

## 不同耐盐性小麦根Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>的吸收特性

丁同楼, 贾玉辉, 鲍敬, 王宝山\*

山东师范大学生命科学学院, 逆境植物重点实验室, 济南250014

**摘要:** 以耐盐小麦品种‘德抗961’和盐敏感小麦品种‘鲁麦15’为材料, 研究小麦根Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>吸收特性及其与耐盐性关系。结果表明, 2个小麦品种根K<sup>+</sup>吸收动力学曲线均符合Michaelis-Menten方程, 即 $V=V_{\max} \times [S]/([S]+K_m)+k \times [S]$ 。低浓度(低于25 mmol·L<sup>-1</sup>) NaCl处理对根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统转运K<sup>+</sup>具有促进作用, 对耐盐品种‘德抗961’的促进作用更大。小麦根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统是通过K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>同向转运, 而不是K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>同向转运。NaCl处理对根低亲和K<sup>+</sup>吸收系统有抑制作用, 对盐敏感品种‘鲁麦15’的抑制作用更大。NaCl处理导致2个小麦品种根和叶片中的K<sup>+</sup>含量显著下降, Na<sup>+</sup>含量显著升高, 但‘德抗961’根和叶片中的K<sup>+</sup>含量均显著高于‘鲁麦15’, ‘德抗961’根中Na<sup>+</sup>含量显著高于‘鲁麦15’, 而其叶片中Na<sup>+</sup>含量显著低于‘鲁麦15’, 从而保证NaCl胁迫下其叶片较高的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比。非选择性阳离子通道是小麦根Na<sup>+</sup>吸收的主要途径, K<sup>+</sup>通道是Na<sup>+</sup>吸收的一条重要途径。这些结果表明小麦部分通过调节根系K<sup>+</sup>吸收系统而维持叶片较高的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比, 从而提高其耐盐性。

**关键词:** 小麦; NaCl胁迫; 根Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>吸收; 耐盐性

## Characteristics of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Uptake in Roots of Different Salt-Tolerant Wheat Cultivars

DING Tong-Lou, JIA Yu-Hui, BAO Jing, WANG Bao-Shan\*

Key Lab of Plant Stress Research, College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

**Abstract:** Salt-tolerant wheat cultivar ‘DK961’ and salt-sensitive wheat cultivar ‘LM15’ were used to investigate the characteristics of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> uptake and correlation with salt tolerance. Results showed that K<sup>+</sup> uptake kinetics of roots was fitted to the Michaelis-Menten equation, namely  $V=V_{\max} \times [S]/([S]+K_m)+k \times [S]$ , for both cultivars. Low concentration NaCl (<25 mmol·L<sup>-1</sup>) treatment significantly enhanced high-affinity K<sup>+</sup> uptake system, and the effects on ‘DK961’ was stronger than that on ‘LM15’. High-affinity K<sup>+</sup> uptake of wheat roots possibly is driven by K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> symporter instead of K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> symporter. NaCl treatment inhibited low-affinity K<sup>+</sup> uptake system, and the effects on ‘LM15’ was stronger than that on ‘DK961’. The K<sup>+</sup> content in roots and leaves significantly decreased in response to NaCl stress, while the Na<sup>+</sup> content significantly increased under NaCl stress. Under NaCl stress, K<sup>+</sup> content in roots and leaves of ‘DK961’ was significantly higher than that of ‘LM15’, and the Na<sup>+</sup> content of roots in ‘DK961’ was significantly higher than that in ‘LM15’. However, leaf Na<sup>+</sup> content of ‘DK961’ was significantly lower than that of ‘LM15’ under NaCl stress. Therefore, K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio in leaves of ‘DK961’ was higher than that in ‘LM15’ in response to NaCl stress. NSCCs (non-selective cation channels) are the main pathways for Na<sup>+</sup> uptake, and K<sup>+</sup> channels mediate Na<sup>+</sup> uptake. These results suggested that wheat enhanced salt tolerance partly via regulating root K<sup>+</sup> uptake system contributed to high K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio of leaves.

**Key words:** wheat; NaCl stress; Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> uptake of root; salt tolerance

世界上超过6%的可耕地受到盐渍化影响, 不合理灌溉和开垦造成了大量良田的次生盐渍化(Munns 2005)。小麦是目前盐碱地种植的主要经济作物之一, 是中等耐盐作物, 当土壤NaCl浓度达到100 mmol·L<sup>-1</sup>时, 小麦虽然能够完成生活史, 但产量显著下降。这主要是由于NaCl胁迫引起的渗透胁迫、离子胁迫和矿质元素缺乏导致的(Munns等2006)。

