

低钾胁迫下外源生长素对烟草根系生长及钾吸收的影响

郭泽, 李子绅, 代晓燕*, 王英锋

(河南农业大学烟草学院/烟草行业烟草栽培重点实验室, 郑州 450002)

摘要:【目的】探明生长素参与低钾胁迫下植株根系的生长发育及吸钾机制, 同时为提高植物体内钾素水平提供理论依据。【方法】采用室内水培法, 以模式植物烟草为试验材料, 通过设置 2 个钾浓度 (5、0.15 mmol/L) 和 5 个外源生长素 (3-吲哚乙酸) 浓度 (0、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$), 对植物根系生理特征、内源生长素浓度、钾素累积及钾吸收动力学和相关钾离子通道基因转录表达进行比较研究。【结果】1) 与正常钾水平相比, 在低钾胁迫条件下, 植株地上部干重显著降低 15.6%; 根系扫描 8 项指标中, 除根平均直径外, 其余 7 项指标值均显著降低; ATPase 活性显著降低 43.3%; 主根尖、侧根尖及叶片内源生长素浓度显著升高; 钾吸收动力学参数 V_{max} 、 K_{m} 值分别显著降低了 89.2%、99.6%; 植株根系、叶片钾浓度分别显著降低了 93.0%、62.2%; 根系中内流型钾离子通道基因 *Ntk1* 的表达量显著降低 56%。2) 添加外源生长素后, 正常供钾植株的根系干物质重、根系活力、主根尖及侧根尖内源生长素浓度有增加的趋势, V_{max} 值和内流型钾离子通道基因 *NKT2*、*NtKCl* 的表达量明显增加; 低钾条件下, 植株表现出和正常供钾相似的规律, 除此之外, 低钾植株的根系生长得到明显改善, ATPase 活性和地上地下部钾素浓度明显增加, 外流型钾离子通道基因 *Ntork1* 的表达量明显降低。3) 当添加生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 与未添加生长素相比, 正常供钾植株的地上地下部干重显著增加了 6.05%、8.54%; 根体积及根系交叠数显著增加 16.5%、23.2%; 根系活力显著增加了 298%; V_{max} 值显著增加了 118%; 低钾植株地上地下部干重与不添加相比显著提高了 5.61%、28.6%; 根系活力达到 113 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, FW, 为无添加生长素时的 3.3 倍; 根系 ATPase 活性相对增加了 87.5%; 根系钾浓度显著增加 250%; 钾离子通道基因 *NKT2* 在根系中表达量显著增加了 7.04 倍, *Ntork1* 在根系及叶片中表达量显著降低了 49.5%、72.5%。【结论】低钾胁迫影响烟草根系生长及植株对钾素的吸收累积, 添加适当浓度外源生长素可改善植株根系生长发育状况, 增加内流型钾离子通道基因 *NKT2*、*NtKCl* 的表达量, 降低外流型钾离子通道基因 *Ntork1* 的表达量, 且提高植株钾吸收动力学参数 V_{max} 值、降低 K_{m} 值, 从而提高了植株对钾离子的吸收能力与亲和力, 进而增加植株钾素浓度。

关键词: 烟草; 根系; 生长素; 3-吲哚乙酸; 低钾胁迫; 钾素吸收

Effects of auxin on tobacco root growth and potassium uptake under low potassium stress

GUO Ze, LI Zi-shen, DAI Xiao-yan*, WANG Ying-feng

(College of Tobacco Science, Henan Agricultural University / National Tobacco Physiology & Biochemistry Research Centre, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: 【Objectives】The aim of this study was to investigate the effects of auxin on the growth, development and potassium uptake of plant roots under low potassium stress, to provide a theoretical basis for increasing potassium levels in plants. 【Methods】Using indoor hydroponic method, model plant tobacco was used as the test material, and two potassium concentrations (5 mmol/L, 0.15 mmol/L) and five exogenous auxin concentrations were set (exogenous auxin was selected from 3-indole acetic acid, the concentration was set as 0, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$), the physiological characteristics of plant roots, endogenous auxin concentration, potassium accumulation, potassium uptake kinetics and related potassium channel gene transcriptional expression were

