

蒋薇, 靳容, 刘明, 等. 甘薯 *IbHKT-like* 基因的克隆与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(4): 831-838.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.04.003

甘薯 *IbHKT-like* 基因的克隆与表达分析

蒋薇¹, 靳容¹, 刘明¹, 赵鹏¹, 张爱君¹, 王丹凤¹, 李铁鑫², 范文静², 唐忠厚¹

(1. 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/中国农业科学院甘薯研究所, 江苏 徐州 221131; 2. 安徽农业大学农学院, 安徽 合肥 230036)

摘要: 植物高亲和钾转运体 *HKT* 基因具有 Na^+ (或 K^+) 单向运输或 Na^+-K^+ 共转运作用。为了探究甘薯高亲和钾转运体 *HKT* 的离子转运情况及其对非生物胁迫的响应, 本研究克隆得到 1 个甘薯钾离子转运体 *IbHKT-like* 基因。生物信息学分析结果表明, *IbHKT-like* 基因序列全长为 1 647 bp, 编码 548 个氨基酸。IbHKT-like 蛋白有 2 个 TrkH (细菌钾转运系统 Trk 亚基) 保守结构域, 10 个跨膜片段。进化树分析结果表明, IbHKT-like 蛋白与旋花科的矮牵牛 *InHKT6* 氨基酸序列十分相似, 相似度为 90.63%。亚细胞定位结果显示, IbHKT-like 蛋白主要定位在细胞质膜, 在叶绿体中存在少量分布。组织特异性分析结果表明, *IbHKT-like* 基因在叶中表达量最高。实时荧光定量 PCR 结果显示, *IbHKT-like* 基因的表达受到低温、干旱、高盐及过氧化氢胁迫的诱导, 说明 *IbHKT-like* 基因可能在甘薯抵御非生物胁迫中发挥着重要的作用。

关键词: 甘薯; *IbHKT-like* 基因; 基因克隆; 表达分析; 亚细胞定位

中图分类号: Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)04-0831-08

Cloning and expression analysis of *IbHKT-like* gene in sweet potato

JIANG Wei¹, JIN Rong¹, LIU Ming¹, ZHAO Peng¹, ZHANG Ai-jun¹, WANG Dan-feng¹, LI Tie-xin², FAN Wen-jing², TANG Zhong-hou¹

(1. Xuzhou Institute of Agricultural Sciences of Xuhuai District of Jiangsu Province/Sweet Potato Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xuzhou 221131, China; 2. College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: The plant high affinity potassium transporter *HKT* gene had Na^+ (or K^+) unidirectional transport effect or Na^+-K^+ co-transport effect. To explore the ion transport of high affinity potassium transporter *HKT* in sweet potato and its response to abiotic stress, a potassium transporter *IbHKT-like* gene of sweet potato was cloned in this study. Results of bioinformatics analysis showed that, the full length of *IbHKT-like* gene sequence was 1 647 bp, encoding 548 amino acids. The IbHKT-like protein had two TrkH (Trk subunit of potassium transport system in bacteria) conservative domains and ten transmembrane fragments. Results of evolutionary tree analysis showed that, the amino acid sequence of IbHKT-like protein was very similar to that of *InHKT6* in petunia of Convolvulaceae, with the similarity of 90.63%. Subcellular localization showed that, the IbHKT-like protein mainly located in the cytoplasmic membrane and rarely located in the chloroplast. Results of tissue-specific analysis showed that, the expression quantity of

IbHKT-like gene was the highest in the leaves. The results of real-time fluorescent quantitative PCR showed that, the expression of *IbHKT-like* gene was induced by low temperature, drought, high salinity and hydrogen peroxide, indicating that *IbHKT-like* gene may play an important role in the resistance of sweet potato to abiotic stress.

Key words: sweet potato; *IbHKT-like* gene; gene

收稿日期: 2020-12-06

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD1000704); 国家自然科学基金项目 (31771721); 国家甘薯产业技术体系项目 (CARS-11)

作者简介: 蒋薇 (1996-), 女, 江苏常州人, 硕士研究生, 主要从事甘薯栽培生理与生态研究。(E-mail) 1298081288@qq.com

通讯作者: 唐忠厚, (E-mail) zhonghoutang@sina.com

cloning; expression analysis; subcellular localization

钾元素约占地壳总质量的2.1%~2.3%,是地球上第七大元素,同时钾作为作物生长所必需的大量矿质营养元素之一,对于作物的生长、产量、品质以及作物对非生物环境胁迫的适应均十分重要^[1]。但中国土壤中有效钾含量偏低,且低钾胁迫现象在中国甘薯种植区十分普遍,成为甘薯优质高产的主要制约因素之一。

