

· 研究报告 ·

利用离体叶片鉴定杨树耐盐潜力

张颖¹, 杨迎霞¹, 郑艳红², 周祥明², 聂莉莉², 张越², 陈受宜³, 王景安^{1*}, 刘仲齐^{2*}

¹天津师范大学生命科学学院, 天津 300384; ²天津市农业生物技术研究中心, 天津 300192

³中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

摘要 以受体杨树107和转基因杨树18-1的一年生枝条为材料, 采用Hoagland营养液水培方法, 添加不同浓度的NaCl, 检测二者植株生长以及叶中Na⁺和K⁺含量的变化。结果表明, 在0.6%NaCl处理下18-1生根率明显高于107, 生物量较大, 叶片中Na⁺积累量是107的1.45倍左右。以107和18-1离体叶片为材料, NaCl处理下测定其生理活性指标, 发现18-1叶盘的失绿速度和相对电导率都显著低于107叶盘。把离体叶片接种在改良MS培养基上, 1.2%NaCl处理可使107叶盘几乎停止伸长, 细胞大小不再增加; 而18-1叶盘培养7天后伸长了近50%。以上结果表明利用离体叶片可以鉴定出不同基因型杨树的耐盐潜力。

关键词 离体叶片, Na⁺积累, 杨树, 耐盐性

张颖, 杨迎霞, 郑艳红, 周祥明, 聂莉莉, 张越, 陈受宜, 王景安, 刘仲齐 (2011). 利用离体叶片鉴定杨树耐盐潜力. 植物学报 46, 302–310.

盐害是影响植物生长和作物产量以及森林面积的主要因素, 全世界盐碱地面积约为 9.54×10^8 hm² (宋杰等, 2000; 买买提·阿扎提等, 2008), 并且由于次级盐渍化, 世界盐碱地面积还在进一步扩大。我国盐碱土主要分布于西北、华北、东北和滨海地区, 随着大棚面积的逐年增长和栽培年代的推移, 土壤盐渍化日趋严重(何毅敏等, 2009)。因此, 开发利用盐碱地显得越来越重要。林木在维护和改善生态环境及水土保持方面发挥着重要的作用, 杨树属于杨柳科落叶乔木, 是世界上广泛栽培的重要造林树种和防护林之一。在缺林少木的盐碱、干旱、贫瘠地区栽植杨树, 可迅速恢复植被, 减少地表蒸发和地下水位的降低, 保护农田, 增加森林覆盖率从而减少风沙危害, 同时也能为纸浆用材林和工业商品林建设提供足够的原材料。因此, 耐盐杨树的选育一直是世界各国的研究重点。目前通过杂交技术、转基因技术和耐盐突变体筛选, 已经获得了许多耐盐能力不同的杨树新品种(陈述, 2010)。

在盐胁迫环境中, 杨树逐渐出现生长缓慢、叶片失绿、叶缘褐化和枝条干稍等特点, 所以, 长期以来

主要是通过田间实验比较其存活率、相对生长量、鲜干重比等进行直接的耐盐碱筛选鉴定。但是由于杨树生长周期长, 评价其生长性状、物候性状和生长期等需要的时间相应较长, 因此实验费时费力, 效率低, 而且受环境因素的影响较大(Allen et al., 1994; 教忠意等, 2008; Li et al., 2009)。盆栽实验是许多实验室广泛采用的耐盐性鉴定方法。但是由于盆栽过程中所用的草炭来源及草炭和蛭石的比例不同, 且盐分浓度不易控制, 对同一植物耐盐潜力的鉴定结果差异很大。液体培养能准确控制溶液中的盐浓度并保持容器内均匀一致, 可重复性较好, 是目前鉴定植物耐盐潜力最常用的方法之一(Garthweite et al., 2005; Gévaudant et al., 2007)。有研究表明有些杨树的根系对水温特别敏感, 在高温季节无法进行液体培养, 因此溶液温度成为利用水培方法鉴定杨树耐盐能力的限制因素(苏雪辉等, 2008)。最近的一些研究结果表明离体叶片对盐胁迫的反应更加敏感, 耐盐和不耐盐基因型的离体叶片在细胞存活率、膜透性及叶绿素含量的变化等方面存在明显差异(Lv et al., 2008; Smethurst et al., 2009; 杨迎霞等, 2009)。本研究以

收稿日期: 2010-10-08; 接受日期: 2011-02-16

基金项目: 973 计划(No.2006CB100102)和“十一五”国家科技支撑计划(No.2009BADA3B01)

* 通讯作者。E-mail: zqliu733@yahoo.com.cn; jinganwang899@126.com

受体杨树107和转基因杨树18-1为材料,在进一步确定其耐盐潜力的基础上,重点以离体叶片为材料,测定其在NaCl处理下的生理特性变化及其在基因型间的差异,并探讨利用离体叶片快速鉴定杨树耐盐能力的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为杨树107(*Populus×euramericana* 'Neva')和转基因杨树18-1。后者为张劲松等(1999)以杨树107为受体,转化烟草*NTHK1(Nicotiana tabacum histidine kinase-I)*基因筛选获得的耐0.8%NaCl的转基因新品系。

