



烟草 *NtNHX1-3* 基因的克隆及表达特性

高玉龙, 宋中邦, 李梅云, 李文正, 王丙武, 李永平

(云南省烟草农业科学研究院, 烟草行业烟草生物技术育种重点实验室, 国家烟草基因工程研究中心, 昆明 650021)

摘要: 以栽培烟草‘云烟 87’为材料, 通过同源克隆方法分离了烟草 *NHX* (Na^+ , K^+/H^+ exchanger) 基因 *NtNHX1-3*。结果表明: *NtNHX1-3* 基因 CDS 长度 1 617 bp, 编码蛋白质长度为 538 aa, 蛋白理论等电点为 8.67, 分子量为 59.34 kD。预测 *NtNHX1-3* 属于膜蛋白, 含有 11 个跨膜区, 且含有 *NHX* 类蛋白保守位点氨基吡嗪咪结合位点。进化树分析显示, *NtNHX1-3* 与菊苣、野菊花 *NHX* 遗传距离最近。qRT-PCR 组织特异性表达分析表明, *NtNHX1-3* 在烟草叶片中表达量最高, 根、茎、花中也有表达; 盐胁迫处理后 *NtNHX1-3* 基因的表达上调, 表明该基因参与了盐胁迫反应; 打顶初期 *NtNHX1-3* 基因的表达呈逐渐上调的趋势, 与该时期钾含量逐渐升高相吻合。研究推测, *NtNHX1-3* 具有将钾离子从细胞质转运至液泡的功能。

关键词: 烟草; *NtNHX1-3* 基因; 克隆; 表达特性

中图分类号: Q785; Q786; S572

文献标志码: A

Cloning and Expression Characteristics of Tobacco *NtNHX1-3* Gene

GAO Yulong, SONG Zhongbang, LI Meiyun, LI Wenzheng,

WANG Bingwu, LI Yongping

(Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tobacco Biotechnological Breeding, National Tobacco Genetic Engineering Research Center, Kunming 650021, China)

Abstract: The *NtNHX1-3* gene was successfully isolated by homologous cloning from cultivated tobacco. The CDS length of *NtNHX1-3* was 1 617 bp, and it was predicted to encode a 538-amino acid protein. The theoretical isoelectric point of *NtNHX1-3* protein was 8.67, and the molecular weight was 59.34 kD. The bioinformation analysis of *NtNHX1-3* showed that it belonged to membrane protein containing 11 trans-membrane regions, and had a conserved amiloride binding-site specific to *NHX* protein. The phylogenetic tree analysis showed that *NtNHX1-3* shared the same group with *NHX* from chicory and chrysanthemum. Tissue-specific expression analysis indicated that *NtNHX1-3* was ubiquitously expressed in roots, stems, leaves and flowers, whereas had the highest level in leaves. The expression of *NtNHX1-3* was up-regulated after salt treatment, indicating that it was involved in salt stress response. The expression of *NtNHX1-3* was up-regulated in the early stage of topping, which was consistent with the increase of potassium content in this stage. Therefore, it was speculated that *NtNHX1-3* could transport potassium ions from cytoplasm to vacuole.

Key words: tobacco; *NtNHX1-3* gene; cloning; expression characteristics

植物 *NHX* (Na^+ , K^+/H^+ exchanger) 是植物细胞重要的跨膜离子转运蛋白, 在建立和维持细胞内

离子及 pH 梯度中发挥重要的功能^[1]。NHX 反向转运蛋白主要负责单价阳离子/ H^+ 逆向转运,有助于细胞内 Na^+ 和 K^+ 的动态平衡^[2]。NHX 蛋白将一价阳离子 Na^+ 或 K^+ 从胞质转移到液泡中,同时将 H^+ 转运到细胞质,这个过程还需要 H^+ 移位酶、 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 参与^[3]。

NHXs 普遍存在于所有真核生物中,在植物抵抗非生物和生物胁迫中起着重要作用,如提高耐盐^[4-5]、耐冷^[6]、抗干旱^[7]及抗病性^[8]等能力。NHX 耐盐性研究最为广泛,过表达拟南芥 *AtNHX1* 基因^[5]、绿豆 *VrNHX1* 基因^[9]、小麦 *TaNHX2* 基因^[4],均可提高转基因植株的耐盐性。*NHX* 基因过表达可以在液泡中分配更多的 Na^+ 被认为是 NHX 蛋白增加植物耐盐性的生理机制^[10]。在番茄中过表达 *AtNHX1* 可以显著提高番茄钾离子含量及耐盐性^[11],在落花生^[12]、柳枝稷^[13]、菊花^[14]中也获得同样的结果。

