

联盟澳洲专家S Shabala：HKT1;5通过调节Na⁺/K⁺稳态传递Ca²⁺信号促植物耐盐

基本信息

主题：HKT1;5通过调节Na⁺/K⁺稳态传递Ca²⁺信号促植物耐盐

期刊：International Journal of Molecular Sciences

影响因子：4.556

标题：Changes in Expression Level of *OsHKT1;5* Alters Activity of Membrane Transporters Involved in K⁺ and Ca²⁺ Acquisition and Homeostasis in Salinized Rice Roots

作者：Sergey Shabala（塔斯马尼亚大学、佛山科学技术学院）、Mohammad Alnayef（塔斯马尼亚大学）

检测离子/分子指标

K⁺、Ca²⁺、Na⁺

检测样品

水稻及其近等基因系SKC1（NIL- SKC1）根伸长区（距根尖顶端1.2 mm根表上的点）、成熟区（距根尖顶端15 mm根表上的点）、木质部薄壁细胞

中文摘要（谷歌机翻）

有报道称*OsHKT1;5*基因是水稻耐盐的关键决定因素。该基因由SKC1基因座携带，其作用归因于木质部Na⁺的卸载。但是没有直接的证据能证明这个观点。此外，SKC1在向地上部分装载和运输K⁺方面还有待解释。本研究采用非损伤微测技术（MIFE）比较了野生型（WT）和NIL（SKC1）植物根木质部薄壁细胞Na⁺的吸收动力学。研究数据表明，在WT中观察到Na⁺的重吸收，而在NIL（SKC1）中没有该现象，从而研究质疑了HKT1;5作为转运体在木质部直接清除Na⁺中的功能作用。相反，HKT1;5表达水平的改变了水稻表皮和中柱中K⁺和Ca²⁺吸收及稳态

相关的膜转运蛋白的活性，从而解释了观察到的表型。本研究的结论是，*HKT1;5*在植物耐盐性中的作用不能仅仅归因于降低木质部汁液中 Na^+ 的浓度，而是触发了在胁迫条件下参与维持植物离子稳态和信号传递的其他转运蛋白活性的复杂反馈调节。

离子/分子流实验处理

80 mM NaCl或10 mM H_2O_2 实时处理

离子/分子流实验结果

研究采用非损伤微测技术（MIFE），测定了NIL (*SKC1*) 水稻木质部薄壁组织的 Na^+ 流速。当向WT植株根中柱施加80 mM NaCl（模拟木质部汁液 Na^+ 浓度的增加）时，可测出强烈而持续的 Na^+ 吸收（图1A, C）。从功能上讲，这种吸收与根系木质部（通过*HKT1;5*或其他转运系统）对 Na^+ 的重吸收是一致的。然而，在NIL (*SKC1*) 中，这种吸收是不存在的。相反，KD株系的木质部薄壁细胞对 Na^+ 的吸收甚至比WT系略高（图1A, C）。

然后研究检测了NaCl处理对 K^+ 跨根木质部薄壁细胞质膜转运的影响（图1B, D），结果发现NaCl处理会导致三个株系都产生一个瞬时的 K^+ 外排。从功能上看，在植物体内，这相当于NaCl诱导的 K^+ 向蒸腾流中的装载。 K^+ 外排速率的大小为NIL (*SKC1*) > WT > KD。