1.2 方法

1.2.1 材料培养

将受体杨树107和转基因杨树18-1一年生枝条截成长度为15–20 cm的插条(每个插条上有3–4个芽),扦插到Hoagland营养液中,培养50天。整个实验在天津市农业科学院生物中心人工气候室中进行,平均温度28°C/22°C(昼/夜),平均湿度65%,光照强度为135 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照时间14 h·d⁻¹。

1.2.2 植株生根率的测定

分别选取受体杨树107和转基因杨树18-1一年生枝条,截成长度为15–20 cm的插条,采用随机分组的方法将植株分别培养在含有0%、0.4%、0.6%和0.8% NaCl的Hoagland营养液中。每个处理重复3次,每次重复100株。处理20天后,统计生根率。

1.2.3 植株生物量的测定

选用预培养叶片数及株高相近的植株,采用随机分组的方法将植株分别培养在含有0%、0.4%、0.6%和0.8% NaCl的Hoagland营养液中,每个处理重复3次,每次重复15株。处理2周后,收集植株,于105°C下杀青,80°C下烘干至恒重,测定其根、茎和叶的生物量。

1.2.4 Na⁺、K⁺含量的测定

选用生长叶片数及株高相近的植株,采用随机分组的方法将植株分别培养在含有0%、0.4%和0.6%NaCl

的Hoagland营养液中。处理后的第0、3、6、9、12、15、18、21和24天分别取各处理的老叶和新叶(枝条的上部1/3定义为新叶,下部1/3定义为老叶),用去离子水冲洗叶片3次,于105°C下杀青,80°C下烘干至恒重并研磨。精确称取0.1 g样品置于坩埚中后放入马弗炉中,程序设置为:200°C 1小时,550°C 4小时进行灰化,然后用浓硝酸硝化,定容至25 mL。用PE-640火焰光度计测定Na⁺和K⁺的含量(杨迎霞等,2009)。

1.2.5 叶绿素含量和相对电导率的测定

以107和18-1水培插条为材料,从枝条顶端起,取第4、5片全展叶,用去离子水冲洗2次,用剪刀剪成长1.5 cm、宽1.5 cm的叶盘。分别置于含有0%、1.2%和2.4%NaCl的MS营养液中,第2、4、6、8、10天分别测定叶盘叶绿素含量,营养液每天更换1次。另取第4、5片全展叶,用去离子水冲洗2次,用剪刀剪成长1.5 cm、宽0.5 cm的叶盘,置于8.0% NaCl溶液中,胁迫3、6、9、12、15、18、21、24、27、30分钟后取出,用蒸馏水冲洗后,再用去离子水冲洗2次,装入大试管中,加入20 mL去离子水,抽气2次,每次10分钟。抽气结束后静置30分钟,测定初电导S1;沸水浴15分钟,冷却至室温后测定终电导S2。相对电导率=初电导(S1)/终电导(S2)(李合生,2000)。

1.2.6 离体叶片长度的测定和表皮细胞的观察

以杨树107和18-1水培插条为材料,从枝条顶端起,取第1、2片全展叶为外植体,自来水冲洗30分钟,70%乙醇消毒10秒,无菌水冲洗2次,每次1分钟,0.1%HgCl₂浸泡4分钟,无菌水漂洗4遍,每次2分钟。以叶片中脉为中线,沿其垂直方向,将叶片剪成0.5 cm × 1.5 cm大小的长方形,叶背向下接种在含不同浓度NaCl的MS固体培养基中(添加0.8 mg·L⁻¹ GA₃)。共设置7个NaCl浓度梯度,分别为CK(0% NaCl)、T1(0.2%NaCl)、T2(0.4%NaCl)、T3(0.6% NaCl)、T4(0.8%NaCl)、T5(1.0%NaCl)和T6(1.2% NaCl)。培养7天后,测量其叶片的长度变化,并参照张宪政(1989)的方法,用刀片轻刮杨树叶片,直至刮成透明的薄层为止,得到下表皮。用中性红染色15分钟,然后放入去离子水中脱色10分钟,显微镜(Nikon,日本)下观察杨树下表皮细胞形状和大小的变化。

每个处理重复3次,每次重复接种15片叶盘,所有实验数据用SPSS13.0软件进行统计分析,EXCEL2003作图。

2 结果与讨论

2.1 NaCl处理对植株生根率和生物量的影响

如表1所示,杨树18-1和107的生根率随着NaCl处理浓度的增加而下降,但降低程度在二者之间有显著差异。在含有0.4%、0.6%NaCl的Hoagland营养液中培养2周后,杨树18-1的生根率分别为64.4%和33.3%,而杨树107的生根率仅为38.9%和14.4%,说明杨树107在0.6%NaCl溶液中大量死亡,而杨树18-1在此浓度下仍能保持较高的生根率,直至NaCl浓度增加到0.8%时,其生根率仍能达到11.1%。

