

钙对拟南芥耐盐性的调节

马淑英^{1,2} 赵 明¹

¹ 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ² 中国农业大学, 北京 100094)

摘 要: 钙作为植物生长的大量元素和胞内重要的第二信使能缓解植物的盐害,但在不同 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 条件下对它们之间的相互作用及生理机制的研究报道很少。为了进一步探讨 Ca^{2+} 对植物耐盐性的调节作用,本研究用外加不同浓度 $\text{CaCl}_2\text{-NaCl}$ 的固态和液态培养基对拟南芥的形态和生理生化的多项指标进行了测定。结果表明,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下拟南芥的根长随外加钙浓度的增加而增长,当 200、250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时抑制了拟南芥根的生长,但在同一 NaCl 浓度下随钙离子浓度增加,侧根增加且真叶逐渐展开并由紫变绿。在高盐胁迫下,拟南芥的生物量、存活率、 K^+ 含量、 K^+/Na^+ 都降低;但在同一 NaCl 浓度下,外加钙增加了盐胁迫下拟南芥的生物量、存活率、 K^+ 含量、 K^+/Na^+ 。在高盐胁迫下,拟南芥体内的脯氨酸和丙二醛(MDA)的含量增加,但在同一 NaCl 浓度下,外加钙增加了脯氨酸含量并抑制了膜脂过氧化的产物丙二醛(MDA)的积累。说明外加 Ca^{2+} 能通过提高植物对盐胁迫的适应而增加 K^+ 含量、脯氨酸含量并降低丙二醛的含量,增强植物抗离子、渗透和氧化等胁迫的能力,从而缓解盐对拟南芥幼苗的伤害,提高拟南芥的耐盐性。

关键词: 氯化钙;拟南芥;氯化钠胁迫;耐盐性

中图分类号: S565

Regulations of Calcium on the Salt Tolerance in *Arabidopsis*

MA Shu-Ying^{1,2} and ZHAO Ming¹

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ² China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: It has been known that calcium is one of the macro-elements and an important intracellular second messenger, which can release the salt damage. However there is poor knowledge about the mechanism of interaction between Na^+ and Ca^{2+} under different $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ratio condition damage. In order to explore the mechanism of regulation of salt tolerance by calcium in plants, the experiments of different concentrations of $\text{CaCl}_2\text{-NaCl}$ in solid and liquid culture media were conducted to find the morphological differences and physiological-biochemical characteristics were measured in *Arabidopsis*. The results showed that the root length increased with the increase of calcium under 0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl , the root growth was suppressed under 200 and 250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl , but the number of lateral roots increased and the leaves turned to green with the calcium increase under the same NaCl concentration. The biomass, survival rate, the K^+ content and K^+/Na^+ ratio reduced under high salt stress but increased with the calcium increase under the same salt stress. The contents of proline and malondialdehyde(MDA) increased under high salt stress, but under the same salt stress the contents of proline increased and MDA decreased with the calcium increase. These results implied that supplied Ca^{2+} may increase the adaptation and tolerance to salt stress by increasing contents of K^+ and proline, decreasing MDA content, and increasing the resistances to ionic, osmotic and oxidative stress, and further to salt stress in *Arabidopsis* seedlings.

Key words: CaCl_2 ; *Arabidopsis thaliana*; NaCl stress; Salt tolerance

高盐胁迫破坏了植物中的离子稳态而使细胞质中 Na^+ 大量积累导致离子毒害、渗透胁迫及营养缺乏等^[1-2]。高浓度 Na^+ 可置换质膜和细胞内膜系统

所结合的 Ca^{2+} ,膜所结合的离子中 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 增加,膜结构破坏及功能改变,增加了质膜的透性,致使细胞内钾、磷和有机溶质外渗^[3]。此外,盐胁迫使植物

基金项目: 国家自然科学基金(30370853)。

作者简介: 马淑英(1965-),女,博士,副研究员,研究方向为发育生物学,植物细胞信号转导和植物逆境生理生化。E-mail: masy65@163.com

Received(收稿日期): 2005-10-27; Accepted(接受日期): 2006-03-20.