高亲和钾离子转运体 HKT (High-affinity K⁺ transporter) 是 Na⁺(K⁺) 单向转运体或 Na⁺-K⁺ 共转运体的总称,它由 N 端短胞质区、C 端短胞质区及 1 个带有 4 个重复 MPM 基序(1TMS-1P-1TMS) 区域的疏水核心结构组成,每个基序由 2 个跨膜区域和 1 个保守的成孔结构域(P-loop) 组成。4 个 P-loop 最终排列形成中心的渗透路径^[2]。根据异源表达系统的功能研究和系统发育分析,在被子植物中,HKT 家族可分为 2 个亚家族。亚家族 I 和亚家族 II 的离子选择特性取决于 HKT 转运蛋白第 1 个 P_A-loop 保守位点的氨基酸。亚家族 I 的 4 个 P-loop 保守位点的氨基酸为丝氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Ser-Gly-Gly-Gly),主要存在于双子叶植物中,具有 Na⁺ 转运功能;亚家族 II 的 4 个 P-loop 保守位点的氨基酸为甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Gly-Gly),主要存在于单子叶植物中,亚家族 II 不仅是 K⁺-Na⁺ 共转运体,在外界环境影响下,亦可作为 Na⁺ 或 K⁺ 单向转运体^[3]。

迄今为止,人们已对拟南芥^[4-5]、水稻^[6-7]、小麦^[8-9]、小花碱茅^[10-11]、胡杨^[12] 等多种作物的 HKT 蛋白进行了克隆和分析,HKT 转运体的 K⁺ 运输功能主要在异源表达系统得到验证,小麦 TaHKT1 转运体参与钾离子运输^[13],在大肠杆菌、酵母的缺陷体中过表达 *McHKT1*、*OsHKT1* 基因,能够弥补钾离子吸收缺陷^[14-16]。*AtHKT1* 基因通过在拟南芥根中过表达来减少 Na⁺ 向叶运输,降低叶中 Na⁺ 浓度。*OsHKT8(SKCI)* 基因参与韧皮部汁液的再循环过程,将 Na⁺ 从地上部转移至根中,降低 Na⁺ 浓度,进而提高作物的耐盐性^[17-18]。

甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 广泛栽培于热带、亚热带地区,具有耐贫瘠、适应性强等特性,是一种重要的“喜钾”粮食作物。在甘薯中,一些 HKT 家族基因已被克隆研究,Park 等^[19] 在研究烟草瞬时表达时发现 *IbHKT1* 基因能吸收钠离子,酵母互补

试验发现 *IbHKT1* 在没有氯化钠存在的情况下能吸收钾离子。本课题组前期通过转录组数据共挖掘了 4 个 *IbHKT* 基因^[20],通过 qRT-PCR 分析发现 *IbHKTs* 受低钾诱导表达,且在不同耐低钾甘薯品种中的表达量存在差异。但目前对于甘薯吸收和转运钾离子的机理尚不清楚。本研究在此基础上,再次克隆得到 1 个甘薯 *IbHKT-like* 基因,并对其进行了生物信息学分析、表达模式分析和亚细胞定位,为甘薯 *IbHKT-like* 基因的功能鉴定及甘薯耐低钾分子机制研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用甘薯品种为徐薯 32 号(由江苏徐州甘薯研究中心育成)和普薯 32 号(由普宁市农业科学院育成),试验材料种植于苗圃温室,常规管理。

1.2 *IbHKT1* 基因克隆

根据课题组前期甘薯转录组测序数据获得 *IbHKT-like* 基因序列,设计 *IbHKT-like* 基因特异性的上游引物和下游引物(表 1),进行 PCR 扩增。采用生工生物工程(上海)股份有限公司 Taq PCR Mix(2×,含蓝染料)试剂盒配制反应体系。反应程序:94℃ 预变性 10 min;94℃ 30 s,54℃ 30 s,72℃ 2 min,30 个循环。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 生物信息学分析

利用在线工具 Pfam (<http://pfam.xfam.org>) 和 TMHMM Server v.2.0 (<http://www.cbm.sdu.dk/services/TMHMM/>) 对甘薯 *IbHKT-like* 氨基酸序列进行保守结构域和跨膜结构域预测。通过 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得其他物种的同源 HKT 氨基酸序列,并利用 DNAMAN 9.0 对甘薯 *IbHKT-like* 蛋白及其他物种同源 HKT 蛋白的氨基酸序列进行多重序列比对,然后采用 MEGA 7.0 的邻近法(Neighbor-joining method, NJ) 构建系统进化树,Bootstrap 设置为 1 000 次重复。

1.4 基因表达模式分析

将大田剪取的 25~30 cm 长势一致的普薯 32 号幼苗水培,待甘薯幼苗长根且顶部长出新叶后,进行如下胁迫处理:(1) 低温胁迫,放入 4℃ 光照培养箱水培处理;(2) 干旱胁迫,放置于无水空瓶中进行干旱培

养处理;(3)过氧化氢处理,用 30% H_2O_2 喷洒叶面并水培处理;(4)盐胁迫,用 300 mmol/L NaCl 水培处理,分别于处理后 2 h、12 h 取幼苗从上至下第 3、第 4 张展开叶,用液氮速冻,按照捷瑞动物总 RNA 快速提取试剂盒说明书提取总 RNA,再用宝生物工程(大连)有限公司(PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser)试剂盒将其反转录成 cDNA 备用。提取田间正常生长的徐薯 32 的叶、茎、根(毛根、柴根、块根)的 RNA,进行组织特异性分析。