NaCl处理对杨树叶片和根生长的影响显著,对茎的影响不明显。含有0.4%NaCl的Hoagland营养液轻度抑制杨树107的生长,其叶片和根的干重较对照略有减少;随着NaCl浓度升高至0.8%后,杨树107出现大量死亡,2周后其叶片、根干重较对照降低了81%和57%。与107相比,转基因杨树18-1表现出更好的耐盐性。0.6%NaCl胁迫2周后,18-1的叶片和根干重分别比107高62.51%和66.67%;0.8%NaCl胁迫2周后,杨树18-1的总干重为对照的51%,而107的总干重仅为对照的13.21%。显然,在NaCl处理下,转基因杨树18-1的生长量明显大于受体品

种107。

2.2 NaCl处理对杨树叶片中Na⁺、K⁺积累的影响

NaCl处理下Na⁺在2种基因型杨树叶片中的积累随着盐浓度的增加及处理时间的延长呈上升趋势,K⁺则呈下降趋势。由图1A可知:0.4%NaCl处理下,新叶中Na⁺的积累速度较为缓慢,叶片出现枯萎症状的时间较晚,受体杨树107第9天出现叶片干枯萎蔫的症状,12天后大量死亡;转基因杨树18-1第15天才出现叶片枯萎的症状,21天后叶片大量死亡。当NaCl浓度增加到0.6%时,叶片中Na⁺积累速度加快,处理6天后,107新叶中Na⁺积累到23.4 mg·g⁻¹DW时叶片开始死亡,之后Na⁺的积累速度变缓,死亡叶片数量越来越多。而0.6%NaCl胁迫12天后18-1的叶片才开始萎蔫,此时新叶中的Na⁺含量达到36.4 mg·g⁻¹DW(图1A),叶片开始大量死亡。老叶与新叶有相同的变化趋势(图1B)。NaCl处理后,杨树叶片中K⁺含量下降,且随着NaCl浓度的增加,K⁺含量的下降速率也明显加快。如图1A所示,0.6%NaCl开始处理后受体杨树107新叶中的K⁺含量快速下降,而18-1则在处理第6天后出现快速下降,之后二者新叶中的K⁺含量以每天2.2 mg·g⁻¹DW的速率减少,直至叶片出现干枯萎蔫时,下降速率变缓,最终K⁺含量维持在15 mg·g⁻¹DW左右。在老叶中,K⁺含量的降低趋势比较平缓,并且未经NaCl处理的老叶中K⁺含量为22.5 mg·g⁻¹DW,仅为新叶中的50%(图1B)。盐胁迫12天后,受体杨树

表1 Hoagland营养液中的NaCl浓度对107和18-1杨的生根率及叶片、茎和根干重的影响

Table 1 Effect of NaCl concentration in Hoagland solution on the rooting percentage, dry weight of leaves, stems and roots per plant of poplar 107 and 18-1

Traits of different genotypes		NaCl concentration (%)			
		0	0.4	0.6	0.8
Rooting percentage (%)	107	87.8±5.1 a	38.9±1.9 b	14.4±1.9 c	2.2±1.9 d
	18-1	94.4±1.9 a	64.4±5.1 b	33.3±3.3 c	11.1±1.9 d
Dry weight (g·plant ⁻¹)	107-leaf	0.544±0.034 a	0.443±0.024 b	0.276±0.015 c	0.106±0.018 d
	18-1-leaf	0.641±0.076 a	0.556±0.025 ab	0.486±0.084 b	0.258±0.048 c
	107-stem	0.098±0.005 a	0.081±0.014 a	0.084±0.025 a	0.073±0.009 a
	18-1-stem	0.096±0.008 a	0.105±0.009 a	0.104±0.014 a	0.097±0.013 a
	107-root	0.029±0.003 a	0.032±0.003 a	0.026±0.013 a	0.016±0.002 b
	18-1-root	0.032±0.003 a	0.039±0.003 a	0.046±0.007 ab	0.025±0.004 c

同一行中不同字母表示处理之间差异显著($P<0.05$)。

Data are means ± SE and values with different letters in each line represent significant difference between different treatments ($P<0.05$).