体内活性氧化代谢系统的平衡受到影响,活性氧含量增高能启动膜脂过氧化作用,导致膜的完整性被破坏,膜的选择透性降低,电介质及某些小分子有机物大量渗漏,细胞物质交换平衡遭到破坏,从而使植物受到伤害^[1,4]。钙作为植物生长的大量元素和胞内重要的第二信使缓解植物盐害的研究已有过报道,但在不同 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 条件下对它们之间的相互作用及生理机制的研究报道很少,本文从形态、离子、渗透和氧化胁迫方面探讨了钙对盐胁迫下拟南芥伤害的缓解效应。

1 材料与方法

1.1 实验材料的培养

拟南芥野生型 (*Arabidopsis thaliana*, ecotype Columbia), 本实验室保存。

拟南芥种子用 NaClO 进行表面消毒 10 min, 灭菌蒸馏水漂洗 4 次, 每次漂洗 5 min, 再播到 MS 固体培养基上, 4℃ 春化 3 d, 然后放入光照箱培养 [光强 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 连续光照, 温度 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$]。

1.2 实验方法

1.2.1 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗形态的影响

将光照培养 6 d 的幼苗分别移到含有不同 CaCl_2 - NaCl 的固体 MS 培养基上 (处理条件见表 1), 每皿 8 株苗, 每个处理重复 5 次。观察、统计生长情况并于生长 8 d 后照相。

表 1 供试的固体 MS 培养基中 NaCl 、 CaCl_2 的浓度

Table 1 Concentrations of NaCl and CaCl_2 in solid MS medium need in the study

处理 Treatment	NaCl 浓度 NaCl concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	CaCl_2 浓度 CaCl_2 concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	0	1
		3
		10
2	200	1
		3
		10
3	250	1
		3
		10

1.2.2 NaCl 胁迫下钙对拟南芥苗生物量的影响

将光照培养 6 d 长势均匀的幼苗分别移到培养液中 (处理条件见表 2)。每瓶 60 株苗, 培养液以 1/2 MS 分别加 0、50、100、150、200 和 250 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl , 每一 NaCl 浓度又按 0、1、10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 处理, 每

个处理重复 3 次。于光照培养箱中摇床培养 48 h [光强 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 连续光照, 温度为 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$, 摇床转速 125 r/min], 取样, 立即放到 105°C 烘箱中杀青 30 min, 然后在 80°C 下烘 24 h, 称干重。

表 2 供试的液体 1/2MS 培养基中 NaCl 、 CaCl_2 的浓度

Table 2 Concentrations of NaCl and CaCl_2 in liquid 1/2 MS medium need in the study

处理 Treatment	NaCl 浓度 NaCl concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	CaCl_2 浓度 CaCl_2 concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	0	0
		1
		10
2	50	0
		1
		10
3	100	0
		1
		10
4	150	0
		1
		10
5	200	0
		1
		10
6	250	0
		1
		10

1.2.3 生理指标的测定 方法同 1.2.2, 处理 24 h 后取样用于测定 MDA 含量, 每样品各 50 株苗, 吸干水分, 立即放到液氮中速冻, -80°C 保存; 用于测定 K^+ 、 Na^+ 、脯氨酸含量的每份样品各 50 株苗立即放到烘箱中 105°C 杀青 30 min, 然后在 80°C 下烘 24 h, 称干重。

1.2.3.1 K^+ 、 Na^+ 含量的测定 将植物材料 (每份样品为 50 株苗) 磨碎后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 在 125 r/min、 37°C 恒温摇床上浸提过夜, 次日过滤, 取滤液按比例稀释, 用日立 Z-5000 塞曼火焰原子吸收分光光度计测定 K^+ 、 Na^+ 浓度。测定波长分别是 766.5 nm 和 589 nm。

1.2.3.2 脯氨酸的提取和含量测定 磺基水杨酸法^[5]。

1.2.3.3 丙二醛含量的测定 硫代巴比妥酸法^[5]。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗生长形态的影响

