表达增强了其对铜的耐受性,抑制了植物根中铜的积累<sup>[35]</sup>。木质素作为植物细胞壁的主要成分,可强化细胞壁的防水性能,在植物抵抗极端环境方面发挥着重要功能。因此,本研究结果表明,长穗偃麦草根系受盐胁迫后,木质素合成和细胞壁发育可能受到影响,进而影响了根系发育。

植物生长发育离不开各类矿质元素,矿质离子的平衡是植物抵抗盐碱胁迫的重要生理调节机制之一<sup>[36]</sup>。无机渗透调节离子如  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Cl^-$  等的积累能够有效提高细胞渗透,防止细胞脱水;但浓度高时会造成离子毒害,尤其是  $Na^+$  和  $Cl^-$ 。由于  $K^+$ 、 $Na^+$  具有相似的物理化学性质(离子半径和离子水化能量)导致二者会竞争细胞膜上的结合位点,但  $Na^+$  并不能代替  $K^+$  行使其生理生化功能,植物体内  $K^+$  大幅度减少会影响细胞内正常的代谢活动<sup>[37]</sup>。 $Na^+$  和  $K^+$  的吸收和转运是植物耐盐性的关键,具有高  $K^+/Na^+$  的植物耐盐性更强<sup>[38]</sup>。本试验结果显示,正常情况下,长穗偃麦草叶片和根系对  $K^+$  的吸收能力较  $Na^+$  强,而  $NaHCO_3$  胁迫后,叶片和根系中的  $Na^+$  含量显著增加,有明显的积累现象,而对  $K^+$  的吸收则显著下降,这表明长穗偃麦草也像其他耐盐碱植物一样采取同样的策略来提高耐盐性,通过牺牲  $K^+$  的吸收来换取  $Na^+$  积累的减少。此外,Han 等<sup>[39]</sup>提出,盐碱胁迫下,植物还会通过提高对微量元素的吸收及分配能力来保持体内营养均衡,以更好地适应盐碱环境。在本研究中,长穗偃麦草根系还增加了对其他阳离子如  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$  和  $Cu^{2+}$  的吸收,这一结果有力地支持了 Han 等<sup>[39]</sup>的观点。除此之外, $Ca^{2+}$  作为第二信使与盐碱胁迫显著正相关,盐碱胁迫下  $Ca^{2+}$  含量的增加有助于提高植物的抗盐碱能力。曹小强等<sup>[40]</sup>对  $NaHCO_3$  胁迫下油菜幼苗的  $Ca^{2+}$  含量测定发现,盐胁迫能够显著降低叶片中的  $Ca^{2+}$  含量,增加根系  $Ca^{2+}$  吸收,本研究结果与其完全一致,表明长穗偃麦草能够通过调控植物组织间的  $Ca^{2+}$  稳态以响应盐胁迫。另外,由于植物对  $NO_3^-$ 、 $SO_4^{2-}$  以及  $Cl^-$  的吸收都是通过相同的非选择性阴离子通道,因此过量的  $Cl^-$  可能会导致氮素以及硫素的缺乏<sup>[29]</sup>。在本研究中, $NaHCO_3$  胁迫能够显著抑制叶片和根系对  $Cl^-$  和  $NO_3^-$  的吸收, $SO_4^{2-}$  吸收则不受影响,这可能是由于过量的  $HCO_3^-$  和  $CO_3^{2-}$  引起。本研究中,胁迫处理下叶片和根系中所有的阳离子/ $Na^+$  均降低,表明  $NaHCO_3$  胁迫后,长穗偃麦草体内的离子吸收和转运均受到影响,离子平衡被打破。离子转运系数是反映离子向上选择性运输的指标<sup>[41]</sup>,植物不同部位离子选择性运输的能力能够反映植物将营养离子( $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$  和  $Cu^{2+}$  等)向地上部分输送和将盐离子( $Na^+$  和  $Cl^-$ )控制在根中的能力,也可反映植物的抗盐性。在本研究中, $NaHCO_3$  胁迫下,长穗偃麦草促进了  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  和  $Fe^{3+}$  从根系向地上部运输的能力,尤其促进了对微量元素  $Fe^{3+}$  的运输能力,这可能是由于  $K^+$  和  $Cu^{2+}$  运输能力下降,根系为维持植物正常生长的一种补偿机制。在转录组结果中,根系 GO 条目也主要富集在  $Fe^{3+}$  和  $Cu^{2+}$  结合相关通路,这一结果与根系离子吸收和转运的研究结果相呼应。