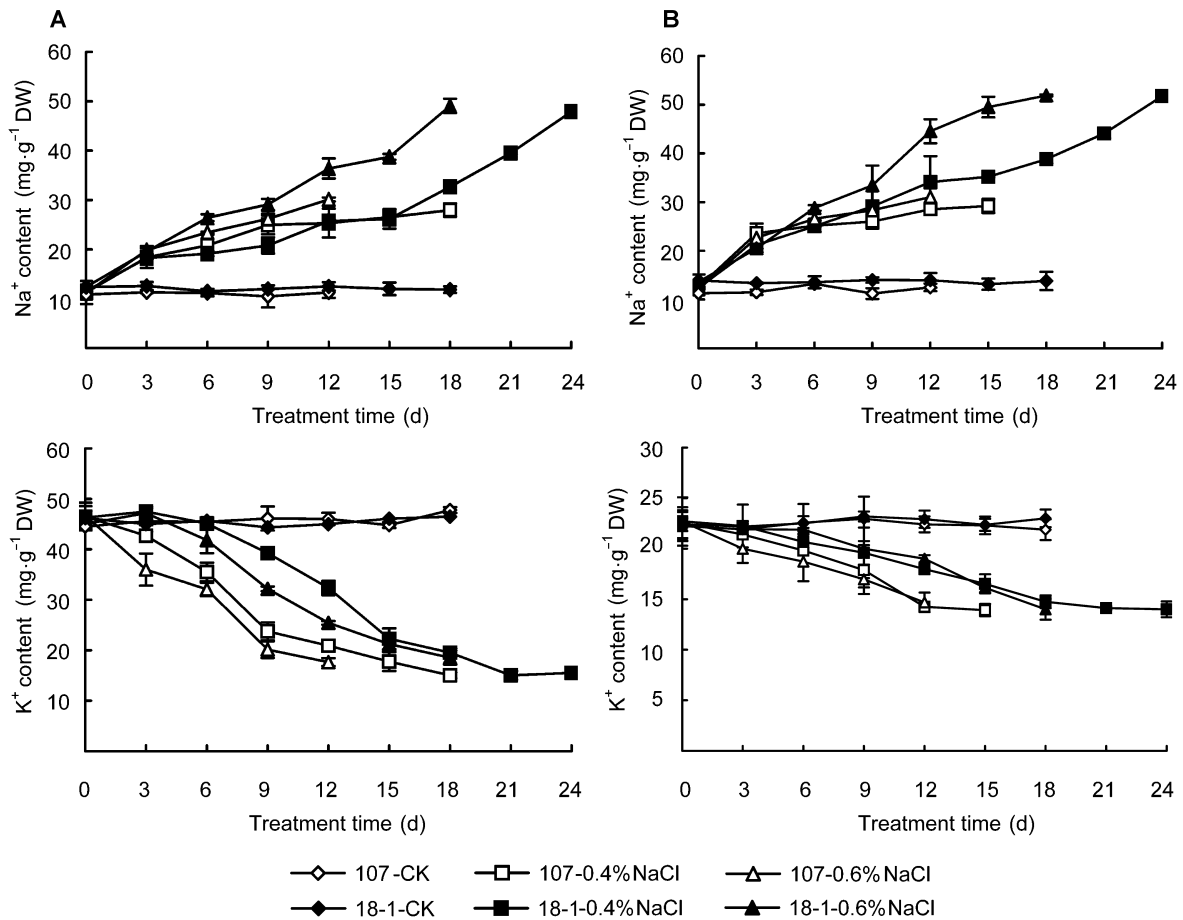


图1 不同浓度NaCl处理下杨树107和18-1叶片中Na⁺和K⁺含量的变化

(A) 新叶; (B) 老叶

Figure 1 Changes of Na⁺ and K⁺ contents in leaves from poplar lines of 107 and 18-1 under NaCl treatment of different concentrations

(A) New leaf; (B) Old leaf

107的叶片全部枯死, 所以图1中没有15天以后的数据。以上结果表明, 转基因杨树18-1的叶片对NaCl的耐受能力远远高于受体杨树107, 使叶片致死的Na⁺浓度能够客观地反映不同基因型杨树的耐盐潜力。

2.3 NaCl处理对杨树离体叶片生理特性的影响

如图2所示, 将杨树107和18-1的叶盘置于MS培养液中, 其叶绿素含量随时间的延长未发生明显变化, 表明叶片在此培养条件下可以保持良好的生理活性。将受体杨树107和转基因杨树18-1的叶盘置于含有NaCl的MS培养液中, 其叶绿素含量随处理时间的延

长而逐渐降低, 但二者的降低速率存在明显差异。置于含有1.2%NaCl的MS培养液中, 18-1叶片叶绿素的减少速率约为0.09 mg·g⁻¹FW·d⁻¹, 胁迫6天后, 其叶片与对照相比未发生明显变化(图3); 而107叶片叶绿素的减少速率约为2.5 mg·g⁻¹FW·d⁻¹, 胁迫6天后, 叶盘开始变黄(图3), 第8天时叶盘几乎完全失绿(结果未显示)。叶盘的失绿速率随着NaCl浓度的增加而加快。置于含有2.4%NaCl的MS培养液中处理6天, 杨树107叶盘大部分失绿(图3), 其叶绿素含量与对照相比约减少了72.3%(图2); 而杨树18-1叶盘仅边缘变黄(图3), 其叶绿素含量为1.75 mg·g⁻¹FW, 与对照