将拟南芥苗移至不同的固体培养基上进行 8 d 的观察, 结果表明, 0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 时, 拟南芥的根

长随外加钙浓度的增加而增长,主侧根长度依次为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+} > 3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+} > 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$; $200, 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 时拟南芥的根生长受到抑制,在同一 NaCl 浓度下随钙离子浓度增加,侧根增加,真叶逐渐展开并由紫变绿; $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 条件下,外加 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 有 25% 死苗,外加 3、 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 无死苗,根稍增长,外加 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 时有 90% 幼苗的根发生弯曲性生长; $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 条件下,外加 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 时幼苗全部死亡,外加 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 时有 20% 死苗,外加 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 时无死苗(图 1,图 2)。

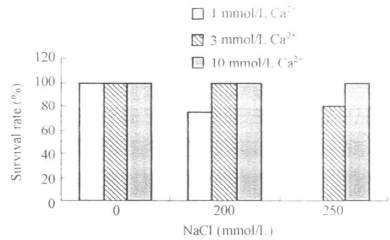


图 1 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥幼苗存活率的影响
Fig. 1 Effect of Ca^{2+} on the survival rate of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

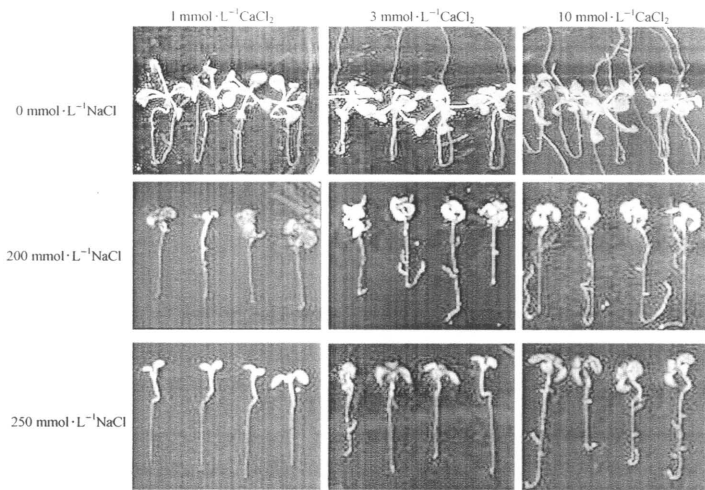


图 2 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥幼苗生长的影响
Fig. 2 Effect of Ca^{2+} on the growth of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

2.2 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗生物量的影响

随 NaCl 浓度的升高,拟南芥的生长受到抑制,生物量下降,但在同一 NaCl 浓度下随钙离子浓度的升高拟南芥的生物量增加,且 $0, 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 的生物量与 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 的生物量呈极显著差异(图 3)。说明 NaCl 胁迫下外加钙缓解了盐的毒害,减轻了盐对植物生长的抑制。

2.3 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗生理指标的影响

2.3.1 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗 K^+ 、 Na^+ 含量的影响

在 $0 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 时,拟南芥幼苗的 K^+ 含量随 NaCl 浓度的升高而下降;无 NaCl 时, K^+ 含量随 Ca^{2+} 浓度的升高变化不显著;在含有 NaCl 的营养液中,同一 NaCl 浓度下幼苗的 K^+ 含量

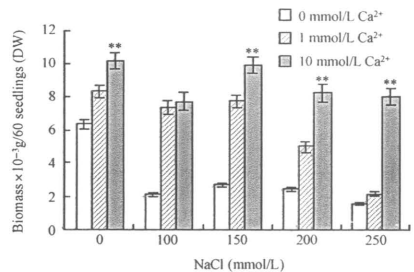


图 3 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥幼苗生物量的影响
Fig. 3 Effect of Ca^{2+} on the biomass of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

* *: 与 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 处理差异极显著。 t 检验 $P < 0.01$ 。下同。
* *: significantly different from the control by t -test at $P < 0.01$.
Error bars represent SD ($n = 3$). The same below.