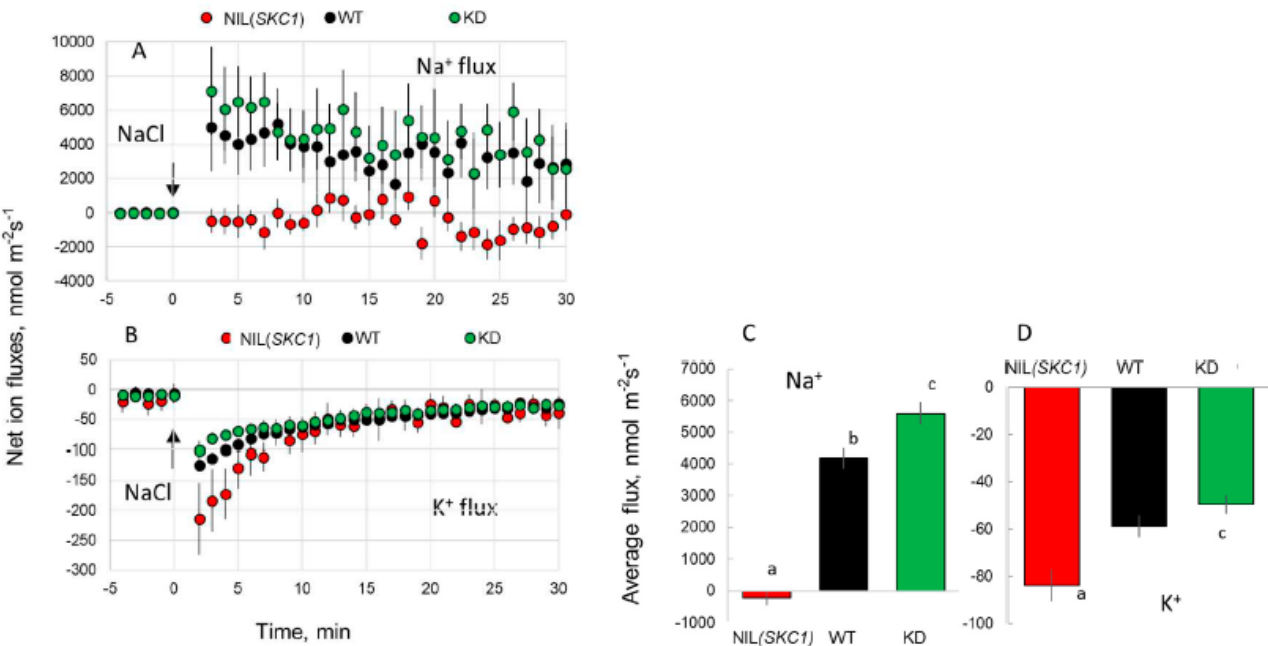


图1. 80 mM NaCl实时处理下木质部薄壁细胞的 Na^+ 和 K^+ 流速。（A, B）NIL (*SKC1*)、WT和*Oshkt1;5* (4A-02764) 敲除株系 (KD) 瞬时 Na^+ (A) 和 K^+ (B) 流速。（C, D） Na^+ 和 K^+ 流速的平均值。**请注意，此图正值表示吸收，负值表示外排。**

然后研究想知道改变 *HKT1;5*

表达是否会影

响根表皮膜转运蛋白的功能活性。研究首先比较了三个株系根表皮 Na^+ 的吸收模式（图2A, B）。结果发现 Na^+ 吸收的大小为 NIL (*SKC1*) > WT > KD，表明薄壁细胞的 *HKT1;5* 表达水平的变化强烈影响根表皮对 Na^+ 的吸收。

NaCl 诱导的根表皮细胞 K^+ 损失大小为：NIL (*SKC1*) > WT > KD（图2C-E）。在两个根区都观察到这种变化。与成熟区（MZ）相比，伸长区（EZ）的 K^+ 损失要强得多。

