

HKT 蛋白与植物耐盐性研究进展

赵常玉, 李剑, 张金林, 王锁民

(草地农业系统国家重点实验室 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要: 盐胁迫是一种严重影响植物生长的非生物胁迫, 植物在长期进化过程中形成了各种机制来抵御和适应盐胁迫。高亲和性钾离子转运蛋白(HKT)是植物中普遍存在的一类蛋白, 对高等植物体内 Na^+ 再循环, 维持植株地上部特别是叶片中的低 Na^+ 浓度和高 K^+/Na^+ 具有重要作用。本研究对 HKT 蛋白的分子特性、结构与功能及其与植物耐盐性的关系进行了综述。

关键词: HKT 转运蛋白; 结构与功能; K^+/Na^+ ; 盐胁迫; 耐盐性

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2012)10-1604-09

* 1

土壤盐渍化严重影响作物产量, 降低农业生产能力^[1]。盐渍生境中, 过多的 Na^+ 破坏植物体内离子平衡、引起生物膜失活、新陈代谢活性下降, 最终导致植物生长受到抑制甚至死亡^[2]。 Na^+ 是土壤溶液中的大量元素, 浓度范围在 $0.4 \sim 150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 浓度较低时, 可以促进某些植物的生长, 是有益元素^[3-6], 但浓度较高时, 大多数植物的生长受到严重抑制^[7-8]。 K^+ 是植物所必需的大量元素之一, 与 Na^+ 有相似的水合半径。盐胁迫时, 非选择性阳离子通道或转运蛋白不能将二者区分, 大量 Na^+ 的吸收抑制了植物根系对 K^+ 的摄入, 植物体内 K^+/Na^+ 降低, 造成盐害, 因此维持细胞质中高的 K^+/Na^+ 是植物应对胁迫的有效措施^[9-10]。高亲和性钾离子转运蛋白 HKT(High-affinity K^+ Transporter)能维持植物体内离子平衡, 增强植物耐盐性。本研究就 HKT 蛋白的最新研究进展进行综述, 以期阐述其与植物耐盐性的关系。

1 HKT 蛋白种类和特性

Schachtman 和 Schroeder^[11] 首次从小麦(*Triticum aestivum*)中克隆了 HKT 蛋白基因 *TaHKT2;1*, 其开放阅读框(ORF)编码 534 个氨基酸, 分子量 58.9 KD, 具有 10~12 个跨膜区, 位于第 7 号染色体上, 原位杂交显示 *TaHKT2;1* 主要在根皮层和叶维管组织细胞中表达。继小麦 *TaHKT2;1* 之后, 先后在拟南芥(*Arabidopsis thali-*

ana)、桉树(*Eucalyptus camaldulensis*)、水稻(*Oryza sativa*)、冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*)、盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)等植物中发现了 HKT 基因^[12-16], 与大肠杆菌(*Escherichia coli*) TrkH、嗜嗜热菌(*Aquifex aeolicus*) KtrB、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*) Trk1, 2 等共同构成一个超级 K^+ 转运蛋白基因家族^[17-18]。根据异源表达系统上的离子选择性特征差异和氨基酸序列同源性分析, Platten 等^[19] 将 HKT 蛋白分为两类: 第 1 类以拟南芥 AtHKT1;1 为代表, 包括盐地碱蓬 SsHKT1;1、水稻 OsHKT1;5 和冰叶日中花 McHKT1;1 等, 通常为 Na^+ 转运蛋白, 有的也能转运 K^+ ^[13, 15]; 第 2 类以小麦 TaHKT2;1 为代表, 包括水稻 OsHKT2;1、大麦(*Hordeum vulgare*) HvHKT2;1 等, 为 K^+-Na^+ 共转运蛋白, 双子叶植物缺少此类蛋白基因(图 1)。HKT 基因通常含有两个内含子, 且第 1 类上的内含子明显比第 2 类大, 而一粒小麦(*Triticum monococcum*) TmHKT1;4-A2 只有一个内含子^[20]。这种命名法可以分析不同物种相同基因和相同物种不同基因在进化和功能上的区别与联系^[19]。

高等植物 HKT 蛋白的氨基酸数目多在 500 个左右。有的 HKT 蛋白基因是单拷贝, 或是一个小基因家族, 通常受盐胁迫和 K^+ 饥饿诱导, 可以在根、茎、叶和花等不同组织中表达^[21-23](表 1)。拒盐型

收稿日期: 2011-07-11 接受日期: 2011-08-19

基金项目: 国家自然科学基金(31072073); 教育部博士学科点专项科研基金(20090211110001); 兰州市科技发展计划项目(2010-1-39); 中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky-2010-2)

作者简介: 赵常玉(1987-), 女, 甘肃西峰人, 在读硕士生, 主要从事牧草逆境生理与分子生物学研究。E-mail: zhaochy09@lzu.edu.cn
通信作者: 王锁民 E-mail: smwang@lzu.edu.cn

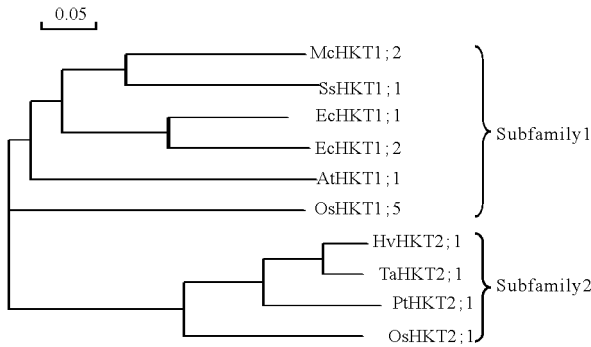


图 1 高等植物 HKT 蛋白氨基酸序列同源性分析^[19]

Fig. 1 Phylogenetic analysis of HKT proteins of higher plants^[19]

注: Mc—冰叶日中花; Ss—盐地碱蓬; Ec—赤桉; At—拟南芥; Os—水稻; Hv—大麦; Ta—小麦; Put—小花碱茅。

Note: Mc—*Mesembryanthemum crystallinum*; Ss—*Suaeda salsa*; Ec—*Eucalyptus camaldulensis*; At—*Arabidopsis thaliana*; Os—*Oryza sativa*; Hv—*Hordeum vulgare*; Ta—*Triticum aestivum*; Put—*Puccinellia tenuiflora*.