烟草是中国重要的经济作物,烟叶品质是决定烟叶价格的重要因素。钾被认为是烟草的品质元素,钾含量是评价烟叶品质优劣的重要指标之一。烟叶钾含量提高可以改善烟叶的组织结构,使烟叶结构细腻,而且还能提高烟叶外观色泽,使烟叶呈深橘黄色,香气足,吃味好,富有弹性和韧性,填充性增强。钾还可以增强烟叶糖类、色素类、芳香类物质的合成积累。另外,中国土壤盐渍化日益加重,培育耐盐渍化烟草品种可以增加烟草种植面积。所以克隆烟草 *NHX1* 基因并研究其生理功能对烟叶生产意义重大。

1 材料和方法

1.1 试验材料及处理

本研究所用材料为‘云烟 87’。开花期取根、茎、叶、花后液氮速冻并于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于 qRT-PCR 分析 *NtNHX1-3* 的组织特异性表达情况。温室种植‘云烟 87’,按每株 5 g 纯氮施入烟草专用复合肥(氮:磷:钾=10:10:15),分 5 次施入。打顶后 0、8、24、48、72 和 96 h 取中部叶片(第 9 叶位)液氮速冻,于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存并用于 qRT-PCR 分析 *NtNHX1-3* 在打顶后的表达变化。对 5~6 片叶的‘云烟 87’烟苗进行盐胁迫处理,在小花盆中每株施用 100 mmol/L NaCl 500 mL,处理后 0、1、3、6、12 和 24 h 取叶片液氮速冻并保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,用于 qRT-PCR 分析 *NtNHX1-3* 基因在盐胁迫后的表达情况。

1.2 方 法

1.2.1 总 RNA 提取及 cDNA 合成 按照试剂盒 RNAiso Plus(Takara)的操作说明,提取各材料的总 RNA。由微量紫外检测仪 Nano-Drop 检测 RNA 浓度。利用 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time, TaKaRa)将提取的 RNA 反转录成 cDNA。

1.2.2 基因克隆 拟南芥 *AtNHX1*(NP_198067)蛋白提交 NCBI 烟草数据库,利用 Tblastn 程序进行搜索,获得烟草 *NHX1* 基因同源序列。根据获得的烟草同源序列,设计扩增全长 CDS 序列引物 F(ATGGCTTTCGACATTGGGATG)和 R(TTA-ATGATCACTTGGTTTCAGT)。以‘云烟 87’叶片 cDNA 为模板克隆目的基因,反应在 Mastercycler® pro 扩增仪上进行,反应总体积 50 μL ,包括 200 ng cDNA,5 $\times$ Phusion HF 反应缓冲液 10 μL ,10 mmol/L dNTP 1 μL ,2U 的 Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase,10 $\mu\text{mol/L}$ 正反向引物各 1 μL ,补水至 50 μL 。扩增程序为:98 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;98 $^{\circ}\text{C}$ 7 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶分离后回收测序。

1.2.3 生物信息学分析 利用在线工具 ExPASy(http://web.expasy.org/compute_pi/)分析推测的蛋白理论等电点、分子量等。wolf pSORT(<http://www.genscript.com/wolf-psort.html>)预测亚细胞定位。TMPred(http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)分析跨膜区。SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)软件预测蛋白的二级结构。ClustalX 软件对蛋白质序列进行多序列比对,然后用软件 MEGA6 构建进化树。

1.2.4 qRT-PCR 分析 根据克隆的基因序列设计 qRT-PCR 引物 PN3-QF(GGTCGGTCATTGTGGAGG)和 PN3-QR(CGAGAGTTCTTCCCACACT)。以烟草 *Actin* 基因作为内参,引物为 *Actin*-F(CTGAGGTCCTTTTCCAACCA)和 *Actin*-R(TACCCGGAACATGGTAGAG)。以 cDNA 为模板进行荧光定量 PCR,反应在 Roche LightCycler 480 上利用 LightCycler 480 SYBR Green I master 进行,20 μL 体系含有 10 μL LightCycler 480 SYBR Green I master(2 $\times$),正反引物各 1 μL (10 $\mu\text{mol/L}$),cDNA 1 μL (反转录产物稀释 4 倍),7 μL 灭菌蒸馏水。反应程序如下:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95