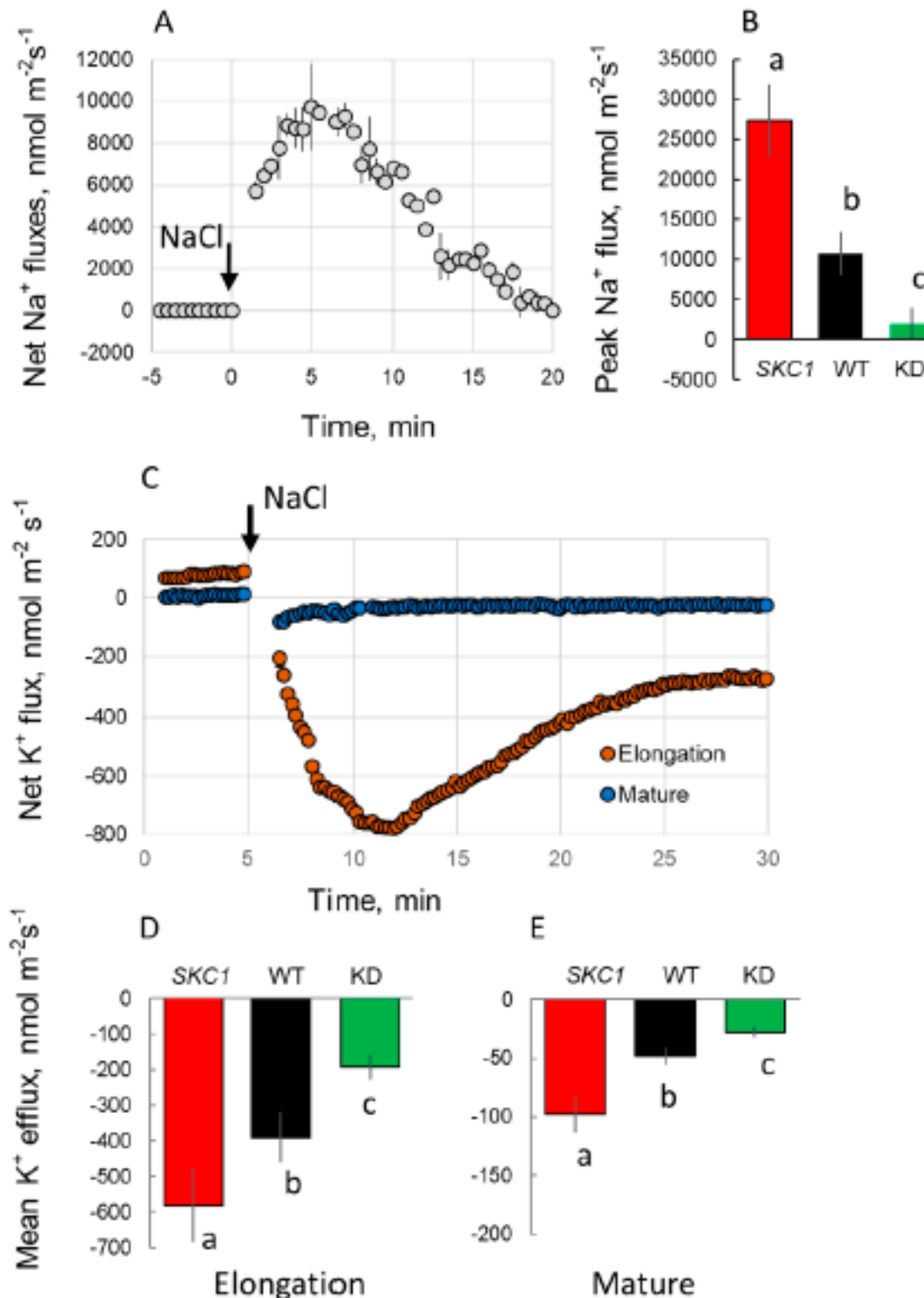


图2. 不同根区的根表皮细胞在80 mM NaCl实时处理下Na⁺和K⁺流速。(A) WT植株伸长区瞬时Na⁺流速。(B) NIL (*SKC1*)、WT和 *Oshkt1,5* (4A-0.2764) 敲除 (KD) 株系在伸长区测得的Na⁺吸收峰值。(C) WT植株根伸长区和成熟区瞬时K⁺流速。(D, E) 分别为NIL (*SKC1*)、WT和 *Oshkt1,5*植株根伸长区和成熟根区胁迫后30 min内的K⁺流速。**请注意，此图正值表示吸收，负值表示外排。**

Na⁺/H⁺

交换体的运行

受SOS途径的控制，这一过

程的关键步骤是盐胁迫引起的胞质游离Ca²⁺含量增加。胞浆Ca²⁺

的这种变化对于调节NADPH氧化酶的运作也是必不可少的，它通过促发性ROS的产生影响阳离子通道的活性。因此，研究比较了上述水稻 *HKT1;5* 株系中NaCl诱导的Ca²⁺