盐生植物小花碱茅(*Puccinellia tenuiflora*) *PutHKT2;1* 在盐胁迫时, 根中表达量增加, 地上部变化不大^[24], 而盐地碱蓬 *SsHKT1;1* 叶中表达量高于根中^[16, 21]。不同物种基因组中 *HKT* 基因数目差异很大, 拟南芥只有 1 个 *AtHKT1;1*^[12], 而 Garcíadeblás 等^[25] 在水稻品种日本晴(Nipponbare) 基因组中发现 7 个可能编码 Na^+ 转运蛋白的 *HKT* 基因(另 2 个为假基因)。

2 HKT 蛋白结构与功能

Durell 等^[26] 认为原核生物含有 1 个 MPM (Membrane-Pore-Membrane), 包括 2 个跨膜螺旋和 1 个 P 环, 植物 HKT 蛋白由 KcsA 类 K^+ 通道亚基经复制加倍及融合进化而来, 所以包含 4 个 MPM, 此模型已在小麦、水稻和拟南芥中得到证实^[27-28](图 2)。HKT 蛋白 4 个 MPM 高度保守, 并且含有 1 个甘氨酸-酪氨酸-甘氨酸(GYG)基序, 研

表 1 部分高等植物 HKT 蛋白基因分子特性

Table 1 Molecular characteristics of HKT of higher plants

物种 Species	基因名称 Gene	基因登录号 GenBank number	氨基酸残基数 Amino acid residues	表达部位 Expression site
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtHKT1;1</i>	AF237672	506	根、茎、叶和花 Root, shoot, leaf, and flower
大豆 <i>Glycine max</i>	<i>GmHKT1;1</i>	—	419	根、茎和叶 Root, shoot, and leaf
赤桉 <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	<i>EcHKT1;1</i>	AF176035	550	根、茎 Root, shoot
	<i>EcHKT1;2</i>	AF176036	549	叶根、茎和叶 Root, shoot, and leaf
冰叶日中花 <i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	<i>McHKT1;1</i>	AF367366	505	根、茎、叶、花和心皮 Root, shoot, leaf, flower, and carpel
盐地碱蓬 <i>Suaeda salsa</i>	<i>SsHKT1;1</i>	AY530754	550	根和叶 Root, leaf
水稻 <i>Oryza sativa</i>	<i>OsHKT1;5</i>	DQ148410	554	根和叶 Root, leaf
	<i>OsHKT2;1</i>	AB061311	530	根和叶 Root, leaf
小花碱茅 <i>Puccinellia tenuiflora</i>	<i>PutHKT2;1</i>	FJ716169	531	根和叶 Root, leaf
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	<i>TaHKT2;1</i>	U16709	533	根和叶 Root, leaf
大麦 <i>Hordeum vulgare</i>	<i>HvHKT2;1</i>	AM000056	531	主要在根中表达 Root

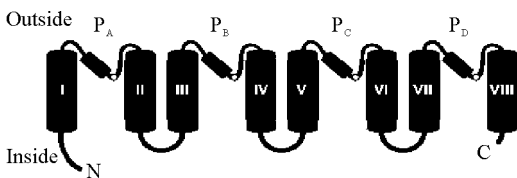


图 2 HKT 类蛋白拓扑结构示意图^[17, 27-28, 34]

Fig. 2 Diagrammatic representation of HKT-like protein topological structure^[17, 27-28, 34]

究表明, HKT 蛋白存在与 K^+ 和 Na^+ 选择性吸收相关的多个位点, 且多位于 P 环或离 P 环很近的区域^[27]。第 1 类 HKT 蛋白第 1 个 P 环过滤器位置处有 1 个丝氨酸残基, 其余 3 个 P 环上为甘氨酸残基, 构成 S-G-G-G 类型; 第 2 类 HKT 蛋白第 1 个 P 环处的丝氨酸残基被甘氨酸代替, 其余 3 个 P 环处仍为甘氨酸残基, 构成 G-G-G-G 类型, 水稻 *OsHKT2;1* 例外^[14, 29](图 3)。

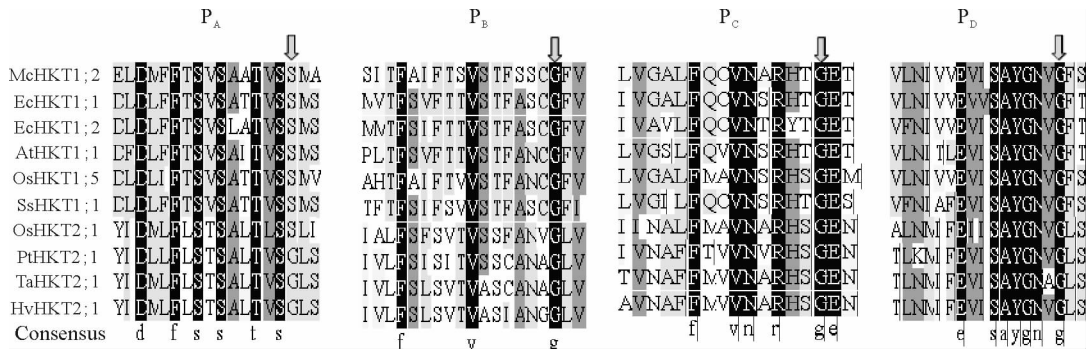


图3 一些高等植物 HKT 的 4 个 P 环保守序列^[34]

Fig. 3 Conservative sequences of four P-loop of higher plants^[34]

注:图中箭头所指的为 P 环中保守的甘氨酸或丝氨酸残基。

Note: Arrows in the figure refers to G or S site.