℃变性 20 s,60 ℃退火 15 s,72 ℃延伸 15 s,45 个循环。荧光定量 PCR 结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 *NtNHX1-3* 基因的相对表达量。每个处理设 3 个生物学重复,由 Excel 软件绘制柱状图。

2 结果与分析

2.1 *NtNHX1-3* 基因克隆 为了克隆烟草 *NHX1* 基因,将拟南芥 *AtNHX1* (NP_198067) 蛋白提交 NCBI 烟草测序数据库进行 BLAST 搜索,获得 2 条烟草 *NHX1* 同源序列,其中一条 *NtNHX1-1* 本课题组已发表^[15],另一条命名为 *NtNHX1-3*。依此序列设计扩增全长 CDS 引物(F: ATGGCTTTCGA-CATTGGGATG ; R: TTAATGATCACTTGGT-TCAGT),通过 PCR 扩增获得1 617 bp 的片段(图 1)。回收并测序,结果与 NCBI 数据库中的序列 100%一致,其编码蛋白质长度为 538 aa。序列分析表明,*NtNHX1-3* 编码蛋白含有 NHX 类蛋白保守位点,即氨氯吡嗪咪结合位点 (LFFIYLLPPI) (图 2),该位点被认为是结合和转运 Na^+ 的区域。多序列比对显示, *NtNHX1-3* 蛋白序列与拟南芥 *NtNHX1* 相似性为 85%(图 2)。

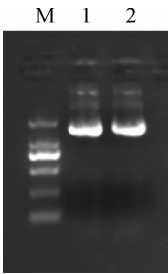


图 1 *NtNHX1-3* 的 PCR 扩增

Fig.1 PCR amplification of *NtNHX1-3*

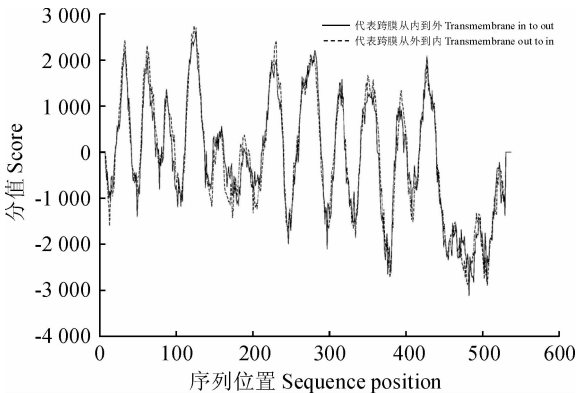


图 3 *NtNHX1-3* 蛋白跨膜区预测

Fig.3 Transmembrane region prediction of *NtNHX1-3*

2.2 生物信息学分析

利用在线工具 ExPASy 预测 *NtNHX1-3* 蛋白的理论等电点为 8.67,分子量为 59.34 kD。wolf pSORT 预测 *NtNHX1-3* 属于膜蛋白,TMpred 分析 *NtNHX1-3* 具有 11 个跨膜区(图 3)。二级结构预测 *NtNHX1-3* 含有 45.54%的 α 螺旋,19.33%的 β 折叠,29.18%的无规则卷曲,5.95%的 β 转角。

NtNHX1-3 与拟南芥、棉花、鹰嘴豆、番茄、小麦、菊苣、野菊花等 NHX 蛋白序列构建进化树(图 4),烟草 *NtNHX1-3* 与菊苣、野菊花 NHX 遗传距离最近,而与同是茄科的番茄 NHX 遗传距离较远,可见 *NtNHX1-3* 在物种间变异较大,进化速度较快。

2.3 *NtNHX1-3* 基因组织表达特性分析

qRT-PCR 对 *NtNHX1-3* 基因在烟草开花期根、茎、叶、花中的表达情况进行了分析,结果表明(图 5),该基因在叶片中表达量最高,根、茎、花中也有表达。表明该基因组织特异性特点不明显,可能在各个组织中都发挥功能。