K<sup>+</sup>是植物所必需的三大营养元素之一, 在细胞的生长及代谢中发挥重要作用, 参与许多生理过程(例如, 酶活性调节、蛋白质合成和渗透调节

收稿 2012-10-15 修定 2012-11-16

资助 国家自然科学基金(30270793)和国家支撑计划项目(2009BADA7B05)。

\* 通讯作者 (E-mail: bswang@sdu.edu.cn; Tel: 0531-86180197)。

等) (Golldack等2003)。近年来关于盐胁迫对植物体内离子积累和转运的机制研究成为国内外研究的热点问题(李青松等2010)。作物的耐盐能力与其对盐离子的吸收、运输和积累调控能力有关(鄂志国和张丽靖2010)。高等非盐生植物在低浓度盐胁迫(10~50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl)下, K<sup>+</sup>吸收减少而Na<sup>+</sup>吸收增加, 组织中K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比明显下降, 以致生长受到抑制(Botella等1997)。质膜上存在2个高亲和K<sup>+</sup>运输体家族: KUP-HAK (K<sup>+</sup> uptake transporter-high affinity K<sup>+</sup> transporter)和HKT-TRK (high-affinity K<sup>+</sup> transporter tropomyosin-related kinase) (White 1999)。在大麦中发现的HvHAK1是首次在高等植物中发现的KUP/HAK/KT家族基因编码的运输体, HvHAK1不仅能调控高亲合的K<sup>+</sup>吸收, 也能调节低亲合的Na<sup>+</sup>吸收(吴延寿等2010)。HAK运输体为K<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>共转运并有较高的K<sup>+</sup>选择性, Na<sup>+</sup>可在毫摩尔浓度范围内竞争性阻碍HAK运输体。首个高等植物HKT家族基因(*TaHKT2;1*)是在小麦中被发现的, 在异源系统中被验证为K<sup>+</sup>高亲合转运蛋白, 其转运机制是K<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>共转运, 在根系和叶片中均有表达。后通过异源表达系统的研究证实TaHKT2;1在盐胁迫下是一个K<sup>+</sup>-Na<sup>+</sup>共转运蛋白, 1 μmol·L<sup>-1</sup>级的Na<sup>+</sup>就能够促进高亲合K<sup>+</sup>吸收, 反之亦然(吴延寿等2010)。已确定的低亲和K<sup>+</sup>转运体大致可分为5种类型: (1)内向整流K<sup>+</sup>通道(K<sup>+</sup> inwardly rectifying channels, KIRCs)和外向整流K<sup>+</sup>通道(K<sup>+</sup> outwardly rectifying channels, KORCs); (2)电压不依赖性阳离子通道(voltage independent channels, VICs); (3)微弱电压依赖性K<sup>+</sup>通道(weak voltage-dependent K<sup>+</sup> channels, WDKC); (4)张力激活K<sup>+</sup>通道(stretch-activated K<sup>+</sup> channels, SAS); (5)非选择性阳离子通道(non-selective cation channels, NSCC) (Demidchik和Tester 2002; Shabala 2003)。到目前为止, 还没有发现Na<sup>+</sup>的专一性转运体和通道。

NaCl胁迫引起质膜去极化, 激活外向K<sup>+</sup>整合通道, 导致K<sup>+</sup>外流。植物根保留K<sup>+</sup>能力与耐盐性密切相关, 但是, 更重要的是叶片的K<sup>+</sup>含量(Shabala 2003; Chen等2005; Cuin等2008)。NaCl胁迫诱导的K<sup>+</sup>外流与盐胁迫下的渗透组分无关, K<sup>+</sup>通道抑制剂TEA<sup>+</sup> (tetraethylammonium)能够抑制K<sup>+</sup>外流, K<sup>+</sup>外流导致细胞质的K<sup>+</sup>含量显著下降(Chen等

2005)。Cuin等(2008)在小麦上的研究表明, 80 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫1 h后的K<sup>+</sup>离子流速与各项生理指标之间也存在显著的相关性。

小麦是一种拒盐作物, ‘德抗961’的拒Na<sup>+</sup>主要部位是根部, 而‘鲁麦15’的拒Na<sup>+</sup>主要部位是根茎结合部(杨洪兵等2001)。“德抗961”叶鞘具有更强的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>选择吸收、限制Na<sup>+</sup>、促进K<sup>+</sup>向叶片运输的能力, 从而保持叶片相对较高的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比(Ding等2006)。不同耐盐性小麦品种根的Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>吸收特性及其与耐盐性的关系尚无系统研究。本文探讨不同耐盐性小麦品种根Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>吸收特性及其与盐胁迫下叶片K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比的关系, 为研究小麦耐盐机理及培育耐性小麦新品种提供依据。

## 材料与方法

### 1 材料

小麦(*Triticum aestivum* L.)品种‘德抗961’ (耐盐品种, 简称‘DK961’)和‘鲁麦15’ (盐敏感品种, 简称‘LM15’)。

### 2 幼苗培养

挑选籽粒饱满一致的小麦种子经0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒10 min, 用水冲洗3次, 流水浸泡24 h。于沙网上进行水培, 每天更换一次培养液(0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>溶液), 用通气泵通气, 温室温度为28 °C/20 °C, 光照时间16 h白天/8 h黑夜, 光强为300 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 相对湿度为60%~70%。根据不同实验要求确定培养时间, 取根用于以下有关指标分析。