收稿日期: 2018-08-10 接受日期: 2018-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31501823); 河南省科技攻关计划 (农业领域) 项目 (162102110138)。

联系方式: 郭泽 E-mail: 15837119184@163.com; * 通信作者 代晓燕 E-mail: daixiaoy319@163.com

compared. **【 Results 】** 1) Compared with the normal potassium level, the dry weight of the aboveground part of the plant decreased by 15.6% under low potassium stress, among the 8 indicators of root scan, except for the average root diameter, the other 7 indicators were significantly lower, the activity of ATPase decreased by 43.3%; the concentration of endogenous auxin in the main root tip, lateral root tip and leaf increased significantly, the V_{max} and K_m values of the parameters were reduced by 89.2% and 99.6% respectively, plant root and leaf potassium concentrations were reduced by 93.0% and 62.2% respectively, controlled potassium ion influx gene *NtKCI* in roots was reduced by 56%. 2) After adding exogenous auxin, the root dry weight, root activity, main root tip and lateral root tip endogenous auxin concentration of the normal potassium level plant increased. The V_{max} value and the expression of the relevant channel gene that regulated the influx of potassium ions were significantly increased. Under low potassium conditions, the plants showed similar regularity to normal potassium level. In addition, the root growth of low potassium plants was significantly improved. The ATPase activity and the aboveground and root potassium concentration increased significantly, while the expression level of the outflow-type potassium channel gene *Ntork1* was significantly reduced. 3) When the concentration of auxin added was 10 $\mu\text{mol/L}$, compared with no auxin added, the dry weight of the aboveground part and root of the regular potassium level plants increased by 6.05% and 8.54%; the root volume and root overlap increased by 16.5% and 23.2%; the root activity increased by 298%, and the V_{max} value increased by 118%. The dry weight of the aboveground part and root of the low potassium level plant was increased by 5.61% and 28.6% compared with no addition, and the root activity reached 113 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, FW, which was 3.3 times of that of no auxin. The root ATPase activity was increased by 87.5%. Root potassium concentration increased by 250% and potassium channel gene *NKT2* in roots increased by 7.04 times and the expression of *Ntork1* in roots and leaves was reduced by 49.5% and 72.5%. **【 Conclusions 】** Low potassium stress affects plant root growth and plant uptake and accumulation of potassium. Adding appropriate concentration of exogenous auxin can improve the growth and development of plant roots, increase the expression of the influx potassium channel genes *NKT2* and *NtKCI*, and reduce the expression of the outflow-type potassium channel gene *Ntork*. Moreover, the plant potassium kinetic parameter V_{max} value is increased, which increases the absorption capacity and affinity of the plant for potassium ions, thereby increasing the potassium content of the plant.

Key words: tobacco; root system; auxin; 3-indole acetic acid; low potassium stress; potassium absorption

钾是植物细胞中含量最丰富的阳离子之一^[1], 约占植物干重的 2%~10%^[2]。钾元素参与了植物生长发育的许多过程^[3]。虽然土壤中钾离子浓度一般在 0.025~5 mmol/L 范围内^[4], 但植物根际中的钾离子浓度常低于 0.3 mmol/L^[5], 所以大田农作物经常处于缺钾状态。而植物根系是对缺钾信号最敏感的原初器官, 植物对钾素的吸收主要取决于其根系。因此, 研究低钾胁迫下植物根系的生长发育及吸钾状况, 对提高植物体内钾素水平具有重要意义。对拟南芥低钾胁迫下钾离子信号传导途径研究表明: 第一, 低钾胁迫可引起 H^+ -ATPase 活性的提高, 导致质膜的超极化和细胞外酸化, 前者可激活内流型钾离子通道 *AKT1* 和可渗透性钙离子通道, 后者可促进 *HAK5* 类钾离子转运体调控的钾吸收; 第二, 低钾可诱导根细胞中活性氧的累积, 最终调控 *HAK5* 类钾离子转运体的转录变化^[6-7]和激活 *AKT1* 等钾离子