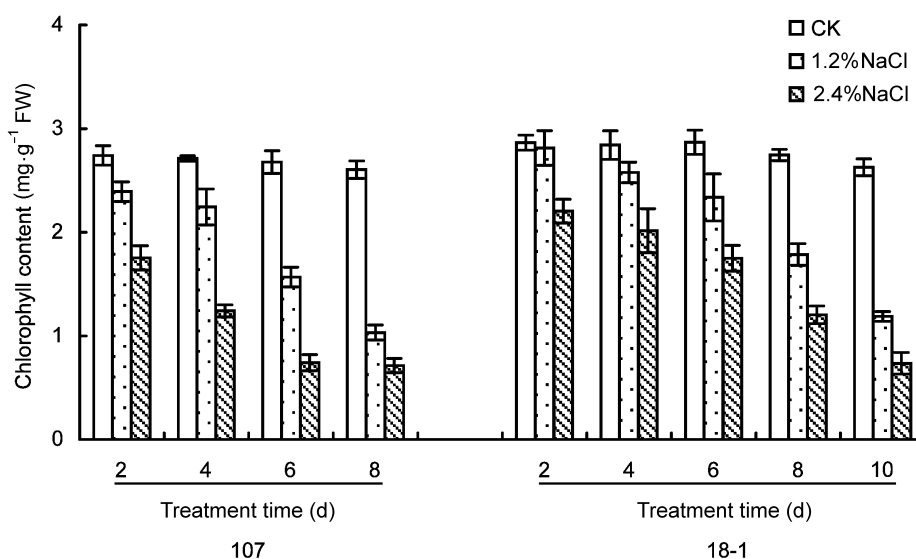


图2 不同浓度NaCl处理下杨树107和18-1叶盘中叶绿素含量的变化

Figure 2 Change of chlorophyll content in leaf sections from poplar lines of 18-1 and 107 under NaCl stress of different concentrations

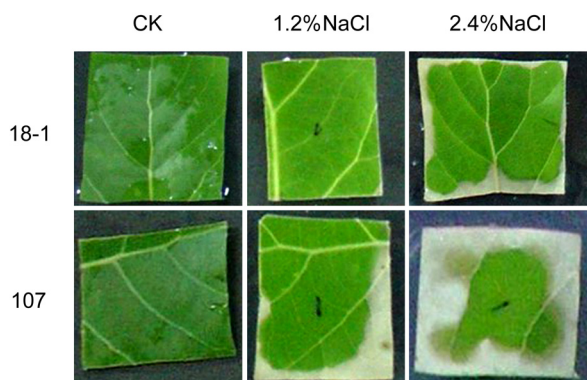


图3 在不同浓度的NaCl溶液中处理6天后杨树107和18-1叶盘的形态变化

Figure 3 The morphological changes of leaf sections from poplar lines of 107 and 18-1 treated in the NaCl solution of different concentrations for 6 days

相比仅下降了30%(图2)。

逆境条件下细胞膜首先受到影响,造成膜透性改变或丧失,因此膜透性常被作为植物抗性研究中的一个重要生理指标。由图4可知:将转基因杨树18-1和

受体杨树107的离体叶片分别置于8.0%NaCl溶液中,在开始的3分钟内,二者的相对电导率均迅速升高,之后增长速度减缓;但随着处理时间的延长,107叶盘相对电导率的增加速度明显高于18-1。8.0%NaCl溶液处理后,杨树107叶盘受到严重损伤,其相对电导率明显高于18-1;而18-1叶盘表现出极佳的耐盐性,其相对电导率的增加比较缓慢。

2.4 培养基中的NaCl浓度对杨树叶片生长的影响

将杨树107和18-1的叶片剪成0.5 cm × 1.5 cm大小的叶盘,接种在含有GA₃的MS固体培养基上,培养7天后其长度增加了近80%,但宽度没有明显变化。如图5所示,107叶盘对NaCl敏感,叶盘伸长的速度随NaCl浓度的增加而降低;当将叶盘接种在含有1.2% NaCl的MS培养基上时,叶片停止伸长,并逐渐萎蔫。18-1叶盘伸长受NaCl抑制的程度较轻,当在MS培养基中加入0.2%NaCl时,可促进叶盘的伸长;当将叶盘接种在含有1.2%NaCl的MS培养基上时,叶盘仍能伸长,培养7天后,其长度增加0.37 cm。对未接种于改良MS培养基的杨树叶盘表皮细胞进行显微观察,发现细胞的大小和形状在107和18-1之间无明显差

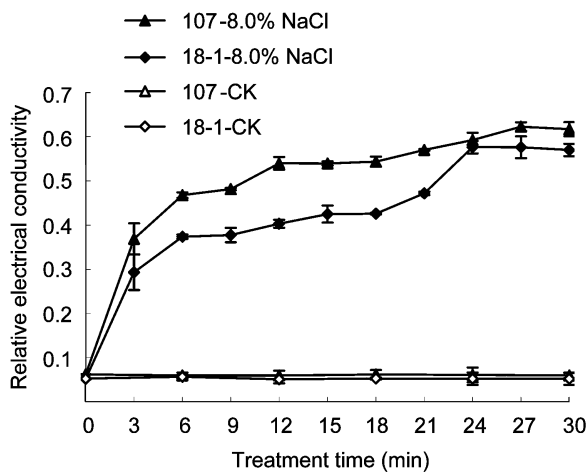


图4 8.0%NaCl处理下杨树107和18-1叶盘相对电导率的变化

Figure 4 Change of the relative electrical conductivity in leaf sections from poplar lines of 107 and 18-1 under 8.0% NaCl treatment