Rubio 等^[30]认为小麦 *TaHKT2;1* 中存在 1 个高亲和性 K^+ 结合位点和 1 个高亲和性 Na^+ 结合位点, K_m 分别为 3 和 $175 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。为确定这些位点, Diatloff 等^[31]采用定点突变和酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 突变体 (K^+ 吸收缺陷) 异源表达方法, 发现小麦 *TaHKT2;1* 一段 16 个氨基酸保守序列在 Na^+ 转运方面发挥着重要作用。Rubio 等^[32]发现小麦 *TaHKT2;1* 突变体 N365S 通过缓解对高亲和性 K^+ 吸收的抑制、减少低亲和性 Na^+ 吸收, 从而降低酵母体内 Na^+/K^+ , 显著提高盐敏感型酵母 (Na^+ ATPase 缺失) 的耐盐性。Liu 等^[18]对小麦 *TaHKT2;1* 蛋白上可能参与 K^+ 、 Na^+ 选择性吸收相关位点做了进一步研究, 认为跨膜区 3 和 4 之间的高电荷 P 环上可能存在这些位点, 环中片段 L149-E180 缺失后转入酵母中, 提高了酵母体内 K^+/Na^+ , 增强了其耐盐性。Mäser 等^[29]认为植物 HKT 蛋白存在 4 个 P 环, 若第 1 个 P 环中过滤器处为甘氨酸残基, 通常为 K^+ - Na^+ 的共转运蛋白; 若第 1 个 P 环中过滤器处为丝氨酸残基, 通常为 Na^+ 转运蛋白。拟南芥 *AtHKT1;1* 与小麦 *TaHKT2;1* 嵌合体试验表明, 在拟南芥 *AtHKT1;1* 中将 Ser-68 突变为甘氨酸后发现, 增大了 K^+ 的通透性; 在小麦 *TaHKT2;1* 中将 Gly-91 突变为丝氨酸, K^+ 通透性受到抑制。但第 2 类 HKT 蛋白的甘氨酸残基并不是决定 K^+ 选择性吸收的唯一因素, 因为一些第 1 类 HKT 蛋白同样具有 K^+ 转运特性, 且赖氨酸和精氨酸残基对于 K^+ 吸收可能也有作用^[33]。

3 HKT 与植物耐盐性

3.1 小麦 HKT 与其耐盐性 Epstein 等^[35]认

为高等植物中存在两个 K^+ 吸收系统: 1) 当 K^+ 浓度较低时, 主要由 K^+ 载体起作用的高亲和性吸收系统; 2) 当 K^+ 浓度较高时, 主要由 K^+ 通道起作用的低亲和性吸收系统。小麦 *TaHKT2;1* 的发现为此假说提供了直接证据^[11]。Schachtman 和 Schroeder^[11]采用功能互补法, 从小麦幼根 cDNA 文库中筛选到能互补酵母 K^+ 吸收缺陷的 *TaHKT2;1*, 其编码蛋白对几种单价阳离子的选择性顺序为 $K^+ > Cs^+ > Rb^+ > Na^+ > NH_4^+$ 。Gassmann 等^[36]证明 *TaHKT2;1* 属于 K^+ - Na^+ 同向转运蛋白。当 Na^+ 浓度较低时, 介导两种离子吸收; 当 Na^+ 浓度较高、 K^+ 浓度较低时, 介导低亲和性 Na^+ 吸收, K^+ 吸收受到抑制。因此小麦 *TaHKT2;1* 的转运特性与外界离子情况密切相关。

Laurie 等^[37]将反义的 *TaHKT2;1* 转入小麦后发现, 转基因植株内源 *TaHKT2;1* 强烈下调, 在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $NaCl$ 浓度下, 转基因植株 $^{22}Na^+$ 内流明显低于对照组; 在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $NaCl$ 浓度下, 转基因株系根部的 Na^+ 浓度更低, 转基因株系耐盐性提高, 由此认为小麦 *TaHKT2;1* 在整株水平上的生理功能是介导 Na^+ 吸收。

小麦含有 A、B 和 D 三个基因组, 硬粒小麦 (*T. turgidum*) 含有 A 和 B 两个基因组, 前者比后者具有更高的耐盐性, 因此推测小麦基因组 D 中可能含有耐盐性位点^[38-39]。Dubcovsky 等^[39]从小麦 4D 染色体中分离到的 *Knal* 能控制 K^+ 和 Na^+ 向地上部选择性运输, 维持体内高的 K^+/Na^+ , 提高其耐盐性。Munns 等^[40]从硬粒小麦耐盐品系 149 中分离到两个与 Na^+ 外排相关的位点, *Nax1* 和