### 3 K<sup>+</sup>吸收动力学参数的测定

参考乙引和汤章城(1996)、Davenport和Tester (2000)的方法并加以修改。K<sup>+</sup>吸收测定: (1)正常生境下K<sup>+</sup>吸收的测定, 用0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>溶液培养6 d。从距离种子2 cm处剪成2 cm长的小根段, 称取1 g, 用双蒸水冲洗, 将根段转移到0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>和200 mmol·L<sup>-1</sup>山梨醇溶液中通气3 h。然后将根转移到盛有不同K<sup>+</sup>浓度(0.01、0.1、0.4、0.7、1、2、4、6、8和10 mmol·L<sup>-1</sup>)的锥形瓶(250 mL吸收液)中30 min, 测量锥形瓶中的K<sup>+</sup>浓度, 计算K<sup>+</sup>减少量, 用吸水纸将根吸干, 烘箱烘至恒重后, 称根干重, 根据吸收液K<sup>+</sup>浓度计算K<sup>+</sup>吸收速率, 利用Sigmaplot 10.0软件作图得到K<sup>+</sup>吸收动力学参数。(2)低浓度NaCl处理条件下K<sup>+</sup>吸收的测定, 0.5

mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>溶液培养4 d, 然后分别转移到1、15、25和35 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl的锥形瓶中处理48 h。从距离种子2 cm处剪成2 cm长的小根段, 称取1 g。将根段转移到0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>和200 mmol·L<sup>-1</sup> 山梨醇溶液中通气3 h。用双蒸水冲洗, 然后转移到分别盛有不同K<sup>+</sup>浓度(0.01、0.1、0.4、0.7、1、2、4、6、8和10 mmol·L<sup>-1</sup>)的锥形瓶(250 mL吸收液)中30 min, 同上得到K<sup>+</sup>吸收动力学参数。

#### 4 K<sup>+</sup>转运体和通道抑制剂对Na<sup>+</sup>积累的影响

‘DK961’种子萌发后, 用0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>溶液水培6 d, 3 mmol·L<sup>-1</sup> NEM (N-ethylmaleimide, 高亲和K<sup>+</sup>转运体抑制剂)预处理30 min, 然后转移到含有抑制剂的不同浓度KCl溶液(0.1、0.4和0.7 mmol·L<sup>-1</sup> KCl, 培养介质中均含有0.4 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl)中2.5 h, 用双蒸水冲洗根, 用吸水纸将根吸干, 从距离种子2 cm处剪成2 cm长的小根段, 称取0.25 g, 烘箱烘至恒重后, 称根干重, 灰化定溶后测定根中的Na<sup>+</sup>含量。

‘DK961’种子萌发后, 用0.5 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>溶液水培6 d, 6 mmol·L<sup>-1</sup> TEA<sup>+</sup> (K<sup>+</sup>通道抑制剂)、2.5 mmol·L<sup>-1</sup> Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Ba<sup>2+</sup>是非选择性阳离子通道抑制剂)、6 mmol·L<sup>-1</sup> TEA<sup>+</sup>+2.5 mmol·L<sup>-1</sup> Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>预处理30 min, 然后转移到含有抑制剂的不同浓度NaCl溶液(15、25和35 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 培养介质中均含有6 mmol·L<sup>-1</sup> KCl)中2.5 h, 用双蒸水冲洗根, 用吸水纸将根吸干, 从距离种子2 cm处剪成2 cm长的小根段, 称取0.25 g, 烘箱烘至恒重后, 称根干重, 灰化定溶后测定根中的Na<sup>+</sup>含量。

#### 5 根质子分泌速率测定

将溶液培养的根小心平压入琼脂粉培养基中, 其组成为: 0.75% (W/V)琼脂, 0.006% (W/V)溴甲酚紫, 1 mmol·L<sup>-1</sup> CaSO<sub>4</sub>和2.5 mmol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 5.6。25 °C黑暗中培养5 h。溴甲酚紫的变色范围是5.2~6.0。当根系分泌质子后, 培养基的pH值下降, 当小于5.2时, 培养基就变成黄色。用0.1 μmol·L<sup>-1</sup> NaOH溶液滴定, 直到黄色消失, 计算NaOH用量, 计算H<sup>+</sup>分泌速率。

#### 6 Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>含量的测定

按照王宝山和赵可夫(1995)的方法, 分别称取不同处理的小麦根和叶干材料各0.25 g, 置于用双蒸水洗净的坩埚中, 于马弗炉中500 °C灰化24 h后,

用少许浓硝酸溶解, 双蒸水定容至100 mL, 用火焰光度计(Sherwood, Flame photometer 410, 英国)测定Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>浓度。

## 实验结果

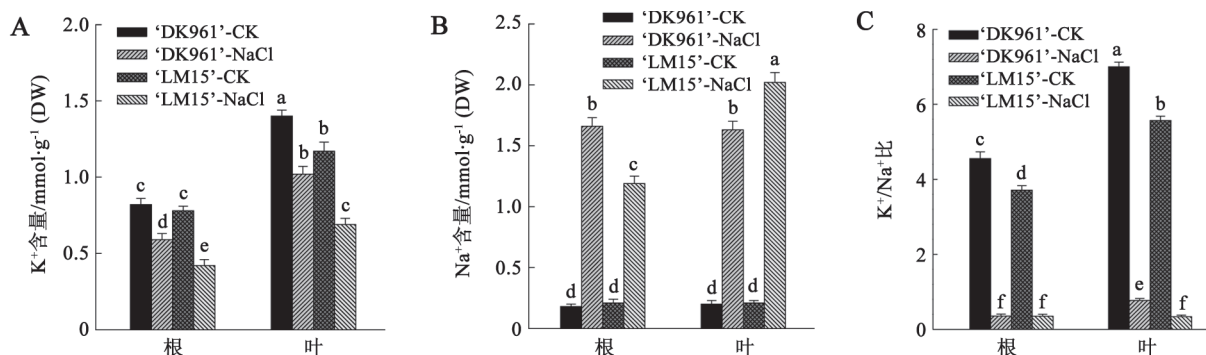
### 1 NaCl处理对小麦根和叶片中K<sup>+</sup>含量、Na<sup>+</sup>含量和K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比的影响