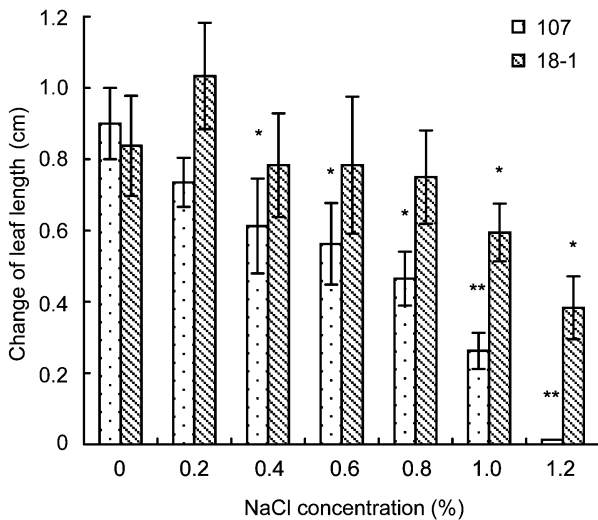


图5 在含不同浓度NaCl的MS培养基上培养7天后杨树107和18-1离体叶片长度的变化

*和**表示经LSD检测分别在0.05水平和0.01水平上差异显著。

Figure 5 Changes of the length of leaf sections from poplar lines of 107 and 18-1 after plated on MS medium containing different concentrations of NaCl for 7 days

* and ** represented significant difference between different treatments at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

异, 在 $41.67 \mu\text{m}^2$ 的范围内, 约有30个细胞、2-3个气孔(图6A, E)。将叶盘接种在含有0.4%NaCl的培养基中培养7天后, 107和18-1叶盘表皮细胞的长度显著增加, 在 $41.67 \mu\text{m}^2$ 的视野范围内, 只有约16个细胞、1个气孔(图6B, F)。将叶盘接种在含有0.8% NaCl的培养基上培养7天后, 18-1的叶盘表皮细胞明显大于107的叶盘表皮细胞(图6C, G)。将107叶盘接种在含1.0% NaCl的MS培养基上时, 叶盘几乎不再伸长, 在显微镜下观察其细胞数目和气孔数目与对照相近, 然而1.0%NaCl对18-1叶盘伸长的抑制程度较小, 表皮细胞仍继续增大(图6D, H)。

2.5 讨论

盐胁迫下植物的一个重要耐盐机制是将过量的盐离子限制在液泡内或区域化分布在不同组织中, 以降低地上部(尤其是叶片)的盐分浓度, 维持光合功能, 从而保证新陈代谢的正常进行(Zhu, 2003)。盐胁迫环境中杨树首先积累 Na^+ 的器官是叶片。本实验结果表明, 将植株置于含有不同浓度NaCl的Hoagland培养液中, 其叶片中的 Na^+ 含量随着盐浓度的增加及处理时间的延长而增加。在含有0.6% NaCl的Hoagland培养液中, 杨树107叶片第6天开始出现萎蔫症状, 而杨树18-1叶片9天后才开始萎蔫。盐胁迫环境中转基因杨树18-1叶片中积累 Na^+ 的潜力显著高于受体杨树107, 107新叶中能积累的最大 Na^+ 浓度为 $34.4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$, 而18-1新叶片中的 Na^+ 可以持续积累到 $51.4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$, 老叶也表现出相同的趋势。这一结果表明, 耐盐性好的转基因杨树叶片必然存在某些机制或途径来减轻 Na^+ 的积累对细胞造成的伤害。目前普遍认为, 将过量的 Na^+ 快速有效地泵进液泡内, 实现 Na^+ 区域化, 缓解 Na^+ 毒害对叶片的损伤, 是植物抵御盐胁迫的重要机制之一(教忠意等, 2008; Plett and Møller, 2010)。

在盐胁迫条件下, 叶细胞超微结构的变化主要表现在叶绿体和细胞膜系统等细胞器上, 叶绿素不仅与植物光合同化过程直接相关, 而且也是鉴定植物耐盐性的重要生理指标之一(丁丽娜等, 2006)。细胞质膜结构和功能的紊乱以及膜透性的变化是逆境胁迫作用的关键因素(贾文庆和刘会超, 2009)。电解质的外渗可以反映细胞质膜的完整性, 相对电导率越大说明电解质外渗越多, 膜系统的受迫害程度越严重。本