#### 4 结论

本研究从生长、生理和转录水平上对长穗偃麦草抵抗  $\text{NaHCO}_3$  胁迫的机理进行了深入探索,结果表明,长穗偃麦草可通过增加根系生物量,增大根冠比来适应盐胁迫, RNA-seq 分析结果表明,叶片和根系中大量差异表达基因均富集在与抗氧化相关、离子结合相关、苯丙氨酸、苯丙烷类生物合成等代谢通路,同时筛选到 13 条与离子结合相关的耐盐候选基因。此外,长穗偃麦草一方面可以通过牺牲  $\text{K}^+$  的吸收,提高对  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  等营养离子的吸收来换取  $\text{Na}^+$  积累的减少以抵抗盐胁迫,另一方面通过增强  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$  从根系向地上部运输的能力来补偿对  $\text{K}^+$  和  $\text{Cu}^{2+}$  运输能力的下降。本研究结果可为牧草及重要农作物的耐盐分子育种提供优异基因资源,还可为长穗偃麦草的栽培、推广和盐碱地资源的改良利用提供参考依据。

#### 参考文献 References:

- [1] Shabala S, Wu H, Bose J. Salt stress sensing and early signaling events in plant roots: current knowledge and hypothesis. *Plant Science*, 2015, 241: 109–119.
- [2] Tavakkoli E, Fatehi F, Coventry S, *et al.* Additive effects of  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  ions on barley growth under salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(6): 2189–2203.
- [3] Yang Y, Guo Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytologist*, 2018, 217(2): 523–539.
- [4] Geng G, Li R, Piergiorgio S, *et al.* Physiological and transcriptome analysis of sugar beet reveals different mechanisms of response to neutral salt and alkaline salt stresses. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 571864.
- [5] Wang S F, Hu Y X, Li Z L. Effects of  $\text{NaCl}$  stress on growth and mineral ion uptake, transportation and distribution of *Quercus virginiana*. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(17): 4609–4616.  
王树凤, 胡韵雪, 李志兰. 盐胁迫对弗吉尼亚栎生长及矿质离子吸收、运输和分配的影响. *生态学报*, 2010, 30(17): 4609–4616.
- [6] Sun J, Chen S L, Dai S X, *et al.* Ion flux profiles and plant ion homeostasis control under salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, 2009, 4(4): 261–264.
- [7] Mohammad A A, Nudrat A A, Muhammad A, *et al.* Plant responses to environmental stresses-from gene to biotechnology. *AoB Plants*, 2017, 9(4). doi:10.1093/aobpla/plx025.
- [8] Imen T, Elena D I, Rym K, *et al.* Effects of  $\text{NaCl}$  or  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  salinity on plant growth, ion content and photosynthetic activity in *Ocimum basilicum* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, 34: 607–615.
- [9] Luo D, Wu Z B, Shi Y J, *et al.* Effects of salt stress on leaf anatomical structure and ion absorption, transportation and distribution of three Ping'ou hybrid hazelnut seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(5): 1876–1888.  
罗达, 吴正保, 史彦江, 等. 盐胁迫对 3 种平欧杂种榛幼苗叶片解剖结构及离子吸收、运输与分配的影响. *生态学报*, 2022, 42(5): 1876–1888.
- [10] Xu M. Effects of saline-alkali stresses on seed germination, growth and physiological traits of *Elytrigia elongate* L. Changchun: Northeast Normal University, 2020.  
徐曼. 盐碱胁迫对长穗偃麦草种子萌发、生长及生理特性的影响. 长春: 东北师范大学, 2020.
- [11] Gengmao Z, Yu H, Xing S, *et al.* Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Industrial Crops and Products*, 2015, 64: 175–181.
- [12] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167(2): 313–324.
- [13] Chakraborty K, Bishi S K, Goswami N, *et al.* Differential fine-regulation of enzyme driven ROS detoxification network imparts salt tolerance in contrasting peanut genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 128: 79–90.
- [14] Zhang R, Ma X, Zhu R T, *et al.* Metabolic pathway and transcriptional regulation of Qinghai wild *Poa pratensis* in response to drought stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(6): 1508–1518.  
张然, 马祥, 朱瑞婷, 等. 青海野生草地早熟禾响应干旱胁迫的代谢通路及转录调控分析. *草地学报*, 2020, 28(6): 1508–1518.
- [15] Deng X, Xu X X, Sun Q, *et al.* Photosynthetic characteristics and transcriptome analysis of winter wheat seedlings under different salt concentration stress. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(9): 1819–1829.  
邓肖, 徐学欣, 孙芹, 等. 不同盐浓度胁迫下冬小麦幼苗光合特性及转录组分析. *植物生理学报*, 2023, 59(9): 1819–