利用实时荧光定量 PCR 分析不同胁迫处理下不同时间点 *IbHKT-like* 基因的表达情况。该试验用

Step One Plus(美国应用生物系统公司产品)定量仪完成。反应体系(10.0 μ l):ddH₂O 2.2 μ l、SYBR Green Realtime PCR Master Mix(日本东洋纺株式会社产品)5.0 μ l、上游引物 0.4 μ l、下游引物 0.4 μ l、模板 cDNA 2.0 μ l。反应程序:95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 15 s,57 $^{\circ}$ C 15 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,40 个循环。以 *IbARF* 为内参基因,测得数据经内参基因均一化处理,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算待测基因相对表达量。使用 Primer Premier 5.0 设计的引物序列见表 1。数据分析采用单因素方差分析,通过 SAS 9.4 完成,利用最小显著性差异法(LSD)在 0.05 的显著水平上进行多重比较。

表 1 *IbHKT-like* 基因扩增引物信息及功能

Table 1 Primer information and function of *IbHKT-like* gene

基因名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	用途
<i>IbHKT-like</i>	ATGATGATGGGTTCCGAAC	TTATGATAATTTCCAAGCTT	基因克隆
<i>IbHKT-like</i>	GTATTCCTGAGACTTTCCGTAT	AGCCCTGATGACTTCCAC	荧光实时定量 PCR
<i>IbARF</i>	CTTTGCCAAGAAGGAGATGC	TCTTGTCTGACCACCAACA	内参基因

1.5 *IbHKT-like*-GFP 瞬时表达载体构建及亚细胞定位

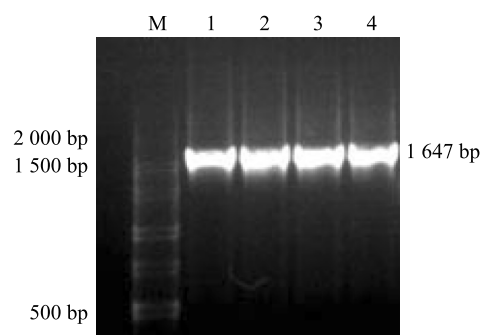
PCR 产物经检测、胶回收、纯化后,连接到 pCambia1301s 载体的 35S 启动子与绿色荧光蛋白(GFP)基因序列中间,构建 p35S-*IbHKT-like*-GFP-NOS 融合表达载体,继而转化到大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中,将菌液 PCR 验证为阳性单菌落的菌液送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。以 GFP 空载体为对照,转化农杆菌 EHA105,接种至含有 50 mg/L 利福平(Rif, Rifampicin)和 200 μ mol/L 乙酰丁香酮(AS)的 LB 液体培养基中,28 $^{\circ}$ C 摇菌至 OD₆₀₀ 值为 0.8~1.0,4 000 r/min 离心 10 min,用含 200 μ mol/L AS 的浸润介质(MES 100 mmol/L、MgCl₂ 100 mmol/L, pH=5.6)洗涤 1 次,再重悬。注射 42 d 苗龄的烟草叶片,3 d 后利用激光共聚焦显微镜[卡尔蔡司光学(中国)有限公司产品,型号 LSM 7DUO]观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 甘薯 *IbHKT-like* 基因的克隆

通过设计引物(*IbHKT-like* 基因序列的 5'端 20 bp 为上游引物,3'端 20 bp 的反向互补序列为下游引物),经 PCR 扩增、电泳后获得大小约为 1 600 bp

的目的条带(图 1),产物经过回收、测序、比对,将该基因命名为 *IbHKT-like* 基因。*IbHKT-like* 基因 cDNA 全长为 1 647 bp,编码 548 个氨基酸。



M: 标准分子质量 DNA Marker; 1、2、3、4: PCR 扩增产物。

图 1 *IbHKT-like* 基因扩增产物的检测

Fig.1 Detection of amplified *IbHKT-like* gene sequence

2.2 *IbHKT-like* 基因编码的蛋白质信息分析

将 *IbHKT-like* 蛋白与甘薯 *IbHKT1*、烟草 *NtHKT1*、拟南芥 *AtHKT1*、水稻 *OsHKT6* 及马铃薯 *StHKT1* 氨基酸序列进行比对。比对分析结果(图 2)表明,除了编码保守结构域的氨基酸,*IbHKT-like* 蛋白与其他物种的同源 HKT 序列在其他非编码保守结构域氨基酸区域的差异较大。通过 Pfam 网站保守结构域预测,发现该蛋白质在第 200~412 和第 435~