流速变化 (图3)。实时NaCl处理会引起短暂

的Ca²⁺

外流，然而，这种反应在EZ中更

强烈，在瞬态反应结束后，Ca²⁺

流速值仍然为负，表明有一些主动的Ca²⁺外排系统参与其中。Ca²⁺

外排顺序是NIL (*SKC1*) < WT < KD，这表明 *HKT1;5* 在NIL (*SKC1*

) 的过度表达损害了其中一个Ca²⁺外排系统 (Ca²⁺-ATPase或CAX交换器) 的运行。

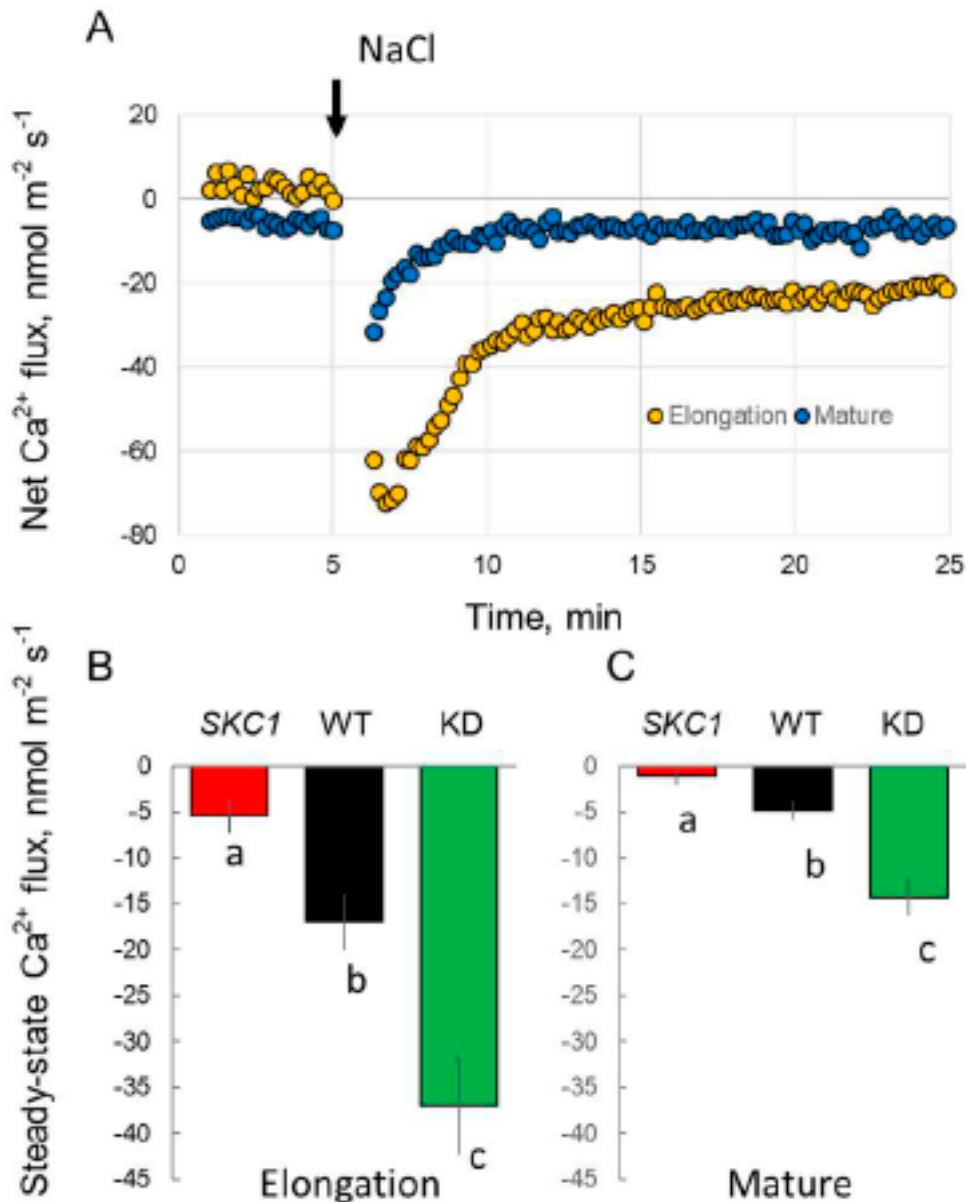


图3. 不同根区的根表皮细胞在80 mM NaCl实时处理下 Ca^{2+} 流速。(A) WT植株根伸长区和成熟区的瞬时 Ca^{2+} 流速。(B, C) NIL (*SKC1*)、WT和*Oshkt1,5*植株根的伸长区和成熟根区在胁迫后30 min内的 Ca^{2+} 流速平均值。**请注意，此图正值表示吸收，负值表示外排。**

H_2O_2 在阳离子渗透通道对 H_2O_2 的盐度适应性响应和敏感性中起重要作用。因此，研究比较了 H_2O_2 诱导的三种基因型根表皮 Ca^{2+} 流速的大小（图4）。与之前的研究结果类似， H_2O_2 诱导了瞬时 Ca^{2+} 内流，大小为 $\text{KD} > \text{WT} > \text{NIL} (\text{SKC1})$ 。因此，在NIL (*SKC1*)中过表达*HKT1;5*，降低了 Ca^{2+} 渗透阳离子通道对 H_2O_2 的敏感性，可能影响植物感知和响应盐胁迫的能力。