Nax2。James 等^[41]研究表明,*Nax1* 能够从根木质部和叶鞘中卸载 Na^+ , 防止 Na^+ 在叶片中过度积累,*Nax2* 仅在根部发挥作用。Huang 等^[20] 采用图位克隆法从一粒小麦 (*T. monococcum*) 中分离到两个可能的 Na^+ 转运蛋白基因 *TmHKT1;4-A1* (*TmHKT7-A1*) 和 *TmHKT1;4-A2* (*TmHKT7-A2*), *TmHKT1;4-A2* 主要在根部和叶鞘中表达, 参与 Na^+ 在根部和叶鞘木质部中的卸载, 被认为是 *Nax1* 的候选基因。Byrt 等^[42] 发现 *TmHKT1;5-A* 是 *Nax2* 的候选基因。

3.2 拟南芥 *AtHKT1;1* 与其耐盐性 Uozumi 等^[12] 从拟南芥 (*A. thaliana*) 中克隆到 *AtHKT1;1*, 在非洲爪蟾卵母细胞 (*Xenopus laevis* oocytes) 中表达分析表明, *AtHKT1;1* 为专一的 Na^+ 转运蛋白, 外界 K^+ 浓度不影响其转运特性; 拟南芥 *AtHKT1;1* 在酵母突变体 G19 (Na^+ -extruding ATPase 基因缺失) 中表达后, 发现 G19 对盐更敏感, 但小麦 *TaHKT2;1* 在 G19 中表达后降低了其盐敏感性; *AtHKT1;1* 不能互补酵母突变体 CY162 (缺失 *Trk1* 和 *Trk2*) 的 K^+ 吸收缺陷, 但能使大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 突变体 (无 K^+ 吸收功能, *KAT1* 被点突变) LB2003 在低 K^+ 培养基上生长。

Rus 等^[43] 研究发现, *AtHKT1;1* 的突变 (*athkt1-1*, *athkt1-2*) 能抑制拟南芥 *sos3-1* (salt overly sensitive) 的盐敏感性, *HKT1;1* 的缺失提高了 *sos3-1* 的耐盐性, 而且改善了 *sos3-1* 的缺 K^+ 表型, 双突变体 *sos3-1 hkt1-1* 幼苗的耐盐性提高, 由此认为, *AtHKT1;1* 介导根部 Na^+ 吸收。但 Berthomieu 等^[44] 认为 *AtHKT1;1* 不参与根部 Na^+ 吸收, 因为突变体 *sas2-1* (*AtHKT1;1* 功能缺失) 的 Na^+ 内流比野生型还高 20%。

Munns^[45] 提出假设, 地上部过多的 Na^+ 随韧皮部汁液流转运至根中, 限制过多 Na^+ 在地上部积累对于提高植物耐盐性非常重要。Berthomieu 等^[44] 研究发现, 在盐胁迫下, 突变体 *sas2-1* 韧皮部汁液中 Na^+ 的含量显著降低, Na^+ 在叶中大量积累, 但根中 Na^+ 含量降低, 定位研究表明, *AtHKT1;1* 主要在各器官的韧皮部组织中表达, 由此认为 *AtHKT1;1* 参与 Na^+ 从地上部到根部的长距离运输, 将地上部过多的 Na^+ 装载到韧皮部汁液中, 防止过多 Na^+ 在地上部富集。

生理学研究表明, 无机离子 (如 K^+ 和 Na^+) 被

装载到根木质部中, 在蒸腾拉力作用下向上运输, 之后被转移到叶木质部薄壁细胞中, 接着离子在薄壁细胞中卸载, 经共质体途径进入韧皮部, 重新返回根中^[46-49]。Sunarpi 等^[50] 采用 GUS 染色和免疫定位技术证明, *AtHKT1;1* 主要在木质部薄壁细胞中表达, 在韧皮部组织中仅有少量表达, 因而提出 *AtHKT1;1* 从根木质部汁液中卸载 Na^+ 到周围薄壁细胞中, 防止过多 Na^+ 上运至地上部。Davenport 等^[51] 采用 ^{22}Na 同位素示踪法进行验证表明, *AtHKT1;1* 主要介导 Na^+ 从木质部中的卸载。Møller 等^[52] 将 *AtHKT1;1* 在拟南芥根中柱区域超表达后发现, 与对照相比, 转基因植株地上部 Na^+ 含量下降 37%~64%, 因为 *AtHKT1;1* 将更多的 Na^+ 卸载到木质部薄壁细胞中, 提高了拟南芥的耐盐性。

AtHKT1;1 对木质部 K^+ 没有直接调控作用。一种假设认为, *AtHKT1;1* 将 Na^+ 卸载到木质部周围薄壁细胞中, 随着 Na^+ 不断积累, 引起薄壁细胞质膜去极化, 激活外整流 K^+ 通道蛋白 (KOR) 或非选择性离子外整流通道蛋白 (NOR) 活性, K^+ 被装载到木质部向地上部运输^[34,46,48]。Gaymard 等^[53] 从拟南芥中分离到 K^+ 外整流通道蛋白基因 *AtSKOR*, 异源表达系统结果和突变体 *atskor* 试验显示, *AtSKOR* 介导 K^+ 从木质部薄壁细胞向木质部的装载。

Zhang 等^[54] 研究表明, 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) GB03 能调节 *AtHKT1;1* 在组织中的特异性表达, 提高拟南芥的耐盐性, 在 100 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下, GB03 上调 *AtHKT1;1* 在地上部的表达量, 而根中表达量降低。认为 *AtHKT1;1* 在盐胁迫时根中表达量下调, 可以减少 Na^+ 进入根中, 地上部表达量增加, 可以使更多的 Na^+ 装载到韧皮部中, 随韧皮部汁液运输到根中, 降低 Na^+ 在地上部的积累, 从而提高了耐盐性。