535个氨基酸之间有2个细菌钾转运蛋白 Trk 系统的亚基——TrkH 保守结构域。经过蛋白质跨膜结

构域预测发现,该序列共有10个跨膜片段(图3),可能具有钾离子转运功能。

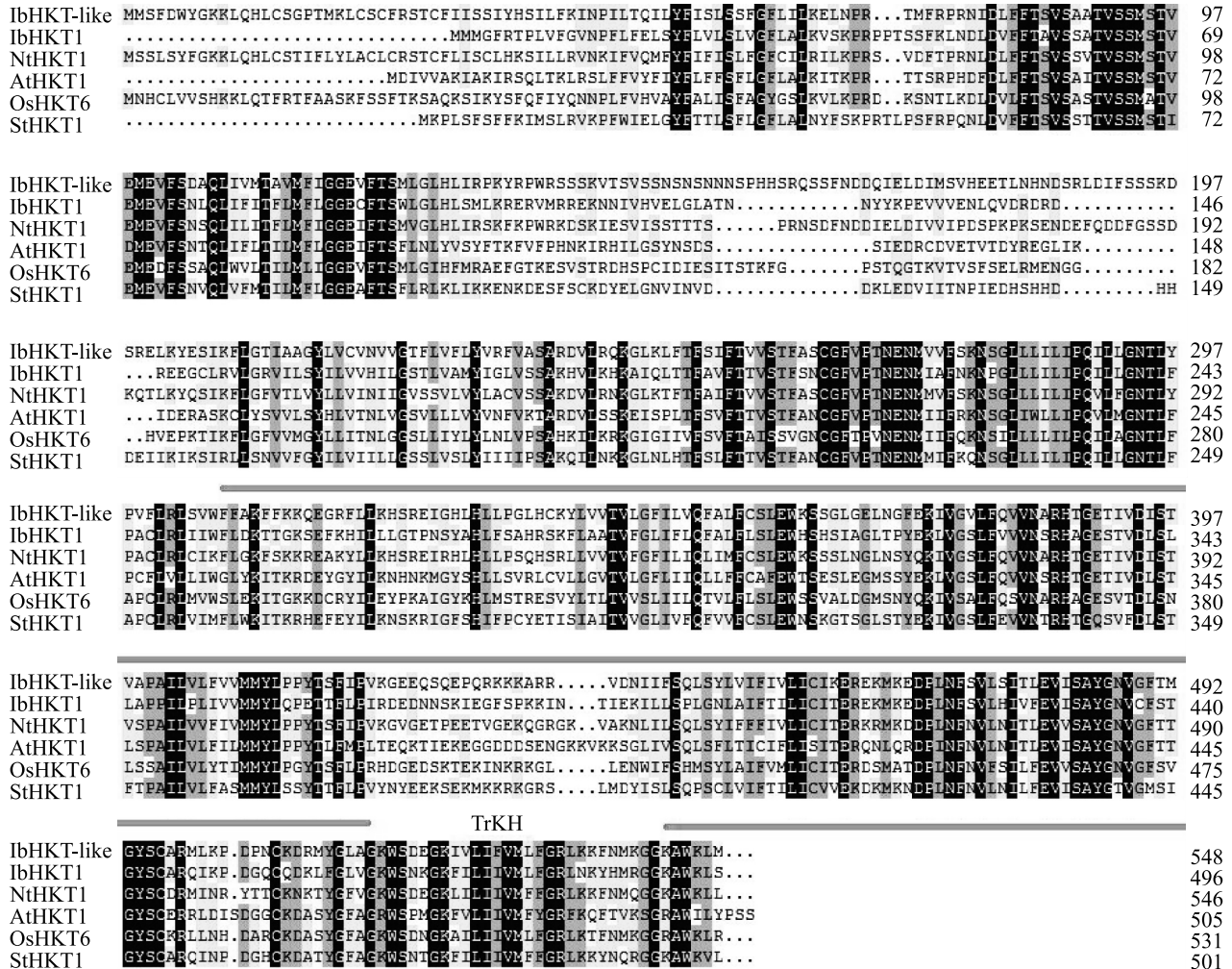


图2 IbHKT-like 蛋白多序列比对及保守结构域分析

Fig.2 Multiple sequence alignment and conserved domain analysis of IbHKT-like protein

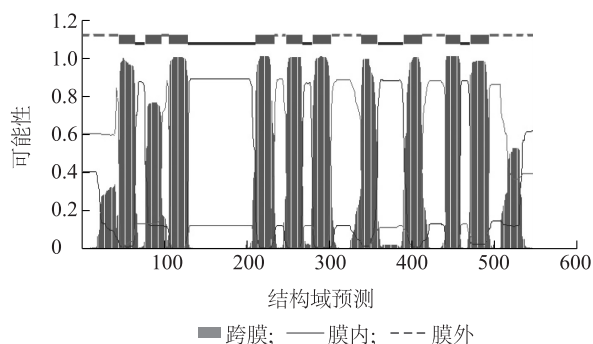


图3 IbHKT-like 蛋白跨膜结构域预测

Fig.3 Prediction of transmembrane domain of IbHKT-like protein

2.3 IbHKT-like 蛋白进化树分析

通过 NCBI 得到矮牵牛 *Ipomoea nil* (XP_019188746.1)、甘薯 *Ipomoea batatas* (AMY98959.1)、烟草 *Nicotiana tabacum* (XP_016457809.1)、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (OAO98616.1)、木薯 *Manihot esculenta* (XP_021620110.1)、大豆 *Glycine max* (XP_006582258.1)、小麦 *Triticum aestivum* (ABG33945.1)、水稻 *Oryza sativa* (XP_015626193.1)、马铃薯 *Solanum tuberosum* (XP_006359731.1)、葡萄 *Vitis vinifera* (RVW85979.1)、芝麻 *Sesamum indicum* (XP_015626193.1)。

011077901.1)、枸杞 *LbHKT1* (*Lycium barbarum*, AXY40149.1)、茄子 *ScHKT1* (*Solanum cornutum*, CCJ09643.1)、番茄 *SlHKT1* (*Solanum lycopersicum*, NP_001295273.1)的氨基酸序列,与 *IbHKT-like* 蛋白的氨基酸序列进行比对,并通过邻近法构建系统进化树