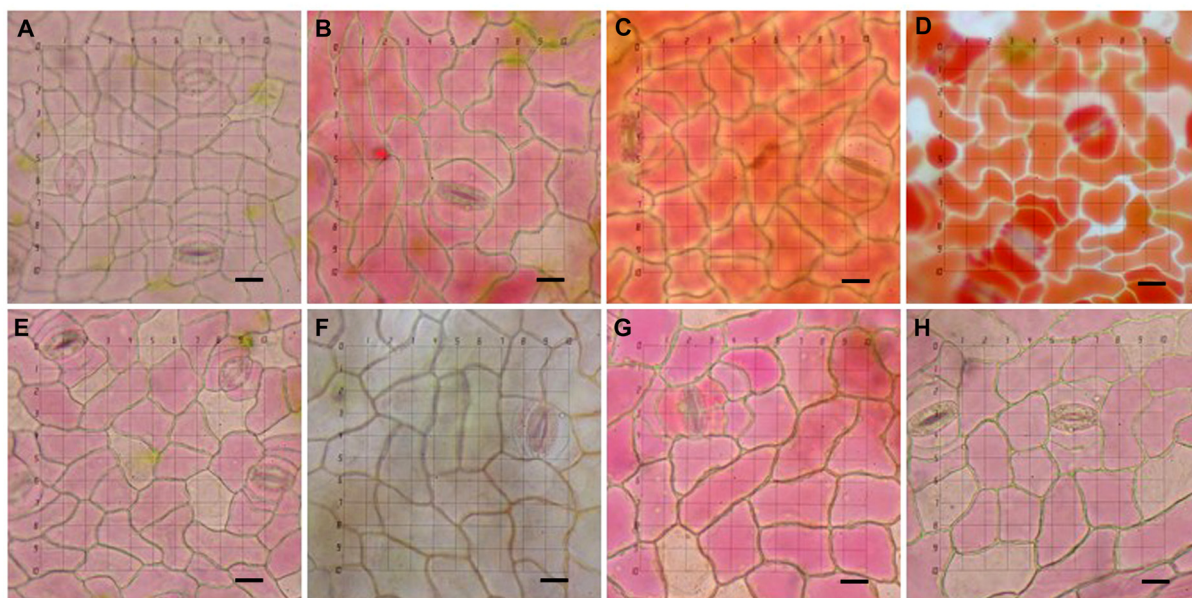


图6 在含不同浓度NaCl的改良MS培养基上培养7天后杨树107和18-1叶片表皮细胞的形态变化

(A) 杨树107下表皮(未处理对照); (B) 杨树107下表皮(0.4%NaCl); (C) 杨树107下表皮(0.8%NaCl); (D) 杨树107下表皮(1.0%NaCl); (E) 杨树18-1下表皮(未处理对照); (F) 杨树18-1下表皮(0.4%NaCl); (G) 杨树18-1下表皮(0.8%NaCl); (H) 杨树18-1下表皮(1.0%NaCl)。Bar=20 μ m

Figure 6 The morphological change of epidermal cells of leaf sections from poplar lines of 107 and 18-1 plated on modified MS medium containing different concentrations of NaCl for 7 days

(A) Original cells of 107 epidermis from leaf sections before plated on medium; (B), (C) and (D): Epidermal cells of 107 leaf sections after plated on modified MS medium with 0.4%, 0.8% and 1.0% NaCl for 7 days, respectively; (E) Original cells of 18-1 epidermis from leaf sections before plated on medium; (F), (G) and (H): Epidermal cells of 18-1 leaf sections after plated on modified MS medium with 0.4%, 0.8% and 1.0% NaCl for 7 days, respectively. Bar=20 μ m

研究发现, 在高盐浓度的MS培养液中, 107和18-1的叶盘中叶绿素含量随着胁迫时间及盐浓度的增加而下降, 但18-1的叶绿素丧失速率明显低于107, 2.4% NaCl处理6天后还能维持较高的叶绿素含量, 表明18-1的叶盘与107相比具有较高的耐盐性, 细胞受损程度较轻。8.0%NaCl溶液对转基因杨树18-1叶盘膜透性的伤害程度较轻, 其相对电导率的增加比较缓慢, 表现出较强的耐盐能力; 而受体杨树107叶盘的膜透性受损严重, 短时间内其相对电导率即达到最大值。

不同植物对Na⁺的敏感性在细胞水平上的差异也很明显。利用含盐培养基衡量细胞耐盐性的主要指标, 是筛选耐盐突变体的主要方法(李金花等, 1997; 陶晶等, 2000)。在本研究的离体叶片实验中, 107叶盘

对培养基中的NaCl浓度很敏感, 叶盘伸长的速度随NaCl浓度的增加而降低, 当NaCl浓度增加至1.2%后, 叶片停止伸长, 并逐渐萎蔫。与107相比, 18-1叶盘伸长受NaCl抑制的程度较轻, 低浓度NaCl可促进叶盘的伸长, 当浓度达到1.2%时, 叶盘仍能伸长, 表现出较强的耐盐性。显微观察发现, 杨树18-1叶片表皮细胞受NaCl的影响相对较轻, 细胞增大, 形态规则, 而107叶表皮细胞受NaCl影响程度大, 其细胞数目和气孔数目与对照相近, 且细胞形态不规则, 几乎不再生长。上述结果从细胞学水平表明, 转基因杨树18-1与受体杨树107相比具有更高的耐盐性。

叶片是植物制造有机养料的重要器官, 它通过光合作用为其它器官(如根和芽)提供生长所需的能量。当受到盐胁迫时, 离体叶片对盐胁迫的反应更加敏感

(Lv et al., 2008; Smethurst et al., 2009)。本实验结果表明, 生长部位一致、年龄相同的离体叶片可以在人工控制条件下准确鉴定杨树的耐盐潜力。经过反复实验, 发现离体叶片的叶绿素含量、膜透性和细胞生长状况等生理特性在同一基因型内的变化很小, 而这些特性在107与18-1之间存在明显差异, 说明离体叶片的生理学特性和细胞学特征能够准确反映不同基因型植株耐盐能力的差异。