由图1可见, NaCl胁迫下, 2个小麦品种根和叶片中的K<sup>+</sup>含量均显著下降, 但‘DK961’根和叶片中的K<sup>+</sup>含量均显著高于‘LM15’ (图1-A)。NaCl胁迫下, 2个小麦品种根和叶片中的Na<sup>+</sup>含量均显著升高, ‘DK961’根中的Na<sup>+</sup>含量显著高于‘LM15’, 而‘DK961’叶片中Na<sup>+</sup>含量显著低于‘LM15’ (图1-B)。结果表明, NaCl胁迫下, 与‘LM15’相比, ‘DK961’能够在根中积累较多的Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>, 一方面限制Na<sup>+</sup>向地上部分运输, 另一方面, 促进K<sup>+</sup>向地上部分运输, 从而保证NaCl胁迫下叶片较高的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比(图1-C), 这可能是‘DK961’耐盐性强的主要原因。

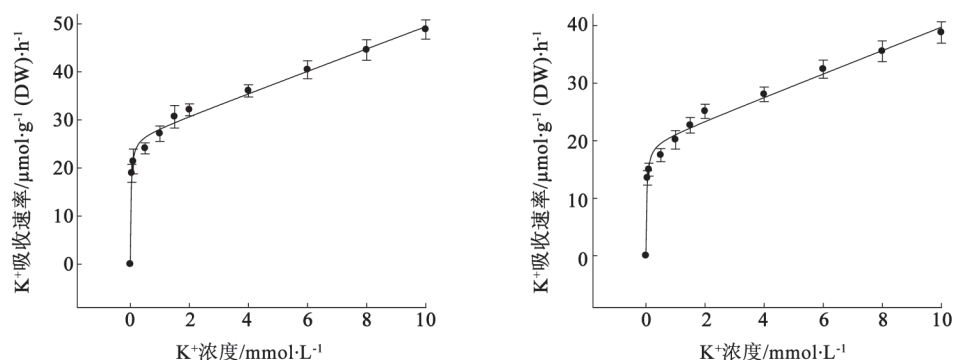
### 2 两个小麦品种根K<sup>+</sup>吸收动力学特性

NaCl胁迫下, 耐盐品种‘DK961’根和叶片比盐敏感品种‘LM15’积累更多K<sup>+</sup>, 那么, 2个品种在K<sup>+</sup>吸收动力学方面是否存在区别, 为此分析了它们的K<sup>+</sup>吸收动力学特性。在0~10 mmol·L<sup>-1</sup> KCl条件下, 2个小麦品种根K<sup>+</sup>吸收动力学曲线均符合Michaelis-Menten方程, 即 $V=V_{\max} \times [S]/([S]+K_m)+k \times [S]$  (图2)。K<sup>+</sup>吸收动力学曲线由饱和组分(高亲和K<sup>+</sup>吸收系统)和线性组分(低亲和K<sup>+</sup>吸收系统)组成。两个品种的K<sub>m</sub>值、V<sub>max</sub>值和k值总结如表1。‘DK961’根K<sup>+</sup>吸收的K<sub>m</sub>值、V<sub>max</sub>值和k值分别为22.26 μmol·L<sup>-1</sup>、26.31 μmol·g<sup>-1</sup>(DW)·h<sup>-1</sup>和2.32 μmol·g<sup>-1</sup>(DW)·h<sup>-1</sup>, 而‘LM15’的K<sub>m</sub>值、V<sub>max</sub>值和k值分别为27.15 μmol·L<sup>-1</sup>、19.51 μmol·g<sup>-1</sup>(DW)·h<sup>-1</sup>和2.03 μmol·g<sup>-1</sup>(DW)·h<sup>-1</sup>, 分别为‘DK961’的1.22、0.74和0.88倍。‘DK961’根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲合力(K<sub>m</sub>)和最大反应速率(V<sub>max</sub>)均显著高于‘LM15’, 低亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的吸收速率(k)显著高于‘LM15’ (图1、表1)。结果表明, ‘DK961’根比‘LM15’具有更高效的K<sup>+</sup>吸收系统。

盐处理是否会诱导高亲和K<sup>+</sup>转运系统动力学参数发生变化是值得探讨的问题。表1结果表明,

图1 NaCl处理对不同耐盐性小麦根和叶片中K<sup>+</sup>含量(A)、Na<sup>+</sup>含量(B)和K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比(C)的影响Fig.1 Effects of NaCl treatment on the K<sup>+</sup> content (A), Na<sup>+</sup> content (B) and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio (C) in roots and leaves of differently salt-tolerant wheat cultivars

图中数据为5个重复的平均值±标准误。各柱形上不同字母表示差异显著(P&lt;0.05)。

图2 'DK961' (左)和'LM15' (右)根的K<sup>+</sup>吸收动力学曲线Fig.2 K<sup>+</sup> uptake kinetic curve in roots of 'DK961' (left) and 'LM15' (right)