1829.

- [16] Li X T, Cao J, Wei X J, *et al.* Effect of extended exposure to NaCl stress on the growth, ion distribution and photosynthetic characteristics of malting barley (*Hordeum vulgare*). *Acta Prataculturae Sinica*, 2013, 22(6): 108–116.  
李先婷, 曹靖, 魏晓娟, 等. NaCl渐进胁迫对啤酒大麦幼苗生长、离子分配和光合特性的影响. *草业学报*, 2013, 22(6): 108–116.
- [17] Li J Y, Wang W Q, Yang L Q, *et al.* Study on the determination of chloride ions by hydrogen peroxide pretreatment and silver nitrate titration. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2024(7): 241–248.  
李婧怡, 王玮棋, 杨柳青, 等. 过氧化氢预处理—硝酸银滴定法测定氯离子的研究. *中国土壤与肥料*, 2024(7): 241–248.
- [18] Ma Y F, Ma Z Q, Zhang X G. Comparison of water soluble  $\text{SO}_4^{2-}$  chemical analysis methods in soil. *Modern Chemical Research*, 2017(7): 21–22.  
马云飞, 马琢琪, 张旭光. 土壤中水溶性  $\text{SO}_4^{2-}$  化学分析方法对比. *当代化工研究*, 2017(7): 21–22.
- [19] Ding J Z. An improvement of determination method of  $\text{NO}_3^-$  in circulating water. *Shandong Chemical Industry*, 2008(3): 42, 45.  
丁敬增. 循环水中  $\text{NO}_3^-$  测定方法的改进. *山东化工*, 2008(3): 42, 45.
- [20] Tang X Q, Bai Y F, Liu G L, *et al.* Effects of NaCl stress on growth and mineral ions absorption and distribution of *Platycladus orientalis* seedlings. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2018, 46(9): 60–66.  
唐晓倩, 白应飞, 刘广亮, 等. NaCl胁迫对侧柏幼苗生长及矿质离子吸收和分配的影响. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(9): 60–66.
- [21] Wang H W, Sun S, Ge W Y, *et al.* Horizontal gene transfer of *Fhb7* from fungus underlies *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Science*, 2020, 368(6493): e5435.
- [22] Niu K J. The role of 5-aminolevulinic acid on regulation mechanism of photosynthesis in Kentucky bluegrass seedlings under drought stress. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018.  
牛奎举. 外源5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下草地早熟禾光合作用的调控机制. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- [23] Huang T, Zhang J, Xu Z P, *et al.* Deciphering the effects of gene deletion on yeast longevity using network and machine learning approaches. *Biochimie*, 2012, 94(4): 1017–1025.
- [24] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 651–681.
- [25] Carlos S G A, Christa T. Salt stress signals shape the plant root. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, 14(3): 296–302.
- [26] Liu X, Wang Y. Effects of salt stress on biomass and photosynthetic fluorescence characteristics of two *Glycyrrhiza* seedlings. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2022(2): 163–169.  
刘莹, 王芸. 盐胁迫对两种甘草幼苗生物量及光合荧光特性的影响. *中国土壤与肥料*, 2022(2): 163–169.
- [27] Hu G, Koh J, Yoo M J, *et al.* Proteomics profiling of fiber development and domestication in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). *Planta*, 2014, 240(6): 1237–1251.
- [28] Luo D, Zhou Q, Wu Y. Full-length transcript sequencing and components towards salinity tolerance in the roots of cultivated alfalfa (*Medicago sativa*). *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 32.
- [29] Yang C, Wang L, Quan C T, *et al.* Relative expression profiles of genes response to salt stress and constructions of gene co-expression networks in *Brassica napus* L. *Acta Agronomica Sinica*, 2024, 50(1): 237–250.  
杨闯, 王玲, 全成滔, 等. 甘蓝型油菜盐胁迫响应基因表达谱分析及共表达网络的构建. *作物学报*, 2024, 50(1): 237–250.
- [30] Sharma A, Shahzad B, Rehman A, *et al.* Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 2019, 24(13): 2452.
- [31] Vijayata S, Ajit P S, Jyoti B. Differential expression of salt-responsive genes to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L.) at seedling stage. *Protoplasma*, 2018, 255(6): 1667–1681.
- [32] Zhou Y B, Liu C, Tang D Y, *et al.* The receptor-like cytoplasmic kinase STRK1 phosphorylates and activates CatC, thereby regulating  $\text{H}_2\text{O}_2$  homeostasis and improving salt tolerance in rice. *The Plant Cell*, 2018, 30(5): 1100–1118.
- [33] Gou X P, Yin H J, He K, *et al.* Genetic evidence for an indispensable role of somatic embryogenesis receptor kinases in brassinosteroid signaling. *PLoS Genetics*, 2012, 8(1): e1002452.
- [34] Zuo C Y, Li Y W, Li Y L, *et al.* Relative expression patterns of laccase gene family members in upland *Gossypium hirsutum* L. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(9): 2344–2361.  
左春阳, 李亚玮, 李焱龙, 等. 陆地棉漆酶基因家族成员表达模式分析. *作物学报*, 2023, 49(9): 2344–2361.