随 Ca^{2+} 浓度的升高而增加. $0, 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 与 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 处理的 K^+ 含量呈极显著差异(图 4)。

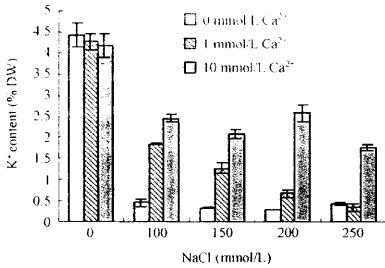


图 4 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥苗 K^+ 含量的影响
Fig.4 Effect of Ca^{2+} on K^+ content of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

无 NaCl 胁迫时, Na^+ 含量随 Ca^{2+} 浓度的升高变化不显著; 在 $100 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 的范围内, Na^+ 含量随盐浓度的升高而增加; $150 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 时, $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 比 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 的 Na^+ 含量显著下降, $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 时 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 与 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 的 Na^+ 含量无明显变化, 可能是 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 对拟南芥胁迫较轻的缘故; $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 时 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 与 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 的 Na^+ 含量也无明显变化, 可能是高盐的毒害使拟南芥减弱了自身的调节能力。在同一 NaCl 浓度胁迫下, $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 比 1 和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 的 Na^+ 含量低是因为营养液中无钙, Na^+ 加剧了膜结构的破坏, 增加膜透性, 使胞内离子外渗导致的(图 5)。

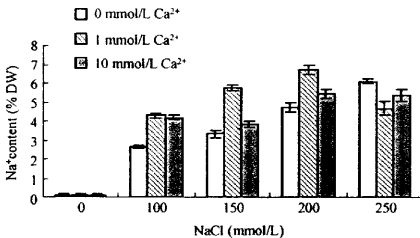


图 5 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥苗 Na^+ 含量的影响
Fig.5 Effect of Ca^{2+} on Na^+ content of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

随 NaCl 浓度的增加 K^+/Na^+ 下降, 同一 NaCl 浓度下随钙离子浓度的升高 K^+/Na^+ 升高, $0, 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 与 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 的 K^+/Na^+ 含量呈极显著差异(图 6)。

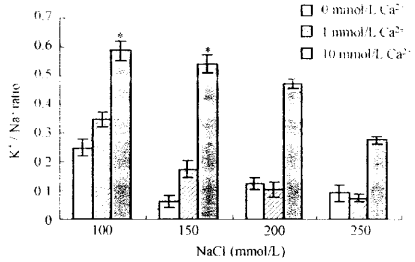


图 6 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥幼苗 K^+/Na^+ 的影响
Fig.6 Effect of Ca^{2+} on the K^+/Na^+ of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

2.3.2 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗脯氨酸含量的影响 $0 \sim 150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 时, 拟南芥幼苗脯氨酸含量随 NaCl 浓度的升高变化不显著, 说明在此 NaCl 浓度范围内还不能引起拟南芥严重的渗透胁迫; 而在 $200, 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 浓度下, $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 时拟南芥脯氨酸积累的最多, 与对照呈极显著差异(图 7)。

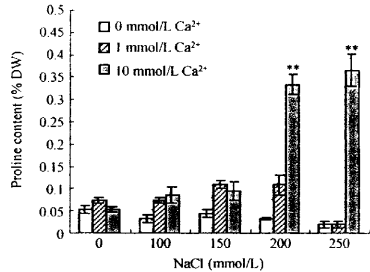


图 7 钙对 NaCl 胁迫的拟南芥苗脯氨酸含量的影响
Fig.7 Effect of Ca^{2+} on the proline content of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

2.3.3 NaCl 胁迫下钙对拟南芥幼苗丙二醛(MDA)含量的影响 拟南芥幼苗丙二醛含量随 NaCl 浓度的升高而增加, 同一 NaCl 浓度下丙二醛(MDA)含量在外加钙浓度为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时极显著下降(图 8)。说明高浓度的 NaCl 可导致氧化胁迫, 增强了膜脂过氧化程度。无 NaCl 胁迫时, 钙对丙二醛的含量影响不大。 $200 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 胁迫下, 外加钙后丙二醛的含量下降, 表明钙缓解了由 NaCl 引起的氧化胁迫伤害, 但 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 与 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 对丙二醛含量的影响差异不明显。