综上所述, 当 *AtHKT1;1* 基因被敲除后, 突变体植株会随着 Na^+ 含量的不断升高出现生长缓慢, 地上部严重萎黄^[29,44,50,55-57], 说明 *AtHKT1;1* 在维持拟南芥体内 K^+ 和 Na^+ 稳态平衡中发挥重要作用。

3.3 水稻 *OsHKT* 与其耐盐性 Horie 等^[14] 在水稻中克隆到 *OsHKT2;1*, 在爪蟾卵母细胞和酵母中表达分析表明, *OsHKT2;1* 对 Na^+ 有强选择性^[14,24-25], 但也介导 K^+ 的转运^[58-59], 不能互补低

K⁺条件下酵母突变体的K⁺吸收功能缺陷。

Horie等^[4]研究发现,在缺钾和低盐条件下,突变体 *oshkt2;1* 与野生型相比,*oshkt2;1* 大大降低了根部Na⁺内流。进一步研究发现,*OsHKT2;1* 主要在根部皮层和内皮层表达,因此认为 *OsHKT2;1* 可以介导根部有益Na⁺吸收,部分行使K⁺功能,减缓缺K⁺对植株的伤害。

Horie等^[14]在耐盐品种 Pokkali 中分离到 *OsHKT2;2*, 其与小麦和大麦 *HKT2;1* 亲缘关系相近^[19], 为Na⁺-K⁺共转运蛋白,能互补低K⁺条件下酵母突变体的K⁺吸收功能缺陷,表达模式与 *OsHKT2;1* 相似,其表达受K⁺饥饿诱导。Kader等^[60]研究表明,在150 mmol·L⁻¹盐处理下,*OsHKT2;2* 转录水平上调,且在叶韧皮部中表达。但 Garcíadeblás等^[25]认为,在水稻品种日本晴和 Pokkali 中,*OsHKT2;2* 都是假基因。

Ren等^[28]从水稻中分离出与耐盐相关的遗传位点 *SKCl* (Shoot K⁺ Content), 候选基因为 *OsHKT1;5*。在爪蟾卵母细胞中表达分析表明,*OsHKT1;5* 为Na⁺转运蛋白,主要在木质部薄壁细胞中表达。在盐处理条件下,根中表达量显著高于地上部,且随着胁迫时间的延长,根中 *OsHKT1;5* 表达量上调,而地上部变化不大。*OsHKT1;5* 可以将过多的Na⁺从木质部中卸载到周围薄壁细胞中,降低木质部汁液中Na⁺含量,防止向地上部转运,间接使得K⁺向地上部运输,从而提高地上部的K⁺/Na⁺,在Na⁺长距离运输过程中发挥重要作用^[61-62]。

3.4 其他植物 HKT 与其耐盐性 Fairbairn等^[13]从桉树中分离到 *EcHKT1;1* 和 *EcHKT1;2*, 它们编码的蛋白都能互补大肠杆菌突变体 *TK2463* 在缺K⁺条件下的K⁺吸收功能缺陷,在爪蟾卵母细胞中介导K⁺和Na⁺共转运。由于HKT蛋白对TEA⁺和Cs⁺不敏感,但对Ba²⁺非常敏感^[13,25,63], Wang等^[64]研究发现,在25 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,Ba²⁺显著降低海滨碱蓬(*S. maritima*)根部Na⁺净吸收和²²Na⁺内流,而TEA⁺和Cs⁺对其没有影响,因此推测HKT蛋白可能介导海滨碱蓬在低盐浓度下低亲和性Na⁺吸收。Shao等^[16]从盐地碱蓬中克隆到 *SsHKT1;1*, 其表达受K⁺饥饿和盐胁迫诱导,主要在叶中表达,根中表达量相对较少,可能参与盐地碱蓬体内离子稳态平衡,对其耐盐性有重

要作用。Chen等^[65]将大豆(*Glycine max*) *GmHKT1;1* 在烟草(*Nicotiana tabacum*)中超表达后发现,*GmHKT1;1* 可以调节转基因植株根和叶的K⁺、Na⁺转运,对离子稳态平衡有重要影响,提高了烟草的耐盐性。Su等^[15]从冰叶日中花中克隆到 *McHKT1;1*, 其编码蛋白在酵母中为K⁺转运蛋白,在爪蟾卵母细胞中对离子的选择性为Rb⁺>Cs⁺>(K⁺=Na⁺=Li⁺)。大麦 *HvHKT2;1* 与 *HvHKT2;2* 都参与植株体内离子稳态平衡,与其耐盐性也有重要关系^[66-68]。耐盐型芦苇(*Phragmites australis*)与盐敏感型芦苇相比,能维持体内更低的Na⁺和更高的K⁺含量^[69]。Takahashi等^[70]从芦苇中克隆到 *PhaHKT2;1-n*, *PhaHKT2;1-e* 和 *PhaHKT2;1-u*, 它们可能对维持芦苇体内离子稳态平衡有重要影响。

4 展望

土壤盐渍化危害作物生长,影响粮食产量。基于工程技术和分子育种对解决这一难题有重要帮助。HKT蛋白是一种与植物耐盐性密切相关的Na⁺或K⁺-Na⁺转运蛋白,能将植物木质部中过多的Na⁺卸载到其周围薄壁细胞中,降低地上部Na⁺含量,并维持体内K⁺稳态平衡。基于目前的研究现状,今后对HKT蛋白的研究应放在以下几点:1) 通过比较甜土植物和盐生植物的差异,探求盐生植物耐盐的分子机理,发掘更多的HKT基因;2) 利用分子生物学技术,进一步确认HKT蛋白参与耐盐的分子机制;3) 采用基因工程手段,将筛选得到的HKT基因转入到作物中,培育新的转基因耐盐品种,对于增强盐渍生境下的粮食产量将具有重要的促进作用。

参考文献

- [1] Horie T, Hauser F, Schroeder J I. HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in Arabidopsis and monocot crop plants[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(12): 660-668.
- [2] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 2000, 51: 463-499.
- [3] 张宏飞, 王锁民. 高等植物Na⁺吸收、转运及细胞内Na⁺稳态平衡研究进展[J]. 植物学通报, 2007, 24(5): 561-571.