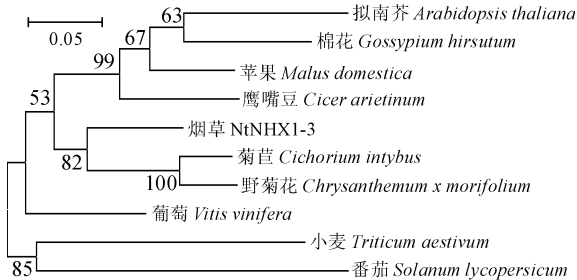


图 4 *NtNHX1-3* 蛋白与其他物种 NHX1 蛋白序列的进化树

Fig.4 Phylogenetic tree analysis of *NtNHX1-3* and NHX1 from other plants

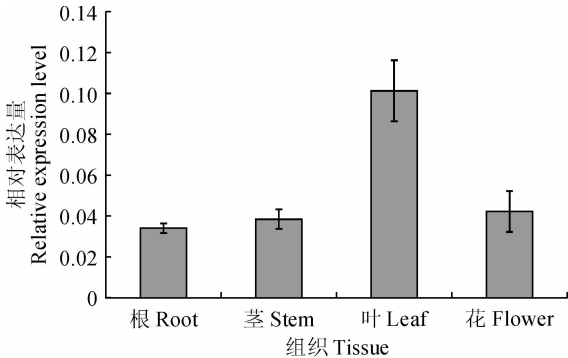
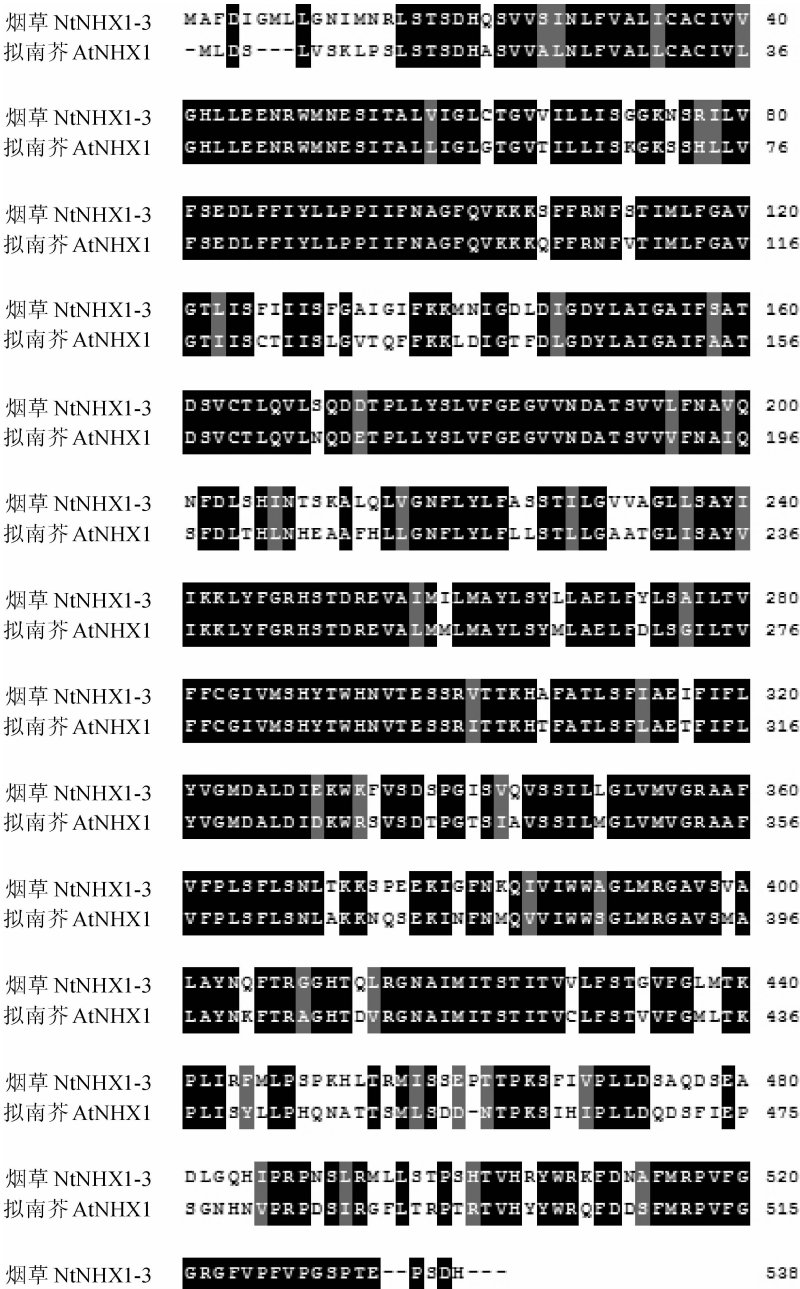