(图4),发现 *IbHKT-like* 蛋白与旋花科矮牵牛的氨基酸序列十分相似,相似度为 90.63%,但与甘薯 *IbHKT1* 蛋白关系较远,相似度为 61.00%,与拟南芥存在一定的进化距离,相似度为 48.19%。

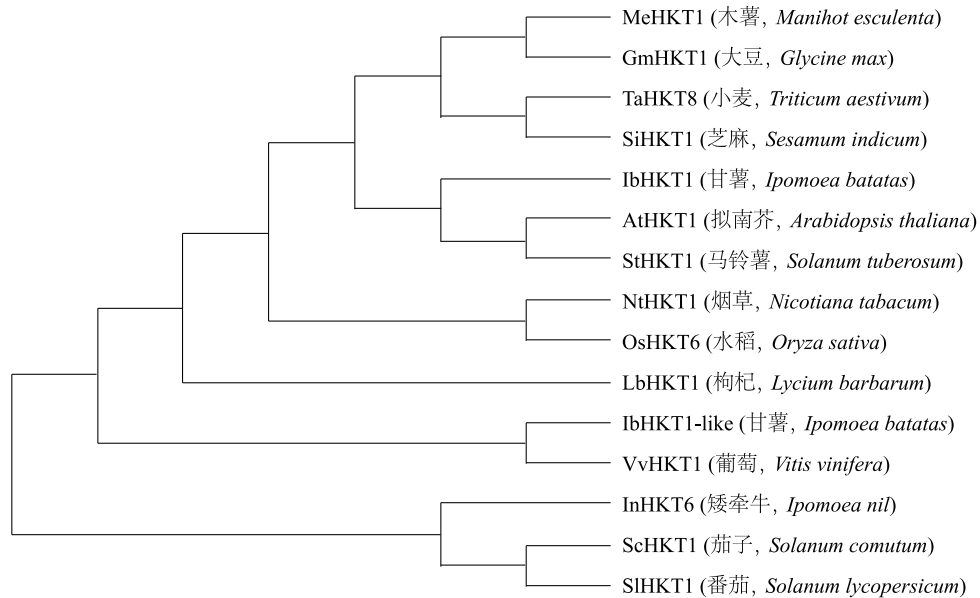


图4 HKT 蛋白的系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of HKT protein

2.4 甘薯 *IbHKT-like* 基因表达模式分析

对徐薯 32 号不同部位进行实时荧光定量 PCR 分析,结果表明, *IbHKT-like* 基因在甘薯不同组织中存在明显的表达特异性,在叶中表达量最高,在毛根中表达量最低(图5)。叶和茎中的表达量分别为毛根的 80 倍和 12 倍。

对胁迫处理后的普薯 32 号进行荧光定量 PCR 分析,发现 *IbHKT-like* 基因受低温、干旱、盐胁迫及过氧化氢处理诱导(图6)。胁迫处理后, *IbHKT-like* 基因表达量相比对照整体呈现上升趋势; *IbHKT-like* 基因受到低温胁迫诱导在短时间内大量表达,在干旱胁迫下可以持续表达,在盐胁迫及过氧化氢处理下 *IbHKT-like* 基因表达量随时间延长而上升。上述结果说明 *IbHKT-like* 基因响应甘薯非生物胁迫。

2.5 甘薯 *IbHKT-like* 蛋白亚细胞定位

为了明确 *IbHKT-like* 蛋白在细胞中的定位,将 *IbHKT-like* 基因整合到带有 GFP 荧光标记的 pCAM-BIA1301s 载体上,得到 p35S-*IbHKT-like*-GFP 融合表

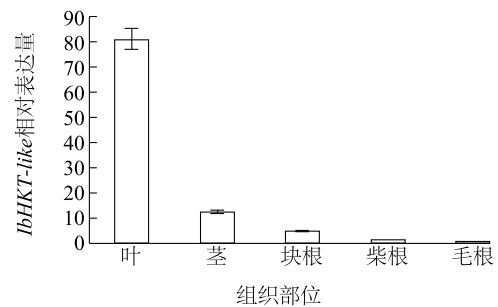
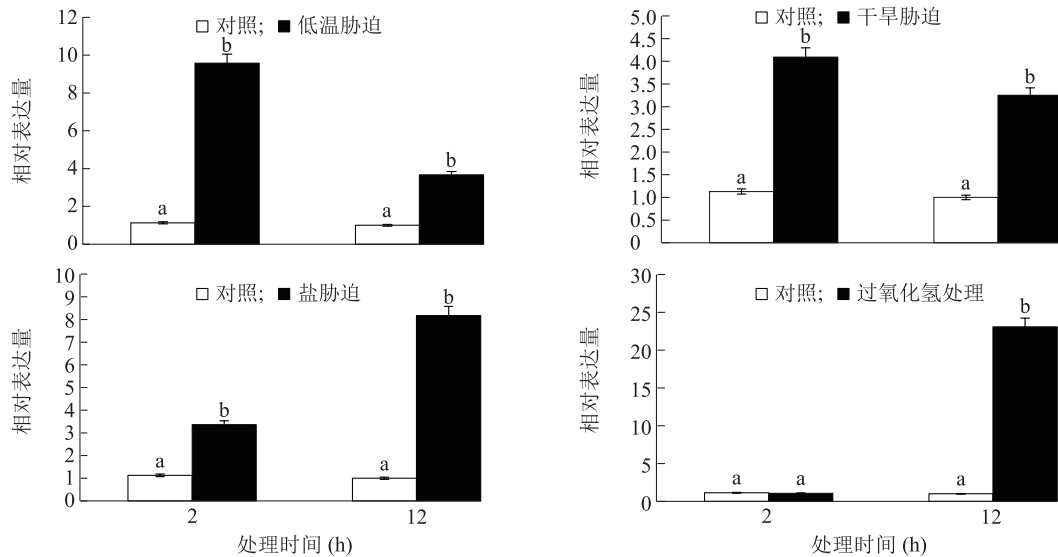