- [4] Horie T, Costa A, Kim T H, *et al.* Rice OsHKT2; 1 transporter mediates large Na⁺ influx component into K⁺-starved roots for growth [J]. EMBO Journal, 2007, 26: 3003-3014.
- [5] 李三相, 周向睿, 王锁民. Na⁺ 在植物中的有益作用 [J]. 中国沙漠, 2008, 28(3): 485-490.
- [6] 马清, 楼洁琼, 王锁民. Na⁺ 对渗透胁迫下霸王幼苗光合特性的影响 [J]. 草业学报, 2010, 19(3): 198-203.
- [7] Rains D W, Epstein E. Sodium absorption by barley roots, its mediation by mechanism 2 of alkali cation transport [J]. Plant Physiology, 1967, 42(3): 319-323.
- [8] Flowers T J, Läuchli A. Sodium versus potassium, substitution and compartmentation [A]. In: Läuchli A, Bielecki R L. Inorganic Plant Nutrition [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1983: 651-681.
- [9] 陈敏, 彭建云, 王宝山. 整株水平上 Na⁺ 转运体与植物的抗盐性 [J]. 植物学通报, 2008, 25(4): 381-391.
- [10] Tyerman S D, Skerrett M, Garrill A, *et al.* Pathways for the permeation of Na⁺ and Cl⁻ into protoplasts derived from the cortex of wheat root [J]. Journal of Experimental Botany, 1997, 48: 459-480.
- [11] Schachtman D P, Schroeder J I. Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants [J]. Nature, 1994, 370: 655-658.
- [12] Uozumi N, Kim E J, Rubio F, *et al.* The *Arabidopsis* HKT1 gene homolog mediates inward Na⁺ currents in *Xenopus laevis* oocytes and Na⁺ uptake in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Plant Physiology, 2000, 122(4): 1249-1260.
- [13] Fairbairn D J, Liu W, Schachtman D P, *et al.* Characterisation of two distinct HKT1-like potassium transporters from *Eucalyptus camaldulensis* [J]. Plant Molecular Biology, 2000, 43(4): 515-525.
- [14] Horie T, Yoshida K, Nakayama H, *et al.* Two types of HKT transporters with different properties of Na⁺ and K⁺ transport in *Oryza sativa* [J]. Plant Journal, 2001, 27(2): 129-138.
- [15] Su H, Balderas E, Vera-Estrella R, *et al.* Expression of the cation transporter McHKT1 in a halophyte [J]. Plant Molecular Biology, 2003, 52(5): 967-980.
- [16] Shao Q, Zhao C, Han N, *et al.* Cloning and expression pattern of *SsHKT1* encoding a putative cation transporter from halophyte *Suaeda salsa* [J]. DNA Sequence, 2008, 19(2): 106-114.
- [17] Durell S R, Guy H R. Structural models of the KtrB, TrkH, and Trk1,2 symporters based on the structure of the KcsA K⁺ channel [J]. Biophysical Journal, 1999, 77(2): 789-807.
- [18] Liu W, Schachtman D P, Zhang W. Partial deletion of a loop region in the high affinity K⁺ transporter HKT1 changes ionic permeability leading to increased salt tolerance [J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(36): 27924-27932.
- [19] Platten J D, Cotsaftis O, Berthomieu P, *et al.* Nomenclature for HKT transporter, key determinants of plant salinity tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2006, 11(8): 372-374.
- [20] Huang S, Spielmeier W, Lagudah E S, *et al.* A sodium transporter (HKT7) is a candidate for *Nax1*, a gene for salt tolerance in durum wheat [J]. Plant Physiology, 2006, 142: 1718-1727.
- [21] 邵群, 丁同楼, 韩宁, 等. 高亲和 K⁺ 转运蛋白 (HKT) 与植物抗盐性 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 175-181.
- [22] 林婵娟, 许海霞, 赵一丹, 等. 植物 HKT 转运蛋白研究进展 [J]. 分子植物育种, 2008, 6(6): 1153-1159.
- [23] Zhang J L, Flowers T J, Wang S M. Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plant [J]. Plant and Soil, 2010, 326: 45-60.
- [24] Ardie S W, Xie L, Takahashi R, Liu S, *et al.* Cloning of a high-affinity K⁺ transporter gene *PutHKT2; 1* from *Puccinellia tenuiflora* and its functional comparison with *OsHKT2; 1* from rice in yeast and *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(12): 3491-3502.
- [25] Garcíadeblás B, Senn M E, Bañuelos M A, *et al.* Sodium transport and HKT transporters: the rice model [J]. Plant Journal, 2003, 34(6): 788-801.
- [26] Durell S R, Hao Y, Nakamura T, *et al.* Evolutionary relationship between K⁺ channels and symporters [J]. Biophysical Journal, 1999, 77(2): 775-788.
- [27] Kato Y, Sakaguchi M, Mori Y, *et al.* Evidence in support of a four transmembrane-pore-transmembrane topology model for the *Arabidopsis thaliana* Na⁺/K⁺ translocating AtHKT1 protein, a member of the superfamily of K⁺ transporters [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2001, 98(11): 6488-6493.
- [28] Ren Z H, Gao J P, Li L G, *et al.* A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter [J]. Nature Genetics, 2005, 37(10): 1141-1146.