图 5 *NtNHX1-3* 组织特异性表达分析

Fig.5 Tissue-specific expression analysis of *NtNHX1-3*



方框所示为氨氯吡啶结合位点

图 2 烟草 *NtNHX1-3* 蛋白序列与拟南芥 *AtNHX1* 多序列比对

Box indicated amiloride binding-site

Fig. 2 Sequence alignment of the deduced amino acid of *NtNHX1-3* and *AtNHX1*

2.4 *NtNHX1-3* 基因在盐胁迫条件下的表达分析

文献报道 *NHX1* 基因在植物耐盐胁迫中起着重要作用。为了初步研究 *NtNHX1-3* 基因是否在盐胁迫中发挥功能,利用 100 mmol/L NaCl 处理烟苗,处理后不同时间点取样分析 *NtNHX1-3* 基因的表达变化。结果表明(图 6),NaCl 处理后 3 h *NtNHX1-3* 基因的表达开始提高,6 h 达到最高峰,12 h 和 24 h 下降到处理前水平。推测 *NtNHX1-3* 基因在烟草抵御盐胁迫的初期发挥功能。

2.5 打顶后 *NtNHX1-3* 基因表达特性

打顶后烟草叶片钾含量总体呈下降趋势^[16],但也有研究报道钾含量呈先上升后下降的趋势^[17]。作者研究表明烤烟推广品种‘云烟 87’及‘K326’叶片钾含量在打顶后先上升,到 20 d 左右达最高值,然后急剧下降到低于打顶前的水平。该研究对打顶后 0~96 h 内 *NtNHX1-3* 基因的表达进行了分析,该基因的表达在打顶后呈逐渐上调的趋势(图 7)。该基因负责钾离子从细胞质向液泡的转运,打顶初

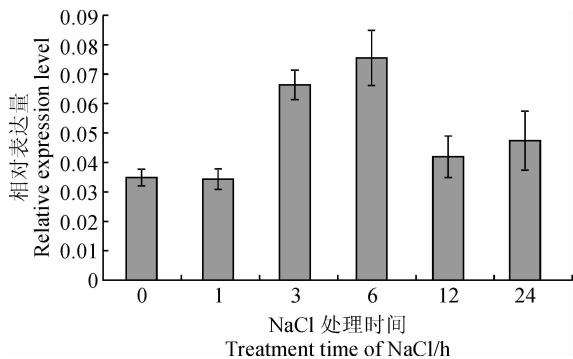


图 6 *NtNHX1-3* 盐胁迫处理后的表达分析
Fig. 6 Expression of *NtNHX1-3* after treatment by NaCl

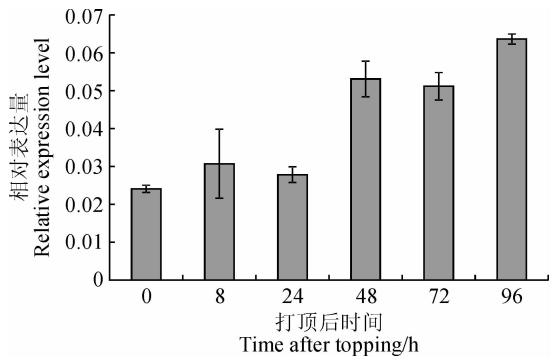


图 7 *NtNHX1-3* 打顶后表达分析

Fig. 7 Expression of *NtNHX1-3* after topping

期 *NtNHX1-3* 基因表达上调,增加了钾离子向液泡的转运和储存,从而使叶片钾离子含量升高。

3 讨论

植物 NHXs 属于单价阳离子/ H^+ 转运体家族,而且普遍存在于所有真核生物中。在拟南芥基因组中鉴定了 8 个 NHX 蛋白,根据亚细胞分布分为 3 类:*AtNHX1-4* 为液泡 NHX,*NHX5-6* 为内膜 NHX,