参考文献

- 陈述 (2010). 转基因杨树耐盐性研究进展. 安徽农学通报 **16**(6), 30–32.
- 丁丽娜, 金华, 殷鸣放, 朱学静, 赵允鹏, 姜国斌 (2006). 盐胁迫对杨树幼苗叶片光合色素及气体交换特征的影响. 西北植物学报 **26**, 2523–2527.
- 何毅敏, 年洪娟, 陈丽梅 (2009). 植物耐盐基因工程研究进展. 中国生物工程杂志 **29**(3), 100–104.
- 贾文庆, 刘会超 (2009). NaCl胁迫对白三叶一些生理特性的影响. 草业科学 **26**(8), 187–189.
- 教忠意, 王保松, 施士争, 韩杰峰, 汪有良, 张珏, 隋德宗 (2008). 林木抗盐性研究进展. 西北林学院学报 **23**(5), 60–64.
- 李合生 (2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社. pp. 11–33.
- 李金花, 苏晓华, 张绮纹, 归复, 穆屺钦 (1997). 细胞工程育种——林木耐盐体细胞突变体育种研究进展. 世界林业研究 **10**, 15–20.
- 买买提·阿扎提, 艾力克木·卡德尔, 吐尔逊·哈斯木 (2008). 土壤盐渍化及其治理措施研究综述. 环境科学与管理 **33**(5), 29–33.
- 宋杰, 范海, 赵可夫 (2000). 试论可持续的盐地农业. 山东师范大学学报(自然科学版) **15**, 450–453.
- 苏雪辉, 赵自成, 张小强 (2008). 杨树生根性状研究. 江苏林业科技 **35**(4), 32–35.
- 陶晶, 秦彩云, 姚露贤, 才巨峰, 李沿宁 (2000). 杨树耐盐性突变体育种的研究进展. 吉林林业科技 **29**(2), 5–8, 50.
- 杨迎霞, 郑艳红, 聂莉莉, 张越, 陈受宜, 王景安, 刘仲齐 (2009). 杨树叶中Na⁺的积累与其耐盐能力的关系. 植物生理学通讯 **45**, 1070–1074.
- 张劲松, 谢灿, 刘峰, 刘风华, 陈受宜 (1999). 植物中存在新的两组分信号系统基因. 科学通报 **44**, 628–632.
- 张宪政 (1989). 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社. pp. 1–3.
- Allen JA, Chambers JL, Stine M (1994). Prospects for increasing the salt tolerance of forest trees: a review. *Tree Physiol* **14**, 843–853.
- Garthweite AJ, von Bothmer R, Colmer TD (2005). Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na⁺ and Cl⁻ into the shoots. *J Exp Bot* **56**, 2365–2378.
- Gévaudant F, Duby G, von Stedingk E, Zhao RM, Mor-somme P, Boutry M (2007). Expression of a constitutively activated plasma membrane H⁺-ATPase alters plant development and increases salt tolerance. *Plant Physiol* **144**, 1763–1776.
- Li YL, Su XH, Zhang BY, Huang QJ, Zhang XH, Huang RF (2009). Expression of jasmonic ethylene responsive factor gene in transgenic poplar tree leads to increased salt tolerance. *Tree Physiol* **29**, 273–279.
- Lv SL, Zhang KW, Gao Q, Lian LJ, Song YJ, Zhang JR (2008). Overexpression of an H⁺-PPase gene from *Thellungiella halophila* in cotton enhances salt tolerance and improves growth and photosynthetic performance. *Plant Cell Physiol* **49**, 1150–1164.
- Plett DC, Møller IS (2010). Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant Cell Environ* **33**, 612–626.
- Smethurst CF, Gill WM, Shabala S (2009). Using excised leaves to screen lucerne for salt tolerance: physiological and cytological evidence. *Plant Signal Behav* **4**, 39–41.
- Zhu JK (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 441–445.

Using Leaf Sections to Identify Different Salt Tolerance Potential of Poplar Plants

Ying Zhang¹, Yingxia Yang¹, Yanhong Jia², Xiangming Zhou², Lili Nie², Yue Zhang², Shouyi Chen³,
Jingan Wang^{1*}, Zhongqi Liu^{2*}

¹College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300384, China; ²Tianjin Research Center of Agricultural Bio-technology, Tianjin 300192, China; ³Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract Plant dry weight and changes in Na⁺ and K⁺ contents in leaves were investigated in 1-year-old cuttings from the receptor poplar 107 (*Populus × euramericana* 'Neva') and transgenic poplar 18-1 after cuttings were cultured in Hoagland solution with different NaCl concentrations. The growth and rooted percentage of 18-1 was higher than that of 107 with 0.6%NaCl, and the accumulation of Na⁺ in 18-1 leaves was about 1.45 times higher than that in 107. Physiological characteristics in leaf sections from 107 and 18-1 under NaCl stress were determined. Leaf sections from 18-1 displayed lower chlorophyll decreasing speed and relative electrical conductivity than that from 107. When sections of young poplar leaves were plated on MS medium with 1.2%NaCl, leaf sections from 107 stopped growing, but those from 18-1 grew continuously and their length increased nearly 50% after 7 days. Thus, salt tolerance between different genotypes can be identified in leaf sections.

Key words leaf sections, Na⁺ accumulation, poplar, salt tolerance

Zhang Y, Yang YX, Jia YH, Zhou XM, Nie LL, Zhang Y, Chen SY, Wang JA, Liu ZQ (2011). Using leaf sections to identify different salt tolerance potential of poplar plants. *Chin Bull Bot* **46**, 302–310.

* Author for correspondence. E-mail: zqliu733@yahoo.com.cn; jinganwang899@126.com