图中数据为10个重复的平均值±标准误。

表1 低浓度NaCl处理对小麦根K<sup>+</sup>吸收动力学参数的影响Table 1 Changes in kinetic parameter of K<sup>+</sup> uptake of two wheat cultivars under low concentration NaCl

NaCl浓度/ mmol·L <sup>-1</sup>	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		$V_{\max}/\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$		$k/\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$	
	'DK961'	'LM15'	'DK961'	'LM15'	'DK961'	'LM15'
1	22.26±1.57 (100)	27.15±1.86 (100)	26.31±1.95 (100)	19.51±1.36 (100)	2.32±0.46 (100)	2.03±0.53 (100)
15	18.09±1.19 (81.3)	25.42±1.48 (93.6)	28.46±1.62 (108.2)	20.42±1.23 (104.7)	2.19±0.51 (94.4)	1.64±0.32 (80.8)
25	16.67±1.24 (74.9)	24.76±1.37 (91.2)	32.15±2.31 (122.2)	21.54±1.65 (110.5)	2.04±0.49 (87.9)	1.39±0.18 (68.5)
35	24.87±1.28 (111.7)	32.27±2.24 (118.9)	23.13±1.19 (87.9)	14.13±1.05 (72.5)	1.89±0.22 (81.5)	1.11±0.19 (54.7)

括号中为同一小麦品种同一参数所占1 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理条件下参数的百分数。表中数据为10个重复的平均值±标准误。

与1 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl对照相比, 15和25 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理条件下, 'DK961'根高亲和和K<sup>+</sup>吸收系统的 $K_m$ 值分别下降了18.7%和25.1%, 'LM15'的 $K_m$ 值分别下降了6.4%和8.8%, 表明低浓度NaCl处理提高高亲和和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲合力, 对'DK961'的提高作用更显著。'DK961'根高亲和和K<sup>+</sup>吸收系统的 $V_{\max}$ 值分别增加了8.2%和22.2%, 'LM15'的 $V_{\max}$ 值分别增

加了4.7%和10.5%, 表明低浓度NaCl处理促进K<sup>+</sup>吸收速率的增加, 对'DK961'的促进作用更显著。与1 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl对照相比, 35 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理条件下, 'DK961'和'LM15'根的K<sup>+</sup>吸收的 $K_m$ 分别上升了11.7%和18.9%,  $V_{\max}$ 值分别下降了12.1%和27.5%, 表明当超过一定的盐浓度(25 mmol·L<sup>-1</sup>), 随着NaCl浓度的增加, 高亲和和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲



和力下降,  $K^+$ 最大吸收速率下降, 对‘LM15’的作用更显著。与 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl对照相比, 15、25和 $35 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl处理均显著降低 $k$ 值, ‘DK961’的分别下降了5.6%、12.1%和18.5%, ‘LM15’的分别下降了19.2%、31.5%和45.3% (表1)。这些结果表明, 适当浓度NaCl处理通过上调高亲和 $K^+$ 吸收系统对 $K^+$ 的亲力和最大吸收速率促进对 $K^+$ 吸收, 对耐盐品种促进作用更大。但是, NaCl处理对低亲和 $K^+$ 吸收系统产生抑制作用, 随着NaCl浓度增加, 抑制作用增强,  $K^+$ 吸收速率显著下降, 对‘LM15’的抑制作用更显著。

### 3 高亲和 $K^+$ 转运体抑制剂对‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 积累的影响

越来越多的证据表明, 高亲和 $K^+$ 吸收转运体HKT1有转运 $\text{Na}^+$ 的作用, 那么, 小麦根高亲和 $K^+$ 吸收转运体是否参与 $\text{Na}^+$ 的吸收? 我们用高亲和 $K^+$ 转运体抑制剂处理, 分析了根中 $\text{Na}^+$ 含量。图3表明, 随着外界 $K^+$ 浓度(KCl浓度从 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $0.4$ 和 $0.7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的提高, 根中 $\text{Na}^+$ 含量都增加。在低钾条件下, 高亲和 $K^+$ 吸收系统抑制剂NEM对‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 积累没有显著影响。这些结果初步表明, 在低钾条件下, ‘DK961’高亲和 $K^+$ 吸收系统不参与 $\text{Na}^+$ 的吸收。

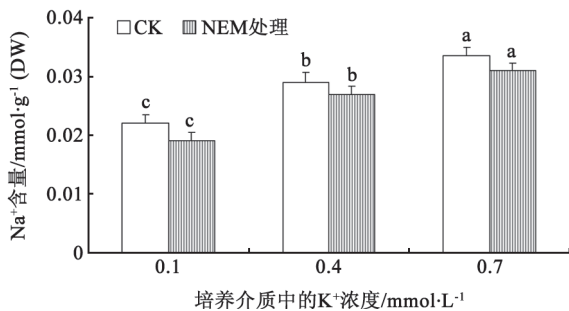


图3 NEM处理对‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 积累的影响

Fig.3 Effects of NEM treatments on  $\text{Na}^+$  accumulation in roots of ‘DK961’

图中数据为10个重复的平均值 $\pm$ 标准误。3种介质中均含 $0.4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl。各柱形上不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

### 4 $K^+$ 通道和非选择性阳离子通道抑制剂对‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 积累的影响

既然高亲和 $K^+$ 吸收系统不参与 $\text{Na}^+$ 的吸收, 那就需要研究根吸收 $\text{Na}^+$ 的其他途径。与对照相比, 在15、25和 $35 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl培养条件下, TEA $^+$ 处