通道的活性, 从而调控钾离子的吸收^[8]。进一步的研究表明, 低钾胁迫下, 植物根系的生长会发生变化, 这是由于低钾胁迫可诱导乙烯的产生, 促进中柱生长素运输基因 *PIN3* 和 *PIN7* 的转录量增加, 从而影响生长素在植株根系中的分布^[9]。乙烯也可促进生长素从根尖到分生区的运输量, 大量积累的生长素抑制了植物主根的生长, 说明低钾胁迫可刺激植物激素生长素的合成进而影响植物根系形成, 也说明生长素是低钾胁迫信号传导的主要因素和植物根系对钾素吸收运输的重要物质。对于生长素影响钾素吸收转运的研究集中在顶端调控的情况下, 如郭丽琢等^[10]研究发现, 烟株打顶后用 NAA 处理茎断口, 烟株及烟叶内 K 的最终积累量增加。洪丽芳等^[11]利用 ^{86}Rb 标记示踪原子法研究发现, 当烟草施用生长素以后, ^{86}Rb 在木质部中的运输量增强, 在韧皮部中下运的量降低, 因此有利于钾素在烟叶中的积

累。进一步对钾离子通道与植物激素类物质的关系研究发现, 打顶抑制了钾离子通道基因在烟叶中的表达, 诱导其在根中的表达, 且打顶后在植物顶端涂抹生长素类物质, 可抑制因打顶引起的钾离子通道基因在烟叶和根系中的表达^[12]。这说明打顶后涂抹生长素可能通过引起植物体内相关钾离子转运蛋白的转录表达, 进而影响植物对钾素的吸收。目前对于生长素与钾素吸收积累与转录分析的调控研究都是在顶端调控下进行的, 而对于植物吸收钾离子的主要部位根系的调控研究较少, 且对生长素参与调控烟株根系钾离子的吸收和运输机制并不清楚。本文以模式植物烟草为研究材料, 采用室内水培的方法, 通过对烟株根系进行不同浓度的钾素及外源生长素处理, 探索生长素参与调控烟草根系的吸钾机理, 以期理解低钾胁迫下植物的吸钾机制提供理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 供试材料与材料培养

供试材料为烟草品种‘豫烟 6 号’, 试验在河南农业大学烟草行业烟草栽培重点实验室进行。烟草种子完成催芽后, 均匀移栽在装有 Hoagland 全营养液和珍珠岩的黑色小盆容器中, 然后放置在光照培养箱中生长, 培养条件: 昼温 (28 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 夜温 (18 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 光周期 14 h, 光照强度 4000 lx, 相对湿度 65%~70%。

1.2 试验处理

当烟苗长至 3 片真叶时, 挑选长势一致的烟苗, 用去离子水洗净根系后移至水培盒子进行水培处理。首先放入无钾的 Hoagland 全营养液进行钾饥饿 48 h, 再分别置于不同的钾水平营养液中进行培养。试验共设 2 个钾水平, 分别为正常供钾 (5 mmol/L) 和低钾 (0.15 mmol/L)^[13], 培养期间用通气泵间歇通气。为保持营养液中的养分浓度相对稳定, 每隔 4 天换一次营养液。营养液除钾水平不同外, 其它成分含量均按照 Hoagland 全营养液方法进行。钾处理 8 天后同时添加不同浓度的外源生长素进行处理, 外源生长素为 3-吲哚乙酸, 共设 5 个浓度: 0、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ (前期进行大量探索试验发现, 生长素浓度过高时, 根系生长会出现直接坏死, 因此, 本文生长素浓度的设置为前期试验筛选所得)。生长素使用时用无水乙醇按 50 mg/mL 的比例进行溶解。处理 4 d 后取样测定相应指标, 每个处理 6 次重复。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 根系及地上部干重 分别取植株根系及地上部, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中杀青 30 min 后, 65 $^{\circ}\text{C}$ 中烘干至恒重, 分别测定根系及地上部干重。

1.3.2 根系扫描特征 待处理时间结束后, 迅速剪取烟草完整根系, 通过数字化扫描仪 (EPSON Expression 1000XL) 对根系进行扫描, 之后用 WinRHIZO 根系分析系统软件对根系八项指标 (总根长、根体积、根总表面积、根投影面积、根平均直径、根尖数、根分叉数和根交叠数) 进行定量分析。