由上述结果可知, 盐胁迫下外加 Ca^{2+} 通过减少 K^+ 的泄漏, 提高 K^+/Na^+ , 高钙下促进脯氨酸合成抑

制了丙二醛的积累等,调节了拟南芥的耐盐性从而缓解了拟南芥因盐胁迫导致的毒害。

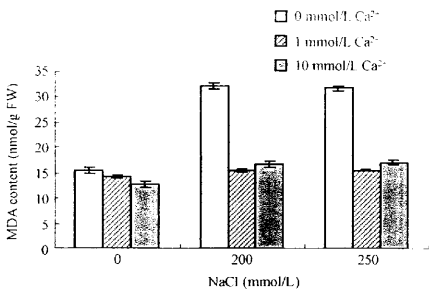


图8 钙对NaCl胁迫的拟南芥幼苗丙二醛含量的影响
Fig.8 Effect of Ca²⁺ on MDA content of *Arabidopsis* seedlings under NaCl stress

3 讨论

盐胁迫导致的离子和渗透胁迫对植物冠生长比对根生长的抑制严重^[6],但也有研究表明根的生长对盐胁迫特别敏感^[7],Na⁺抑制了根细胞的伸长^[8]。植物对盐胁迫的短期响应中,根中的水势通过一个很可能包括生长物质的信使系统调控冠的生长^[9-10];与此不同,认为短期的玉米叶的生长是不依赖根的,而冠生长的抑制是由于盐在叶中过分积累的长期效应的结果^[11-14];盐胁迫的初期,茎顶端可能向叶中传递信号的分生组织的营养受到破坏^[15]。本研究表明,NaCl胁迫使拟南芥根的生长明显受到抑制,叶子也呈现胁迫伤害的症状,说明NaCl胁迫对植物的整体均有抑制。但外加钙促进了拟南芥的主根和侧根生长,叶色也由紫变绿(图2-2),生物量增加。有研究也表明盐胁迫下外加钙促进了大麦根的生长和大麦鲜重的增加^[7],减少了蕨配子体的组织性坏死和失绿^[16]。

多年的研究普遍认为钙能缓解盐胁迫对植物的毒害,这种伤害主要是Na⁺的过多积累造成的离子毒害。外源Ca²⁺浓度的升高使去极化导致的外向全细胞电流降低,但内源Ca²⁺和外源Mg²⁺浓度的升高则无明显的影响^[17]。对黑麦、玉米、小麦皮层原生质体的研究表明,胞外Ca²⁺不仅抑制这些细胞的IRCs,还有Na⁺通透的VICs^[18-20]。高浓度盐下,Ca²⁺能增强或维持K⁺的吸收^[21]。大麦中,胞外Ca²⁺浓度的增加有利于植物对NO₃⁻的吸收并与叶的生长有关^[22]。Cramer等在研究盐胁迫下棉花根中离子

流时认为,高浓度Na⁺破坏了K⁺、Ca²⁺离子的运输,Ca²⁺浓度的升高可以缓解盐害,Na⁺内流在高胞外Ca²⁺时比低胞外Ca²⁺时少。Ca²⁺内流是复杂的,低盐浓度时随盐浓度的增加而下降;150~200 mmol·L NaCl时,特别在高Ca²⁺下随盐浓度的升高而增加。K⁺内流随盐浓度升高明显下降,但不受胞外Ca²⁺的影响。胞外Ca²⁺减轻盐胁迫主要是通过降低Na⁺/K⁺^[23,24]。Ca²⁺能减少细胞壁和质膜对Na⁺的吸附,保持了植物细胞内膜系统的完整性和功能,增加了质膜K⁺通道的活性^[25-26]。高盐胁迫下钙增加了K⁺的含量,较无外源钙时,维持了植物较高的K⁺/Na⁺。本实验的结果也证明了这点。Kinraide认为钙缓解离子毒害有3种机制,一是Ca²⁺通过诱导细胞表面负电荷的减少而取代有毒的离子;二是通过增加细胞表面Ca²⁺以缓解有毒离子对植物生长的抑制;三是Ca²⁺与有毒的离子间的相互作用,主要是缓解Na⁺毒害,其次是少量的H⁺,但不缓解Al³⁺^[27]。