理使‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 含量分别下降了21.6%、25.2%和26%,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 处理使其分别下降了43.2%、43.1%和46%, TEA $^+$ 和 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 混合处理使其分别下降了57.8%、59.4%和63.8% (图4)。非选择性阳离子通道抑制剂对 $\text{Na}^+$ 吸收的抑制程度显著高于 $K^+$ 通道抑制剂对 $\text{Na}^+$ 吸收的抑制程度。结果表明, 非选择性阳离子通道是小麦根 $\text{Na}^+$ 吸收的主要途径, 而 $K^+$ 通道是 $\text{Na}^+$ 吸收的另一条重要途径。

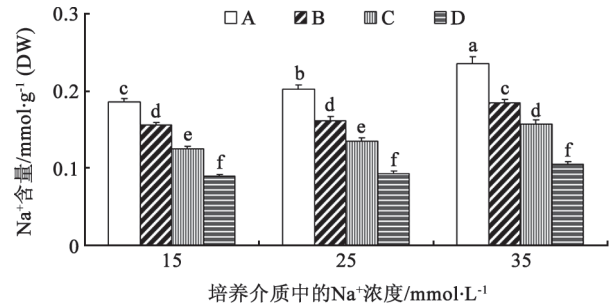


图4 离子通道抑制剂对‘DK961’根中 $\text{Na}^+$ 积累的影响

Fig.4 Effects of inhibitors of ionic channels on  $\text{Na}^+$  accumulation in roots of ‘DK961’

图中数据为10个重复的平均值 $\pm$ 标准误。3种介质中均含 $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl。A: 对照; B:  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  TEA $^+$ 处理; C:  $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 处理; D:  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  TEA $^+$ 和 $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 混合处理。各柱形上不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

### 5 低钾条件下 $\text{H}^+$ 分泌速率和 $K^+$ 吸收速率之间的关系

高等植物根系高亲和 $K^+$ 吸收系统可能是 $K^+-\text{H}^+$ 共转运, 也可能是 $K^+-\text{Na}^+$ 共转运, 那么, 小麦根系高亲和 $K^+$ 吸收系统到底是 $K^+-\text{H}^+$ 共转运, 还是 $K^+-\text{Na}^+$ 共转运? 我们分析了根系质子分泌速率与 $K^+$ 吸收速率之间的关系。在质膜 $\text{H}^+-\text{ATPase}$ 最适pH (pH=6.5)的吸收介质中, 随着外界 $K^+$ 浓度的增加,  $\text{H}^+$ 分泌速率和 $K^+$ 吸收速率均增加。 $\text{H}^+$ 分泌速率和 $K^+$ 吸收速率之间呈正相关( $r=0.992824$ ) (图5)。相关性分析和高亲和抑制剂处理的结果表明, 小麦根系高亲和 $K^+$ 吸收系统是 $K^+-\text{H}^+$ 共转运而不是 $K^+-\text{Na}^+$ 共转运。

## 讨 论

植物细胞内过高浓度 $\text{Na}^+$ 积累影响植物对 $K^+$ 吸收, 从而导致 $K^+$ 缺乏和 $\text{Na}^+$ 过量, 组织中 $K^+/\text{Na}^+$ 比明显下降, 进而抑制植物生长(Fischer-Schliebs等1997; Botella等1997)。NaCl处理条件下, 2个小麦

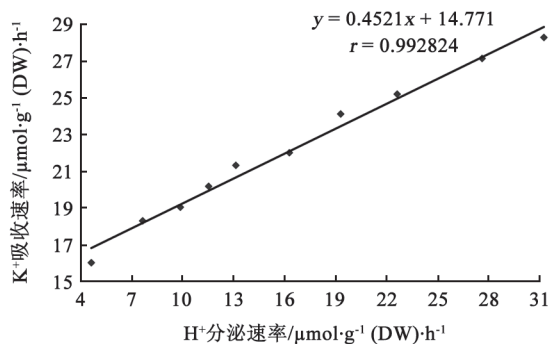


图5 低钾条件下H<sup>+</sup>分泌速率和K<sup>+</sup>吸收速率相关性分析  
Fig.5 The correlative analysis of K<sup>+</sup> uptake rate and H<sup>+</sup> extrusion rate at low potassium concentrations

品种根和叶片中的K<sup>+</sup>含量均显著下降,但耐盐性强的‘DK961’根和叶片中的K<sup>+</sup>含量均显著高于盐敏感的‘LM15’(图1-A);2个小麦品种根和叶片中的Na<sup>+</sup>含量显著升高,‘DK961’根中的Na<sup>+</sup>含量显著高于‘LM15’,而‘DK961’叶片中Na<sup>+</sup>含量显著低于‘LM15’(图1-B)。这些结果表明,NaCl处理条件下,与盐敏感小麦‘LM15’相比,耐盐小麦‘DK961’能够在根中积累较多的Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>,限制Na<sup>+</sup>向地上部分转运,促进K<sup>+</sup>向地上部分转运,从而保证NaCl胁迫下叶片较高的K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比(图1-C)。王晓东等人的研究也证实,盐胁迫下,小麦盐敏感品种‘中国春’根际中K<sup>+</sup>的含量显著低于耐盐品种‘长武134’中K<sup>+</sup>含量(王晓东等2011)。