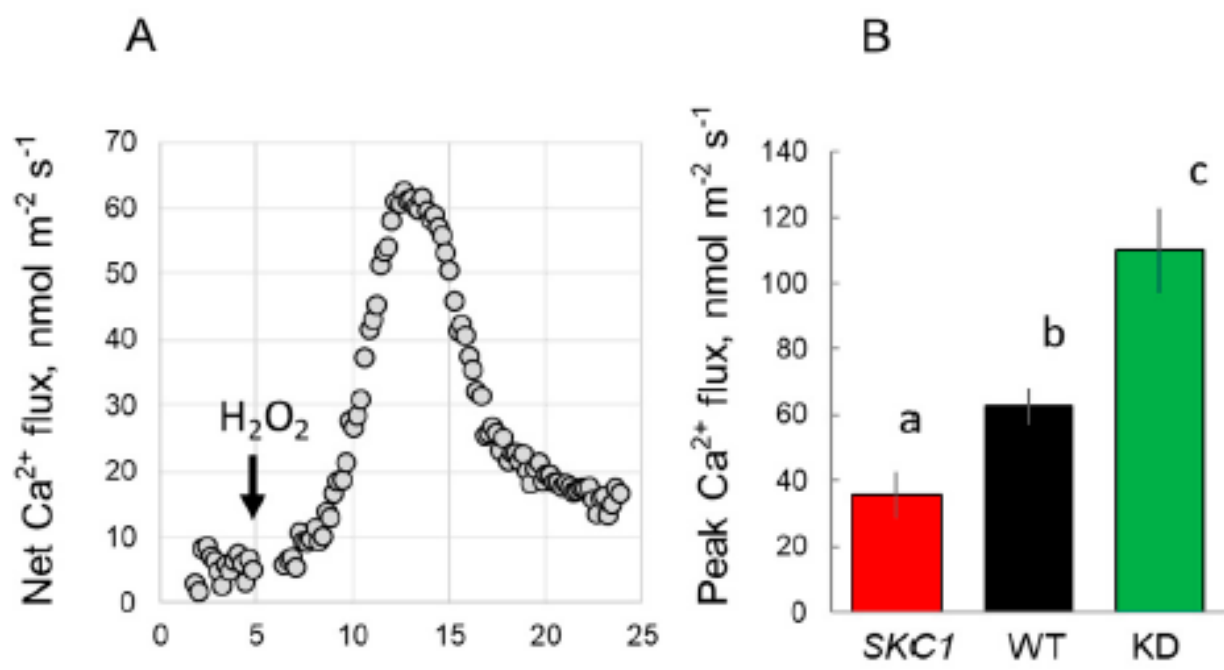


图4. 10 mM H_2O_2 处理下水稻根系伸长区 Ca^{2+} 流速。(A) WT的根伸长区瞬时 Ca^{2+} 流速。(B) NIL (*SKC1*)、WT和*Oshkt1,5* (KD) 根表皮细胞 Ca^{2+} 流速峰值。**请注意，此图正值表示吸收，负值表示外排。**