钙是如何通过分子机制缓解盐胁迫的呢?这是人们最关心也是揭示植物耐盐机理的焦点。随着分子生物学技术的发展和突变体的利用,钙缓解盐害的机理有了新的进展。如发现了对盐胁迫敏感的SOS基因,其中SOS1编码质膜上的Na⁺/H⁺反向转运体;SOS2编码具有类似酵母SNF的N端的苏氨酸/丝氨酸蛋白激酶,SOS3编码的是钙依赖的激酶。盐胁迫下这三个基因都与维持植物体内K⁺营养有关,而且在一条信号通路上^[1,28]。体内Ca²⁺的靶蛋白很多,蛋白激酶、磷酸酶和Ca²⁺结合蛋白都可能参与了该信号转导途径^[29-30]。相信还有其他靶蛋白的基因也参与了盐胁迫的信号传导。

一般认为渗透调节物质能协调细胞与外界的渗透压平衡,利用其亲水性作用于蛋白复合体或膜表面而起保护作用,并减轻离子的毒害^[31]。同时渗透物质的合成也是一种对胁迫的适应,植物在不利环境下可诱导相关合成酶类基因的表达增强,提高胞内渗透物质的含量^[32-33]。本研究表明,在200 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下,拟南芥幼苗脯氨酸含量随外加钙浓度的升高而积累,说明脯氨酸在感知盐胁迫的信号中作为渗透调节物质缓解了盐胁迫。盐胁迫还能导致植物的氧化胁迫,诱导产生超氧化物自由基而引起细胞膜功能的紊乱^[1]。植物为抵御这种伤害,就会产生一些清除活性氧的酶类。实验结果表明,盐胁迫下丙二醛含量增加,说明盐对质膜有伤害,但