图5 *IbHKT-like* 基因在甘薯不同部位的表达模式

Fig.5 Expression pattern of *IbHKT-like* gene in different tissues of sweet potato

达载体(图7)。以 GFP 空载体为阳性对照,通过农杆菌介导其在烟草叶片中表达,利用激光共聚焦显微镜进行观察。从图8可以看出,细胞质膜上及叶绿体中有强烈的荧光信号,说明 *IbHKT-like* 蛋白主要定位在细胞质膜上,少量分布于叶绿体中,表明 *IbHKT-like* 蛋白具有跨膜转运功能。

图 6 *IbHKT-like* 基因在不同胁迫下的表达模式Fig.6 Expression pattern of *IbHKT-like* gene under different stress conditions

p35S:35S 启动子; *IbHKT-like*: *IbHKT-like* 基因; *GFP*: 绿色荧光蛋白基因; *NOS*: 终止子。

图 7 p35S-*IbHKT-like*-GFP-NOS 融合表达载体Fig.7 p35S-*IbHKT-like*-GFP-NOS fusion expression vector

3 讨论

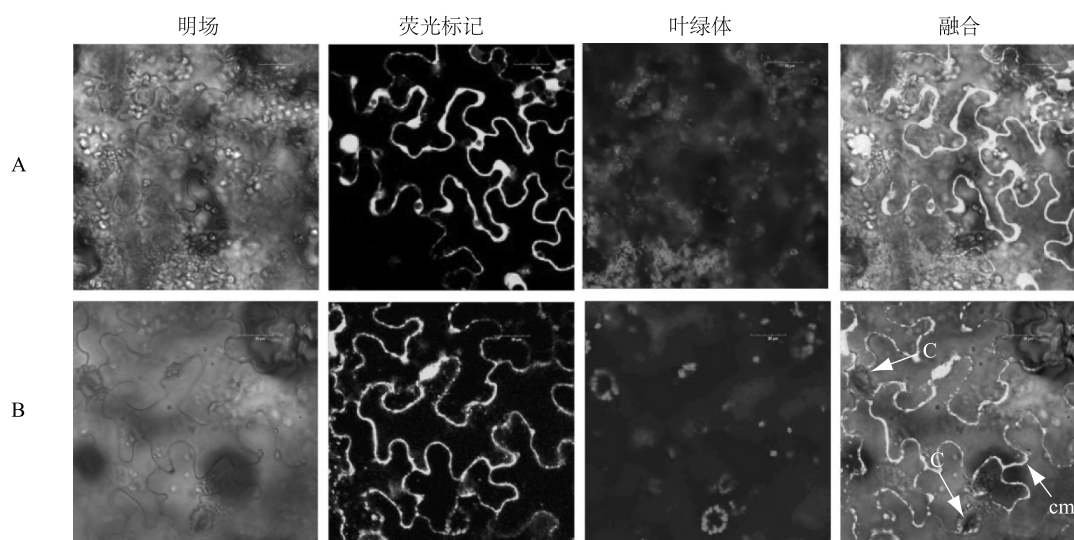
植物在长期进化过程中,形成了一套相对完善的机制来响应非生物胁迫,从而适应不利的生长环境,植物 Na^+/K^+ 平衡就是个很好的例子。植物 HKT 钾转运体由原核生物钾离子通道亚基进化而来,与真菌 Trk、细菌 Ktr 形成了一个膜转运系统的超家族,该家族可转运钠离子、钾离子等一价阳离子^[21]。

据前人研究可作出如下假设:植物 HKT 转运体具有 8 个跨膜结构域及 4 个 P-loop 环^[22-23]。生物信息学分析发现甘薯 *IbHKT-like* 基因具有 10 个跨膜结构域,同时多序列分析结果表明 *IbHKT-like* 蛋白与其他植物中的 HKT 蛋白氨基酸序列相似,都包含 2 个 HKT 家族钾转运蛋白保守结构域 TrkH^[24]。经过多序列比对及系统进化树分析,发现 *IbHKT-like* 基因编码的蛋白质与矮牵牛 *InHKT6* 位于同一分支,相似度达 90.63%。在植物学分类上,矮牵牛与甘薯同属于旋花科,亲缘关系相近,聚类分析结果与