- [29] Mäser P, Hosoo Y, Goshima S, *et al.* Glycine residues in potassium channel-like selectivity filters determine potassium selectivity in four-loop-per-subunit HKT transporters from plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2002, 99(9): 6428-6433.
- [30] Rubio F, Gassmann W, Schroeder J I. Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance[J]. Science, 1995, 270(5242): 1660-1663.
- [31] Diatloff E, Kumar R, Schachtman D P. Site directed mutagenesis reduces the Na⁺ affinity of HKT1, an Na⁺ energized high affinity K⁺ transporter[J]. Federation of European Biochemical Societies Letters, 1998, 432(1): 31-36.
- [32] Rubio F, Schwarz M, Gassmann W, *et al.* Genetic selection of mutations in the high affinity K⁺ transporter HKT1 that define functions of a loop site for reduced Na⁺ permeability and increased Na⁺ tolerance [J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(11): 6839-6847.
- [33] Kato N, Akai M, Zulkifli L, *et al.* Role of positively charged amino acids in the M2D transmembrane helix of ktr/Trk/HKT type cation transporters[J]. Channels, 2007, 1: 161-171.
- [34] Hauser F, Horie T. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K⁺/Na⁺ ratio in leaves during salinity stress [J]. Plant Cell and Environment, 2010, 33(4): 552-565.
- [35] Epstein E, Rains D W, Elzam O E. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1963, 49(5): 684-692.
- [36] Gassmann W, Rubio F, Schroeder J I. Alkali cation selectivity of the wheat root high-affinity potassium transporter HKT1[J]. Plant Journal, 1996, 10(5): 869-882.
- [37] Laurie S, Feeney K A, Maathuis F J, *et al.* A role for HKT1 in sodium uptake by wheat roots[J]. Plant Journal, 2002, 32(2): 139-149.
- [38] Gorham J, Wyn Jones R G, Bristol A. Partial characterization of the trait for enhanced K⁺-Na⁺ discrimination in the D genome of wheat[J]. Planta, 1990, 180: 590-597.
- [39] Dubcovsky J, Santa Maria G, Epstein E, *et al.* Mapping of the K⁺/Na⁺ discrimination locus *Kna1* in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92(3/4): 448-454.
- [40] Munns R, Rebetzke G J, Husain S, *et al.* Genetic control of sodium exclusion in durum wheat[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2003, 54(7): 627-635.
- [41] James R A, Davenport R J, Munns R. Physiological characterisation of two genes for Na⁺ exclusion in durum wheat; *Nax1* and *Nax2* [J]. Plant Physiology, 2006, 142: 1537-1547.
- [42] Byrt C S, Platten J D, Spielmeyer W, *et al.* HKT1;5-like cation transporters linked to Na⁺ exclusion loci in wheat, *Nax2* and *Kna1* [J]. Plant Physiology, 2007, 143: 1918-1928.
- [43] Rus A, Yokoi S, Sharkhuu A, *et al.* AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls Na⁺ entry into plant roots[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2001, 98(24): 14150-14155.
- [44] Berthomieu P, Conéjéro G, Nublat A, *et al.* Functional analysis of *AtHKT1* in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance[J]. EMBO Journal, 2003, 22(9): 2004-2014.
- [45] Munns R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. Plant Cell and Environment, 2002, 25(2): 239-250.
- [46] Wegner L H, Raschke K. Ion channels in the xylem parenchyma of barley roots. A procedure to isolate protoplasts from this tissue and a patch-clamp exploration of salt passageways into xylem vessels [J]. Plant Physiology, 1994, 105(3): 799-813.
- [47] Lacan D, Durand M. Na⁺-K⁺ exchange at the xylem/symplast boundary (Its significance in the salt sensitivity of soybean) [J]. Plant Physiology, 1996, 110(2): 705-711.
- [48] Wegner L H, De Boer A. Properties of two outward-rectifying channels in root xylem parenchyma cells suggest a role in K⁺ homeostasis and long-distance signaling[J]. Plant Physiology, 1997, 115(4): 1707-1719.
- [49] De Boer A, Volkov V. Logistics of water and salt transport through the plant; Structure and functioning of the xylem[J]. Plant Cell and Environment, 2003, 26(1): 87-101.
- [50] Sunarpi, Horie T, Motoda J, *et al.* Enhanced salt tol-