为了探讨耐盐小麦保持叶片相对较高K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比的机理,对2个小麦品种根K<sup>+</sup>吸收动力学特性进行了分析。一般认为K<sup>+</sup>吸收主要通过两种吸收系统进行,高亲和K<sup>+</sup>吸收系统在外界低浓度K<sup>+</sup>(0.1~0.7 mmol·L<sup>-1</sup>)条件下介导K<sup>+</sup>吸收,而低亲和K<sup>+</sup>吸收系统在外界高浓度K<sup>+</sup>(1~15 mmol·L<sup>-1</sup>)条件下介导K<sup>+</sup>吸收(Flowers等1977; Schroeder等1994)。在0~10 mmol·L<sup>-1</sup> KCl条件下,2个小麦品种根K<sup>+</sup>吸收动力学曲线均符合Michaelis-Menten方程,即 $V=V_{\max}\times[S]/([S]+K_m)+k\times[S]$ (图2)。根据此曲线,K<sup>+</sup>吸收系统分为高亲和K<sup>+</sup>吸收系统(0.1~0.7 mmol·L<sup>-1</sup>)和低亲和K<sup>+</sup>吸收系统(>0.7 mmol·L<sup>-1</sup>)。在相同处理(对照和NaCl胁迫)条件下,‘DK961’根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲合力和最大反应速率均显著高于‘LM15’,低亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>吸收速率显著高于‘LM15’(表1)。这些结果表明,耐盐小

麦‘DK961’根比盐敏感小麦‘LM15’具有更高效的K<sup>+</sup>吸收系统。低浓度NaCl处理(15和25 mmol·L<sup>-1</sup>)对2个小麦品种根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲合力均具有促进作用,对‘DK961’的促进作用更显著(表1)。随着外界NaCl浓度升高到35 mmol·L<sup>-1</sup>,高亲和K<sup>+</sup>吸收系统对K<sup>+</sup>的亲合力显著下降,对‘DK961’的抑制程度小于‘LM15’,这些结果与前人的结果类似(Niu等1995; 张纪涛等2012)。NaCl处理显著抑制2个小麦品种根低亲和K<sup>+</sup>吸收系统,对‘DK961’的抑制程度小于‘LM15’。NaCl胁迫下,耐盐小麦‘DK961’根高亲和K<sup>+</sup>吸收系统和低亲和K<sup>+</sup>吸收系统均显著强于‘LM15’,从而导致NaCl胁迫下‘DK961’根中K<sup>+</sup>含量显著高于‘LM15’(图1)。

到目前为止,还没有发现Na<sup>+</sup>的专一性转运体和通道。通过爪蟾卵母细胞异源表达系统研究结果表明,质膜上高亲和K<sup>+</sup>吸收系统介导Na<sup>+</sup>吸收(Rubio等1995; Uozumi等2000)。小麦TaHKT1在微摩尔Na<sup>+</sup>浓度下为Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>协同运输体,在毫摩尔Na<sup>+</sup>浓度下为Na<sup>+</sup>单向运输体(Rubio等1995),水稻HKT由2个基因编码,OsHKT1类似AtHKT1为Na<sup>+</sup>运输体(Uozumi等2000),而OsHKT2类似TaHKT1,可作为Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>协同运输体或单向运输体。小麦根高亲和K<sup>+</sup>吸收转运体是否参与根Na<sup>+</sup>的吸收还不得而知。本文结果表明,随着外界K<sup>+</sup>浓度的提高(KCl浓度从0.1 mmol·L<sup>-1</sup>到0.4和0.7 mmol·L<sup>-1</sup>),根中Na<sup>+</sup>含量也增加。表明在NaCl浓度(0.4 mmol·L<sup>-1</sup>)不变的情况下,KCl浓度的升高,对Na<sup>+</sup>吸收速率有促进作用(图3),这与前人的结果是一致的(Niu等1995)。在低钾和低钠条件下,高亲和K<sup>+</sup>吸收系统抑制剂NEM对‘DK961’根中Na<sup>+</sup>积累没有显著影响。结果表明,在低钾条件下,‘DK961’高亲和K<sup>+</sup>吸收系统不参与Na<sup>+</sup>的吸收。H<sup>+</sup>分泌速率和K<sup>+</sup>吸收速率之间呈正相关(图5),间接表明在低钾条件下,小麦根K<sup>+</sup>吸收是通过K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>同向转运,而不是K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>同向转运。

与对照相比,在15、25和35 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl培养条件下,TEA<sup>+</sup>(K<sup>+</sup>通道抑制剂)处理使‘DK961’根中Na<sup>+</sup>含量分别下降了21.6%、25.2%和26%,Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(非选择性阳离子通道抑制剂)处理使其分别下降了43.2%、43.1%和46%,TEA<sup>+</sup>和Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>混合处理使其分别下降了57.8%、59.4%

和63.8% (图4)。非选择性阳离子通道抑制剂对 $\text{Na}^+$ 吸收的抑制程度显著高于 $\text{K}^+$ 通道抑制剂对 $\text{Na}^+$ 吸收的抑制程度。结果表明,非选择性阳离子通道是小麦根 $\text{Na}^+$ 吸收的主要途径,而 $\text{K}^+$ 通道是 $\text{Na}^+$ 吸收的另一条重要途径。