物种分类结果一致。但与亚家族 I 的拟南芥 *AtHKT1* 蛋白相似度为 48.19%。本研究发现的 *IbHKT-like* 与之前报道的 *IbHKT1* 蛋白氨基酸序列(包含 11 个跨膜结构域)存在较大差异^[19],相似度为 61.00%,且系统进化距离较远;与本课题组前期研究的 *HKT* 基因家族中的 *IbHKT3* 蛋白极为相似,但在非编码区多了 93 个氨基酸^[20]。根据结构域分析和比对结果推测 *IbHKT-like* 为钾离子转运蛋白,参与甘薯生长发育过程中离子转运。前人研究报道 HKT 转运体定位在细胞质膜上^[25-26],本研究亚细胞定位分析结果表明, *IbHKT-like* 蛋白主要定位在细胞质膜上,少量分布于叶绿体中,推测其通过参与细胞器及细胞间的离子交换来维持细胞稳态。

不同的 HKT 转运体之间的表达模式和组织定位差异显著,如 *GmHKT6;2* 在根、茎、叶中均表达^[27],表明 HKT 转运体在不同部位具有不同的生理功能; *TaHKT1* 主要在根和叶中表达,帮助植物根系从土壤中吸收钾离子,运输到叶片^[28]; *AtHKT1* 在拟南芥柱鞘及维管束中大量表达,减少 Na^+ 由根至叶的运输^[14]。本研究发现 *IbHKT-like* 基因在叶中表达量最高,与水稻 *OsHKT1;1*、*OsHKT1;3*、*OsHKT2;3* 以及 *OsHKT2;4* 基因的表达规律一致^[29],可能在离子的长距离运输及再分配中起重要作用。

外源性过氧化氢(H_2O_2)、高盐等非生物胁迫引起的氧化应激会导致活性氧(ROS)的产生,加剧氧



C: 叶绿体; cm: 细胞质膜。A. p35S-GFP 空载体表达蛋白质的烟草亚细胞定位; B. p35S-IbHKT-like-GFP 融合载体表达蛋白质的烟草亚细胞定位。

图 8 *IbHKT-like* 蛋白亚细胞定位结果

Fig.8 Subcellular localization of *IbHKT-like* protein

化应激损害,植物常常通过不同代谢途径来清除 ROS 带来的伤害^[30-31]。在拟南芥中过表达 *AtHKT1*; *1* 能减少叶中 Na^+ 含量,保护光合器官免受伤害^[32]; 同样的, *TaHKT1*; *5-D* 在根中介导 Na^+ 从木质部中的卸载,且限制 Na^+ 从根到叶的转运,从而降低植株地上部 Na^+ 的含量以保护叶片免受盐胁迫^[33-34]。在低钾胁迫下, *HvHKT2*; *1* 在 K^+ 吸收或再吸收过程中发挥作用,保持细胞 Na^+/K^+ 平衡,从而维持植株正常生长发育^[35]; 小花碱茅 *PutHKT1*; *2* 在根中表达量最高^[11]。实时荧光定量 PCR 结果表明, *IbHKT-like* 基因受到低温、干旱、高盐 and H_2O_2 等多种胁迫诱导表达,推测 *IbHKT-like* 基因通过调节细胞离子稳态,提高甘薯的耐逆性,进而适应逆境。

本研究分析了甘薯钾离子转运体 *IbHKT-like* 蛋白序列信息,发现其有 2 个 TrkH 保守结构域,10 个跨膜片段。*IbHKT-like* 蛋白与旋花科的矮牵牛 *InHKT6* 氨基酸序列十分相似。*IbHKT-like* 蛋白主要定位在细胞质膜上。组织特异性分析结果表明, *IbHKT-like* 基因在叶中表达量最高。实时荧光定量 PCR 结果显示, *IbHKT-like* 基因受到低温、干旱、高盐及过氧化氢诱导表达,说明 *IbHKT-like* 基因在抵御非生物胁迫中发挥着重要的作用。本研究为下一步研究甘薯 *IbHKT-like* 基因在非生物胁迫下的功能及调控机理奠定了基础。

参考文献:

- [1] ROMHELD V, KIRKBY E A. Research on potassium in agriculture: needs and prospects [J]. *Plant and Soil*, 2010, 335 (1/2): 155-180.
- [2] DURELL S R, GUY H R. Structural models of the KtrB, TrkH, and TrkI, 2 symporters based on the structure of the KcsA K^+ Channel [J]. *Biophysical Journal*, 1999, 77(2): 789-807.
- [3] WATERS S, GILLIHAM M, HRMOVA M. Plant high-affinity potassium (HKT) transporters involved in salinity tolerance: structural insights to probe differences in ion selectivity [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(4): 7660-7680.
- [4] BAXTER I, BRAZELTON J N, YU D, et al. A coastal cline in sodium accumulation in *Arabidopsis thaliana* is driven by natural variation of the sodium transporter *AtHKT1*; *1* [J]. *PLoS Genetics*, 2010, 6(11): e1001193.
- [5] JANE D R, ALICIA M M, DEEPA J, et al. The Na^+ transporter *AtHKT1*; *1* controls retrieval of Na^+ from the xylem in *Arabidopsis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2007, 30(4): 497-507.
- [6] COTSFTIS O, PLETT D, SHIRLEY N, et al. A two-staged model of Na^+ exclusion in rice explained by 3D modeling of HKT transporters and alternative splicing [J]. *PLoS One*, 2017, 7(7): e39865.
- [7] 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.
- [8] MUNNS R, JAMES R A, XU B, et al. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na^+ transporter gene [J]. *Nature Biotechnology*; The Science and Business of Biotechnology, 2012,