- [35] Liu Q Q. Response mechanism of lignin synthesis in rice under copper stress and the role of rice laccase in plants tolerance to heavy metal. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.  
刘清泉. 铜胁迫下水稻木质素合成的响应机制及水稻漆酶在植物重金属耐性中的作用. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [36] Wang Q Z, Liu Q, Gao Y N, *et al.* Review on the mechanisms of the response to salinity-alkalinity stress in plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(16): 5565–5577.  
王隽珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. *生态学报*, 2017, 37(16): 5565–5577.
- [37] Benito B, Haro B, Amtmann A, *et al.* The twins  $K^+$  and  $Na^+$  in plants. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(9): 723–731.
- [38] Luo B Y, Chen S Y, Yang Y J, *et al.* Ion uptake, transportation and the expression of related genes in *Chrysanthemum indicum* under salt stress. *Journal of Northeast Forestry University*, 2024, 52(2): 68–74, 83.  
罗玢晔, 陈胜艳, 杨宇佳, 等. 盐胁迫下野菊离子的吸收转运情况及相关基因的表达. *东北林业大学学报*, 2024, 52(2): 68–74, 83.
- [39] Han Y, Yin S Y, Huang L. Towards plant salinity tolerance-implications from ion transporters and biochemical regulation. *Plant Growth Regulation*, 2015, 76: 13–23.
- [40] Cao X Q, Wang W C, Yin F T, *et al.* Effects of exogenous calcium on ion balance and photosynthetic characteristics in leaves of rapeseed seedlings under  $NaHCO_3$  stress. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2023, 42(5): 149–157.  
曹小强, 王卫超, 阴法庭, 等. 外源钙对 $NaHCO_3$ 胁迫下油菜幼苗叶片离子平衡及光合特性的影响. *华中农业大学学报*, 2023, 42(5): 149–157.
- [41] Bo S, Xia B, Liu M Y, *et al.* Screening of salt-resistant strains of *Chrysanthemum indicum* and preliminary study on salt-resistant mechanism. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2023, 32(1): 90–100.  
薄杉, 夏斌, 刘铭宇, 等. 野菊抗盐株系筛选与抗盐机理初探. *西北农业学报*, 2023, 32(1): 90–100.