总之,在 $\text{NaCl}$ 胁迫下,非选择性阳离子通道是小麦根 $\text{Na}^+$ 吸收的主要途径,高亲和 $\text{K}^+$ 吸收是通过 $\text{K}^+/\text{H}^+$ 同向转运,而不是 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 同向转运,小麦部分通过调节根系 $\text{K}^+$ 吸收系统而维持叶片较高的 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 比提高耐盐性。

### 参考文献

- 鄂志国,张丽靖(2010). 水稻盐胁迫应答的分子机制. 杂交水稻, 25 (2): 1~5
- 李青松,王俐梅,汪德勇,王林权(2010). 不同基因型冬小麦 $\text{Na}^+$ 吸收动力学特征及其耐盐性. 土壤学报, 47 (1): 145~152
- 王宝山,赵可夫(1995). 小麦叶片中 $\text{Na}$ 、 $\text{K}$ 提取方法的比较. 植物生理学通讯, 31 (1): 50~52
- 王晓冬,王成,马智宏,侯瑞锋,高权,陈泉(2011). 短期 $\text{NaCl}$ 胁迫对不同小麦品种幼苗 $\text{K}^+$ 吸收和 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 积累的影响. 生态学报, 31 (10): 2822~2830
- 吴延寿,陈春莲,熊运华,黄永萍,周文红,徐兰香,尹建华(2010). 植物体内 $\text{Na}/\text{K}$ 转运体研究进展. 江西农业学报, 22 (6): 37~41
- 杨洪兵,丁顺华,邱念伟,王宝山,崔大勇(2001). 耐盐性不同的小麦根和根茎结合部的拒 $\text{Na}^+$ 作用. 植物生理学报, 27 (2): 179~185
- 乙引,汤章城(1996). 渗透胁迫对高粱根 $\text{K}^+$ 吸收的影响. 植物生理学报, 22 (2): 191~196
- 张纪涛,韩坤,王林权,李翠(2012). 不同温度型小麦 $\text{K}^+$ 吸收动力学特征及其盐胁迫效应. 植物营养与肥料学报, 18 (1): 1~9
- Botella MA, Martinez V, Pardines J, Cerdá A (1997). Salinity induced potassium deficiency in maize plants. J Plant Physiol, 150: 200~205
- Chen Z, Newman I, Zhou M, Mendham N, Zhang G, Shabala S (2005). Screening plants for salt tolerance by measuring  $\text{K}^+$  flux: a case study for barley. Plant Cell Environ, 28 (10): 1230~1246
- Cuin TA, Betts SA, Chalmandrier R, Shabala S (2008). A root's ability to retain  $\text{K}^+$  correlates with salt tolerance in wheat. J Exp Bot, 59 (10): 2697~2706
- Davenport RJ, Tester M (2000). A weakly voltage-dependent, non-selective cation channel mediates toxic sodium influx in wheat. Plant Physiol, 122 (3): 823~834
- Demidchik V, Tester M (2002). Sodium fluxes through nonselective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis* roots. Plant Physiol, 128 (2): 379~387
- Ding TL, Duan P, Wang BS (2006).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  selectivity of leaf sheath in wheat cultivars differing in salt tolerance. J Plant Physiol Mol Biol, 32 (1): 123~126
- Fischer-Schliebs E, Ball E, Berndt E, Besemfelder-Butz E, Binzel ML, Drobny M, Mühlhoff D, Müller ML, Rakowski K, Ratajczak R (1997). Differential immunological cross-reactions with antisera against the V-ATPase of *Kalanchoë daigremontiana* reveal structural differences of V-ATPase subunits of different plant species. Biol Chem, 378 (10): 1131~1140
- Flowers TJ, Troke PF, Yeo AR (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. Annu Rev Plant Physiol, 28: 89~121
- Golldack D, Quigley F, Michalowski CB, Kamasani UR, Bohnert HJ (2003). Salinity stress-tolerant and -sensitive rice (*Oryza sativa* L.) regulate AKT1-type potassium channel transcripts differently. Plant Mol Biol, 51 (1): 71~81
- Munns R (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytol, 167 (3): 645~663
- Munns R, James RA, Läuchli A (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. J Exp Bot, 57 (5): 1025~1043
- Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (1995). Ion homeostasis in  $\text{NaCl}$  stress environments. Plant Physiol, 109 (3): 735~742
- Rubio F, Gassmann W, Schroeder JI (1995). Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. Science, 270: 1660~1663
- Schroeder JI, Ward JM, Gassmann W (1994). Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying  $\text{K}^+$  channels in higher plants: biophysical implications for  $\text{K}^+$  uptake. Annu Rev Biophys Biomol Struct, 23: 441~471
- Shabala S (2003). Regulation of potassium transport in leaves: from molecular to tissue level. Ann Bot, 92 (5): 627~634
- Uozumi N, Kim EJ, Rubio F, Yamaguchi T, Muto I, Tsuboi A, Baker EP, Nakamura T, Schroeder JI (2000). The *Arabidopsis* HKT1 gene homolog mediates inward  $\text{Na}^+$  currents in *Xenopus laevis* oocytes and  $\text{Na}^+$  uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. Plant Physiol, 122 (4): 1249~1260
- White PJ (1999). The molecular mechanism of sodium influx to root cells. Trends Plant Sci, 4 (7): 245~246