NHX7-8 为质膜 NHX^[2,18-20]。*NHX1* 属于液泡膜 $Na^+, K^+ / H^+$ 反向转运体,定位于液泡膜,主要负责将 Na^+ 和 K^+ 从细胞质泵入液泡,同时将 H^+ 从液泡泵入细胞质以维持离子电荷平衡^[11,21]。

NHX1 在植物抵抗盐胁迫反应中发挥重要功能。*NHX1* 的耐盐性首先是在过表达拟南芥 *AtNHX1* 后发现的,过表达 *AtNHX1* 植株细胞内过多的 Na^+ 可以被转移到液泡内,从而使细胞质 Na^+ 可以维持在一个适宜的含量水平。随后过表达 *NHX1* 的相关研究^[22-24] 及耐盐植物品种中 *NHX1* 基因的表达分析^[25-26] 证实了 *NHX1* 转运体在耐盐中的重要功能。除了增强耐盐性,*NHX1* 在植物生长发育过程中维持 K^+ 平衡方面也发挥重要功能。由于 K^+ 是许多酶的辅助因子,所以 *NHX1* 对植物的正常发育是必须的。拟南芥 *nhx1* 突变体细胞变小、植株变矮,*nhx2* 突变体没有明显的表型变化,但是双突变植株 *nhx1nhx2* 细胞延伸、生长抑制效果相比 *nhx1* 更为显著,表明 *NHX1* 和 *NHX2* 间存在功能冗余和互补。双突变植株 *nhx1nhx2* 由于液泡钾离子含量减少,其叶片钾离子只有野生型的 $1/3$ ^[27]。

本课题组先前已报道了 1 个烟草 *NtNHX1-1* 基因^[15],*NtNHX1-1* 受 NaCl 处理诱导表达,表明 *NtNHX1-1* 在烟草耐盐方面发挥一定功能。本研究克隆了烟草的另 1 个 *NHX1* 基因 *NtNHX1-3*。NaCl 处理后早期 *NtNHX1-1* 的表达上升,推测其也参与了烟草的耐盐胁迫。另外,在烟草打顶初期该基因的表达逐渐上升,而烟草钾含量在这个时期也呈上升趋势,可能是由于 *NtNHX1-3* 基因表达提高后增加了液泡钾离子含量,从而提高了细胞及叶片的钾含量。后续将对烟草 *NtNHX1-3* 基因在耐盐性及提高钾含量方面的功能进行转基因鉴定。

参考文献:

[1] MARTINOIA E, MAESHIMA M, NEUHAUS H E. Vacuolar transporters and their essential role in plant metabolism [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58**(1): 83-102.

[2] CHANROJ S, WANG G, VENEMA K, *et al.* Conserved and diversified gene families of monovalent cation/ H^+ antiporters from algae to flowering plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, **3**(25): 25.

[3] BASSIL E, BLUMWALD E. The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/ H^+ transporters[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014, **22**: 1-6.

[4] ZHANG Y M, ZHANG H M, LIU Z H, *et al.* The wheat NHX antiporter gene TaNHX2 confers salt tolerance in transgenic alfalfa by increasing the retention capacity of intracellular potassium[J]. *Plant Molecular Biology*, 2015, **87** (3): 317-327.

[5] SAHOO D P, KUMAR S, MISHRA S, *et al.* Enhanced salinity tolerance in transgenic mungbean overexpressing Arabidopsis antiporter (*NHX1*) gene[J]. *Molecular Breeding*, 2016, **36**(10): 144.

[6] LI J, JIANG G, HUANG P, *et al.* Overexpression of the Na^+ / H^+ antiporter gene from *Suaeda salsa* confers cold and

salt tolerance to transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2007, **90**(1): 41-48.

[7] WANG B, ZHAI H, HE S, *et al.* A vacuolar Na⁺/H⁺, antiporter gene, IbNHX2, enhances salt and drought tolerance in transgenic sweet potato[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 201: 153-166.

[8] CHEN X Y, BAO H, GUO J, *et al.* Overexpression of SeNHX1 improves both salt tolerance and disease resistance in tobacco[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2015, 10: e993240.

[9] MISHRA S, BEHURA R, AWASTHI J P, *et al.* Ectopic overexpression of a mungbean vacuolar Na⁺/H⁺, antiporter gene (VrNHX1) leads to increased salinity stress tolerance in transgenic *Vigna unguiculata* L. Walp[J]. *Molecular Breeding*, 2014, **34**(3): 1 345-1 359.