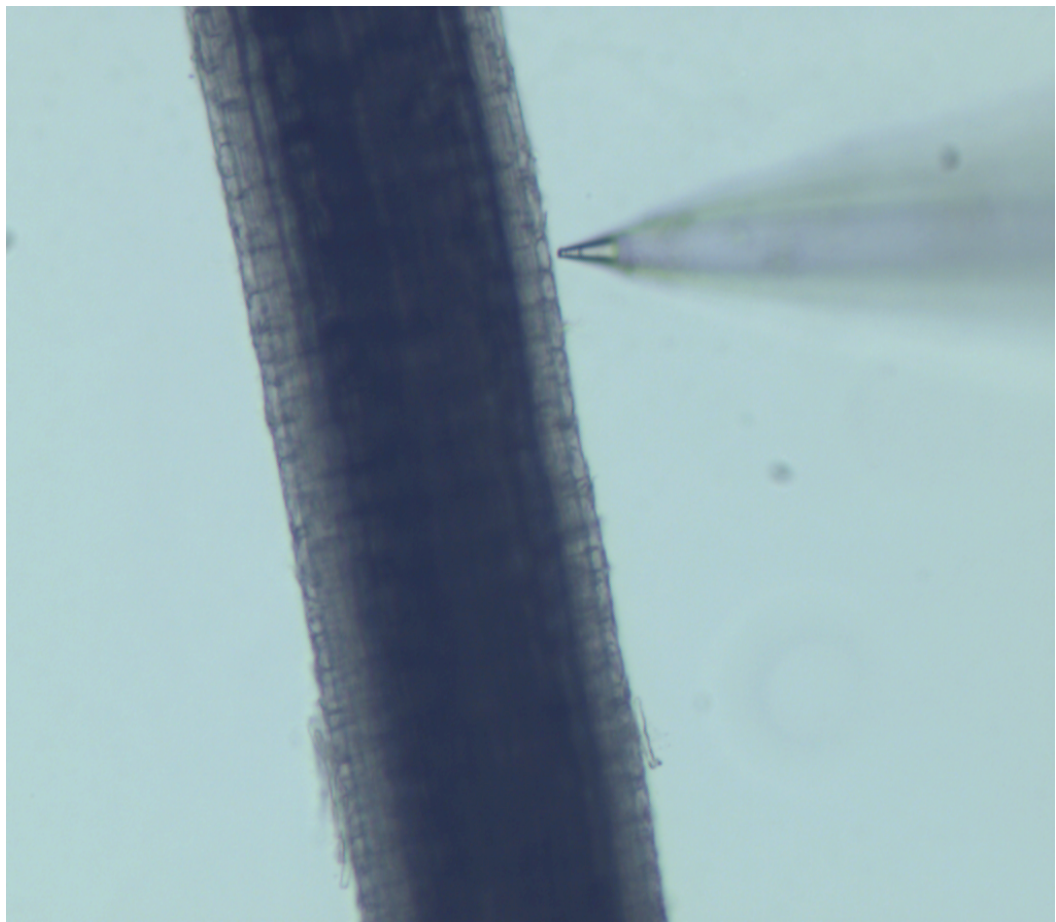


图5. 水稻根伸长区 Ca^{2+} 流速检测图

其他实验结果

- NIL (*SKC1*) 在伸长区和成熟根区 *HKT1;5* 的表达量均显著高于 WT，并且 *HKT1;5* 的转录水平随着盐度的升高而显著上调。
- 80 mM NaCl 处理 1 周后，NIL (*SKC1*) 株系表现出较为敏感的表型，与 WT 相比，叶片褪绿坏死比例较大，相对地上部和根系干重显著降低。
- NIL (*SKC1*) 植物在盐条件下积累了较多的 K^+ ，但也有较多的 Na^+ 。后者的结果显然与 *SKC1* 可以去除地上部分 Na^+ 的作用不符。
- 研究比较了 WT 和 *SKC1* 植物根系中影响植物离子稳态的一些关键基因表达水平的变化。多个转运蛋白基因的表达水平存在显著差异；这种差异也表现出强烈的时间依赖性和组织依赖性（例如，在伸长区和成熟根区有不同的响应模式）。特别是，NIL (*SKC1*) 在对照和盐胁迫下 *RBOH* 转录本的表达均有所降低（在两个根区），而 *RBOHD* 在伸长区表达量要高得多。此外，与 WT 相比，在盐胁迫下，NIL (*SKC1*) 的 *GORK* 表达降低，而 *RBOHD* 转录本的表达增加。此外，两个根区的 *SOS1* 转录水平都较低。

结论

总的来说本研究结果表明，由于生物体内存在多种反馈回路，利用突变体植物获得的结果应该非常谨慎地对待，不能作为有关特定基因作用的机理证据。此外，转录分析和 GUS 染色可能具有误导性，提供的关于特定转运蛋白运作/功能的信息不完全。因此，需要更加重视植物体的功能检测。

测试液

0.2 mM NaCl, 0.1 mM $CaCl_2$, 0.2 mM KCl, pH 5.5

仪器采购信息

- 据中关村 NMT 产业联盟了解，佛山科学技术学院于 2018 年采购了旭月公司的非损伤微测系统。

文章原文：<https://doi.org/10.3390/ijms21144882>

(唯一的)问答 ID: #1282

作者: xuyuenmt

更新时间: 2022-07-05 10:18