- erance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na⁺ unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells[J]. *Plant Journal*, 2005, 44(6):928-938.
- [51] Davenport R J, Muñoz-Mayor A, Jha D, *et al.* The Na⁺ transporter *AtHKT1*; 1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell and Environment*, 2007, 30(4):497-507.
- [52] Møller I S, Gilligham M, Jha D, *et al.* Shoot Na⁺ exclusion and increased salinity tolerance engineered by cell type-specific alteration of Na⁺ transport in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(7):2163-2178.
- [53] Gaymard F, Pilot G, Lacombe B, *et al.* Identification and disruption of a plant shaker-like outward channel involved in K⁺ release into the xylem sap [J]. *Cell*, 1998, 94(5):647-655.
- [54] Zhang H M, Kim M S, Sun Y, *et al.* Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1 [J]. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 2008, 21(6):737-744.
- [55] Gong J M, Waner D A, Horie T, *et al.* Microarray-based rapid cloning of an ion accumulation deletion mutant in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2004, 101(43):15404-15409.
- [56] Horie T, Horie R, Chan W Y, *et al.* Calcium regulation of sodium hypersensitivities of *sos3* and *athkt1* mutants [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(5):622-633.
- [57] Corratgé-Faillie C, Jabnourne M, Zimmermann S, *et al.* Potassium and sodium transport in non-animal cell: the Trk/Ktr/HKT transporter family [J]. *Cellular and Molecular Life Science*, 2010, 67:2511-2532.
- [58] Golldack D, Su H, Quigley F, *et al.* Characterization of a HKT-type transporter in rice as a general alkali cation transporter [J]. *Plant Journal*, 2002, 31(4):529-542.
- [59] Jabnourne M, Espeout S, Mieulet D, *et al.* Diversity in expression patterns and functional properties in the rice HKT transporter family [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150:1955-1971.
- [60] Kader M A, Seidel T, Golldack D, *et al.* Expression of *OsHKT1*, *OsHKT2*, and *OsVHA* are differentially regulated under NaCl stress in salt-sensitive and salt-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(15):4257-4268.
- [61] Lin H X, Zhu M Z, Yano M, *et al.* QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108:253-260.
- [62] Cotsaftis O, Plett D, Johnson A A, *et al.* Root-specific transcript profiling of contrasting rice genotypes in response to salinity stress [J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(1):25-41.
- [63] Liu W, Fairbairn D J, Reid R J, *et al.* Characterization of two HKT1 homologues from *Eucalyptus camaldulensis* that display intrinsic osmosensing capability [J]. *Plant Physiology*, 2001, 127:283-294.
- [64] Wang S M, Zhang J L, Flowers T J. Low-affinity Na⁺ uptake in the halophyte *Suaeda maritima* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145:559-571.
- [65] Chen H, He H, Yu D. Overexpression of a novel soybean gene modulating Na⁺ and K⁺ transport enhances salt tolerance in transgenic tobacco plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2011, 141:11-18.
- [66] Wang T B, Gassmann W, Rubio F, *et al.* Rapid up-regulation of *HKT1*, a high-affinity potassium transporter gene, in roots of barley and wheat following withdrawal of potassium [J]. *Plant Physiology*, 1998, 118:651-659.
- [67] Huang S, Spielmeyer W, Lagudah E S, *et al.* Comparative mapping of *HKT* genes in wheat, barley, and rice, key determinants of Na⁺ transport, and salt tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(4):927-937.
- [68] Qiu L, Wu D, Ali S, *et al.* Evaluation of salinity tolerance and analysis of allelic function of *HvHKT1* and *HvHKT2* in Tibetan wild barley [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122:695-703.
- [69] Takahashi R, Nishio T, Ichizen N, *et al.* Salt-tolerant reed plants contain lower Na⁺ and higher K⁺ than salt-sensitive reed plants [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2007, 29(5):431-438.
- [70] Takahashi R, Liu S, Takano T. Cloning and functional comparison of a high-affinity K⁺ transporter gene *PhaHKT1* of salt-tolerant and salt-sensitive reed plants [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 8(15/16):4387-4395.

HKT transporters and their involvement in plant salt tolerance

ZHAO Chang-yu, LI Jian, ZHANG Jin-lin, WANG Suo-min

(State Key Laboratory of Agro-ecosystems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology,
Lanzhou University, Lanzhou 730020, China)

Abstract: Salinity stress is one of the major factors influencing plant growth, during the long-term natural selection. Plants have formed various mechanisms to cope with salinity stress. High-affinity K^+ transporters (HKT) widely exist in plants. They might make a significant contribution to Na^+ recycle in higher plants and play an important role in maintaining lower Na^+ concentration, higher K^+/Na^+ ratio in higher plant, especially in leaves. Subjects regarding molecular feature, structure and function of HKT transporter, and its relationship with plant salt tolerance are summarized in this review.

Key words: HKT transporters; structure and function; K^+/Na^+ ratio; salinity stress; salt tolerance

Corresponding author: WANG Suo-min E-mail: smwang@lzu.edu.cn

- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
- 中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
- 中国学术期刊网(光盘版)收录期刊
- 龙源期刊网全文数据库收录
- 维普资讯网全文数据库收录
- 万方数据库全文数据库收录

欢迎订阅 2013 年《农民致富之友》杂志 三农新视野 科技百事通

《农民致富之友》杂志创刊于 1959 年,是经国家新闻出版总署批准,由黑龙江省农业委员会主管,黑龙江省农业系统宣传中心主办,国内外公开发行。曾用刊名:《人民公社建设》,《黑龙江农业》。

本刊旨在宣传党的政策,宣传农村改革,指导农村基层工作,为发展农村商品经济,为农民致富,为实现农业现代化服务。

国际标准刊号 ISSN 1003-1650, 国内统一刊号 CN 23-1009/F。

本刊面向企事业单位、科研院所相关专业的科技人员、管理人员和高校师生,为农业、林业、畜牧业研究和教学助力。欢迎订阅、投稿。

《农民致富之友》本刊为半月刊,16 开,逢每月 1 日,15 日出版,国内外公开发行,订阅量达 20 万,每期定价 20.00 元,全年 24 期共 480 元。欢迎读者到当地邮局订阅,邮发代号 14-72,也可与本杂志社直接联系,办理订阅手续。

地址:北京邮政 100074—18 信箱《农民致富之友》杂志社 邮编:100074

编辑部电话:(010)52895552

广告部电话:(010)52895552

理事会秘书处:(010)81580749

传真:(010)81580749

网址:www.nmzfzy.net

电子邮箱:nmzfzy@vip.163.com