[10] APSE M P, AHARON G S, SNEDDEN W A, *et al.* Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in Arabidopsis[J]. *Science*, 1999, 285: 1 256-1 258.

[11] LEIDI E O, BARRAGÁN V, RUBIO L, *et al.* The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato[J]. *Plant Journal*, 2010, **61**(3): 495-506.

[12] ASIF M A, ZAFAR Y, IQBAL J, *et al.* Enhanced expression of AtNHX1, in transgenic groundnut (*Arachis hypogaea* L.) improves salt and drought tolerance[J]. *Molecular Biotechnology*, 2011, **49**(3): 250-256.

[13] HUANG Y, GUAN C, LIU Y, *et al.* Enhanced growth performance and salinity tolerance in transgenic switchgrass via overexpressing vacuolar Na⁺ (K⁺)/H⁺ antiporter gene (PvNHX1)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 458.

[14] LIU Q L, Xu K D, ZHONG M, *et al.* Cloning and characterization of a novel vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene (Dgnhx1) from chrysanthemum [J]. *PloS One*, 2013, **8**(12): e83702.

[15] 焦芳婵, 宋中邦, 王丙武, 等. 烟草 NtNHX1-1 基因特征分析[J]. 分子植物育种, 2017, **15**(6): 2 166-2 170.

JIAO F C, SONG Z B, WANG B W, *et al.* Characteristic analysis of NtNHX1-1 gene in tobacco[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, **15**(6): 2 166-2 170.

[16] 华 晶, 阳会兵, 党政伟, 等. 烤烟打顶前后烟株钾素及有机物含量变化特征的研究[J]. 湖南农业科学, 2012, (7): 26-30.

HUA J, YANG H B, DANG Z W, *et al.* Characteristics of changes in contents of potassium and organic matters in tobacco plant before and after topping[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2012, (7): 26-30.

[17] 冯连军, 朱列书, 杨 亚. 打顶对烟草上部叶质体色素和钾素含量动态变化的影响[J]. 东北农业大学学报, 2013, (1): 110-113.

FENG L J, ZHU L S, YANG Y. Effect of topping on dynamic changes of chromoplast pigments and potassium content in upper leaves of flue-cured tobacco[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2013, (1): 110-113.

[18] BRETT C L, TUKAYE D N, MUKHERJEE S, *et al.* The yeast endosomal Na⁺ (K⁺)/H⁺ exchanger Nhx1 regulates cellular pH to control vesicle trafficking[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, **16**(3): 1 396-1 405.

[19] PARDO J M, CUBERO B, LEIDI E O, *et al.* Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, **57**(5): 1 181-1 199.

[20] QIU Q S. Plant endosomal NHX antiporters: activity and function[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2016, **11**(5): e1147643.

[21] BASSIL E, COKU A, BLUMWALD E. Cellular ion homeostasis: emerging roles of intracellular NHX Na⁺/H⁺ antiporters in plant growth and development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, **63**(16): 5 727-5 740.

[22] ZHANG H X, BLUMWALD E. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit[J]. *Nature Biotechnology*, 2001, **19**(8): 765-768.

[23] BRINI F, HANIN M, MEZGHANI I, *et al.* Overexpression of wheat Na⁺/H⁺ antiporter TNHX1 and H⁺-pyrophosphatase TVP1 improve salt- and drought-stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58**(2): 301-308.

[24] OHTA M, HAYASHI Y, NAKASHIMA A, *et al.* Introduction of a Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Atriplex gmelini* confers salt tolerance to rice[J]. *Febs Letters*, 2002, **532**(3): 279-282.

[25] ZÖRB C, NOLL A, KARL S, *et al.* Molecular characterization of Na⁺/H⁺ antiporters (ZmNHX) of maize (*Zea mays* L.) and their expression under salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, **162**(1): 55-66.

[26] GALVEZ F J, BAGHOUR M, HAO G P, *et al.* Expression of LeNHX isoforms in response to salt stress in salt sensitive and salt tolerant tomato species[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2012, **51**(2): 109-115.

[27] BARRAGÁN V, LEIDI E O, ANDRÉS Z, *et al.* Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 2012, **24**(3): 1 127-1 142.

(编辑:宋亚珍)