- 30(4):360-364.
- [9] SIOBHAN B C, DAMIEN P J, WOLFGANG S, et al. *HKT1*;5-like cation transporters linked to Na^+ exclusion loci in wheat, *Nax2* and *Kna1* [J]. Plant Physiology, 2007, 143(4):1918-1928.
- [10] 李 剑, 张金林, 王锁民, 等. 小花碱茅 *HKT2*;1 基因全长 cDNA 的克隆与生物信息学分析 [J]. 草业学报, 2013, 22(2):140-149.
- [11] 李 剑, 张金林. 拒盐型牧草小花碱茅 *PutHKT2*;1 基因表达模式分析 [J]. 草业科学, 2012, 29(9):1379-1383.
- [12] 胥 猛, 孙子谋, 刘思安, 等. 胡杨耐盐基因 *PeuHKT1* 的克隆与表达分析 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(9):2312-2318.
- [13] SCHACHTMAN D P, SCHROEDER J I. Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants [J]. Nature, 1994, 370(6491):655-658.
- [14] 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.
- [15] GARCIADÉBLAS B, SENN M E, BAÑUELOS M A, et al. Sodium transport and HKT transporters: the rice model [J]. The Plant Journal, 2003, 34(6):788-801.
- [16] 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.
- [17] 陆 潭, 陈华涛, 沈振国, 等. 植物钾通道与钾转运体研究进展 [J]. 华北农学报, 2019, 34(增刊1):372-379.
- [18] 李 平, 冯紫洲, 陈永胜, 等. 植物 HKT 转运蛋白基因的研究进展 [J]. 北方园艺, 2016(10):188-193.
- [19] PARK S, YU Y, KOU M, et al. Ipomoea batatas HKT1 transporter homolog mediates K^+ and Na^+ uptake in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, 16(10):2168-2176.
- [20] 靳 容, 胡亚亚, 张爱君, 等. 甘薯钾离子转运蛋白 *HKT* 基因家族鉴定及其低钾胁迫下的表达模式分析 [J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 2020, 38(1):31-36.
- [21] SASSI A, MIEULET D, KHAN I, et al. The rice monovalent cation transporter *OshKT2*;4: revisited ionic selectivity [J]. Plant Physiology, 2012, 160(1):498-510.
- [22] VÉRY A A, MANUEL N C, DALY M, et al. Molecular biology of K^+ transport across the plant cell membrane: what do we learn from comparison between plant species? [J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(9):748-769.
- [23] DURELL S R, HAO Y, NAKAMURA T, et al. Evolutionary relationship between K^+ channels and symporters [J]. Biophysical Journal, 1999, 77(2):775-788.
- [24] LI H Y, XU G Z, YANG C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of HKT transcription factor under salt stress in nine plant species [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 171:435-442.
- [25] CAO Y, LIANG X, PAN Y, et al. A domestication-associated reduction in K^+ -preferring HKT transporter activity underlies maize shoot K^+ accumulation and salt tolerance [J]. The New Phytologist, 2019, 222(1):301-317.
- [26] BOHM J, SCHERZER S, SHABALA S, et al. Venus flytrap HKT1-type channel provides for prey sodium uptake into carnivorous plant without conflicting with electrical excitability [J]. Molecular Plant, 2016, 9(3):428-436.
- [27] 陈华涛, 陈 新, 顾和平, 等. 大豆 *GmHKT6*;2 基因的克隆与表达特性分析 [J]. 华北农学报, 2012, 27(3):1-5.
- [28] LAURIE S, FEENEY K A, MAATHUIS F J M, et al. A role for *HKT1* in sodium uptake by wheat roots [J]. The Plant Journal, 2002, 32(2):139-149.
- [29] 崔立新, 和亚男, 李亚萍, 等. 水稻 *OsHKT* 基因表达模式分析 [J]. 中国水稻科学, 2017, 31(6):559-567.
- [30] 徐 海, 宋 波, 顾宗福, 等. 植物耐热机理研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2020, 36(1):243-250.
- [31] 王 宏, 马 娜, 蔺 经, 等. 4 个早熟梨品种叶片对黑斑病的抗病性评价及与抗氧化酶的关系 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47(2):80-82.
- [32] AN D, CHEN J G, GAO Y Q, et al. *AtHKT1* drives adaptation of *Arabidopsis thaliana* to salinity by reducing floral sodium content [J]. PLoS Genetics, 2017, 13(10):e100706.
- [33] BORJIGIN C, SCHILLING R K, BOSE J, et al. A single nucleotide substitution in *TaHKT1*;5-D controls shoot Na^+ accumulation in bread wheat [J]. Plant, Cell & Environment, 2020, 43(9):2158-2171.
- [34] SIOBHAN B C, BO X, MAHIMA K, et al. The Na^+ transporter, *TaHKT1*;5-D, limits shoot Na^+ accumulation in bread wheat [J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2014, 80(3):516-526.
- [35] ROSARIO H, BAÑUELOS M A, SENN M E, et al. *HKT1* mediates sodium uniport in roots. Pitfalls in the expression of *HKT1* in yeast [J]. Plant Physiology, 2005, 139(3):1495-1506.

(责任编辑:陈海霞)