外加钙后,丙二醛含量下降,说明钙通过调节丙二醛的含量缓解了盐对质膜的伤害。

可见,钙对盐胁迫的缓解作用,提高植物的耐盐性是多方面、多途径的。要阐明其机理还有待于探讨钙的下游分子在盐胁迫信号传递过程中的作用。

References

- [1] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 463-499
- [2] Zhu J K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*. 2001, 6: 66-71
- [3] Lauchli A. Calcium, salinity and plasma membrane. In: Leonard R T, Kepler P K eds. *Calcium in Plant Growth and Development*. American Society of Plant Physiologists Symposium Series, 1990. pp 26-35
- [4] Tsugane K, Kobayashi K, Niwa Y, Ohba Y, Wada K, and Kobayashi H. A recessive *Arabidopsis* mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant Cell*, 1999, 11: 1195-1206
- [5] Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences. *Modern Laboratory Manual of Plant Physiology (现代植物生理学实验指南)*. Beijing: Science Press, 1999 (in Chinese)
- [6] Greenway H, Munns R. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu Rev Plant Physiol*. 1980, 31: 149-190
- [7] Cramer G R, Epstein E, Lauchli A. Na⁺-Ca²⁺ interactions in barley seedlings: relationship to ion transport and growth. *Plant, Cell and Environ*. 1989, 12: 551-558
- [8] Kurth E, Cramer G R, Epstein E. Effects of NaCl and CaCl₂ on cell enlargement and cell production in cotton roots. *Plant Physiol*, 1986, 82: 1102-1106
- [9] Meizner F C, Grantz D A, Smit B. Root signals mediate coordination of stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane. *Aust J Plant Physiol*. 1991, 18: 329-338
- [10] Munns R, Termaat A. Whole-plant responses to salinity. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13: 143-160
- [11] Cramer G R, Bowman D C. Short-term leaf elongation kinetics of maize in response to salinity is independent of the root. *Plant Physiol*, 1991, 95: 965-967
- [12] Flower T J, Hajibagheri M A, Yeo A R. Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing undersaline conditions: evidence for *Oerli hypothesis*. *Plant, Cell and Environ*, 1991, 14: 319-325
- [13] Yeo A R, Flowers. Salinity resistance in rice and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13: 161-173
- [14] Yeo A R, Lee K S, Izard P. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice. *J Exp Bot*, 1991, 42: 881-889
- [15] Lazof D, Läuchli A. The nutritional status of the apical meristem of *Lactuca sativa* as affected by NaCl salinization: an electron-probe microanalytic study. *Planta*, 1991, 184: 334-342
- [16] Vogehei L, Hickok I G, Warne T R. Differential effects of Na⁺, Mg²⁺, K⁺, Ca²⁺ and osmotic stress on the wild type and the NaCl-tolerant mutants *sl1* and *sl2* of *Ceratopis richardii*. *Plant, Cell and Environ*. 1996, 19: 17-23
- [17] Murata Y, Yoshibashi M, Obi I, Kakutani T. Ca²⁺ regulation of outward rectifying K⁺ channel in mitigation of salt-stress effects by external Ca²⁺. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39: 1039-1044
- [18] White P J. The molecular mechanism of sodium influx to root cells. *Trends Plant Sci*, 1995, 4: 245-246
- [19] Roberts S K, Tester M. A patch clamp study on Na⁺ transport in maize roots. *J Exp Bot*. 1997, 48: 431-440
- [20] Tyerman S D, Skerrett M, Garrill A, Findlay G P, Leigh R A. Pathways for the permeation of Na⁺ and Cl⁻ into protoplasts derived from the cortex of wheat roots. *J Exp Bot*, 1997, 48: 459-480
- [21] Epstein E. How calcium enhances plant salt tolerance. *Science*, 1998, 280: 1906-1907
- [22] Ward M R, Aslam M, Huffaker R C. Enhancement of nitrate uptake and growth of barley seedlings by calcium under saline conditions. *Plant Physiol*. 1986, 80: 520-524
- [23] Cramer G R, Lurch J, Lauchli A, Epstein E. Influx of Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ into roots of salt-stressed cotton seedlings. *Plant Physiol*, 1987, 83: 510-516
- [24] Rengel Z. The role of calcium in salt toxicity. *Plant, Cell and Environ*, 1992, 15: 625-632
- [25] Jacoby B, Hanson J B. Control on ²²Na⁺ influx in corn root. *Plant Physiol*, 1985, 77: 930-934
- [26] Rains D W. Salt transport by plants in relation to salinity. *Annu Rev Plant Physiol*, 1967, 23: 367-388
- [27] Kirnaide T B. Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. *Plant Physiol*. 1998, 118: 513-520
- [28] Zhu J K. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, 124: 941-948
- [29] Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, Yamaguchi-Shinozaki K, Hayashida N, Shinozaki K. Two genes that encode Ca²⁺-dependent protein kinases are induced by drought and high-salt stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet*, 1994, 244: 331-340
- [30] Choi H, Park H J, Park J H, Kim S, Im M Y, Seo H H, Kim Y W, Hwang I, Kim S Y. *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase AtCPK32 interacts with ABF4, a transcriptional regulator of abscisic acid-responsive gene expression, and modulates its activity. *Plant Physiol*, 2005, 139: 1750-1761
- [31] Bohner H J, Su H, Shen B. Molecular mechanisms of salinity tolerance. In: Shinozaki K Yamaguchi-Shinozaki K eds. *Molecular Responses to Cold, Drought, Heat, and Salt Stress in Higher Plants*. Austin: RG Landes Company, 1999. pp 29-62
- [32] Delauney A, Verma D P S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J*, 1993, 4: 215-223
- [33] McCue K F, Hanson A D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Biotechnology*, 1990, 8: 358-362