1.3.3 根系生理指标 根系活力测定采用 TTC (氯化三苯基四氮唑) 法^[14]; 根系 H^+ -ATPase 活性根据试剂盒使用步骤进行测定^[15] (试剂盒购自南京建成生物工程研究所); 根系可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 比色法^[16]测定。

1.3.4 植株各部位生长素浓度 分别采集主根尖 (0~2 cm)、侧根尖 (0~2 cm) 和顶部第一片功能叶片 0.5 g 新鲜烟草样品, 用液氮速冻后, 存放于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存, 采用间接酶联免疫吸附法 (ELISA)^[17] (酶免疫试剂盒由中国农业大学化控中心提供) 进行测定。

1.3.5 植株各部位钾素浓度 精确称取烘干磨碎过 0.2 mm 筛的样品 0.1000 g 左右, 采用 1 mmol/L 盐酸-火焰光度计法^[18], 测定植株根系及地上部钾含量。

1.3.6 根系钾吸收动力学参数 参照 Xu 等^[8]的溶液耗竭方法进行试验。取供试烟苗在无钾营养液中饥饿处理 2 天, 期间每天换饥饿液 1 次。耗竭试验开始时, 将烟苗装入含 50 mL 耗竭液黑色三角瓶中 (耗竭液由 0.4 mmol/L KNO_3 、0.2 mmol/L CaSO_4 组成), 每隔 12 h 取样一次, 直到耗竭液中钾浓度接近零时结束取样。每次取 10 mL 耗竭液, 取样后用 10 mL 去离子水补充。用火焰光度计测定耗竭液钾浓度。以耗竭液的钾浓度为纵坐标, 耗竭时间为横坐标作钾离子耗竭曲线, 得出一元二次方程模型 $Y = a + bX + cX^2$, 其中 X 代表吸收时间, Y 代表该时刻耗竭液中钾浓度。

结合 Li 和 Ma 的方法^[19], 计算根系钾吸收动力学参数 $V_{\text{max}} = [b \times \text{耗竭液体积 (mL)}] / [0.06 \times \text{鲜根重 (g)}]$, $K_m = a - 3b^2/16c$, $C_{\text{min}} = a - b^2/4c$, 其中 a 、 b 、 c 不考虑正负号。

1.3.7 钾离子相关通道基因表达量 钾离子通道相关基因的相对表达量采用实时荧光定量 PCR 法测定: 采用 trizol 法提取总 RNA, 利用 NanoDrop 2000 分光光度计 (Thermo Scientific, USA) 测定浓度

及 OD₂₆₀/OD₂₈₀, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。利用 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR(+ gDNA wiper) (Vazyme, R223-01) 将待测 RNA 逆转录成 cDNA。引物采用 Roche LCPDS2 软件设计并由北京擎科新业生物技术有限公司合成, 引物序列如表 1。内参基因为烟草 ACTIN 基因。利用 QuantiFast® SYBR® Green PCR Kit 试剂盒 (Qiagen, Germany) 在 LightCycler® 480 II 型荧光定量 PCR 仪 (Roche, Swiss) 上进行反应。体系: 2 × QuantiFast® SYBR® Green PCR Master Mix, 5 μL; 10 μmol/L Forward primer, 0.2 μL; 10 μmol/L Reverse primer, 0.2 μL; cDNA, 1 μL; Nuclease-free H₂O, 3.6 μL。PCR 程序: 95℃ 5 min; 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 40 个循环。循环结束后利用熔解曲线检测产物特异性: 从 60℃ 缓慢升温至 97℃, 每℃ 采集 5 次荧光信号, 引物序

列见表 1。

1.4 数据处理

采用 Excel 2016 进行数据整理和作图, SPSS21.0 对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生长素参与不同钾水平下对植株根系生长的影响

2.1.1 植株根系及地上部干物质重 如图 1 所示, 正常供钾水平下植株根系和地上部干物质累积量整体高于低钾水平, 其中在生长素浓度为 0 μmol/L 时, 地上部干重差异显著。添加生长素以后, 无论正常供钾或是低钾条件下, 随着外源生长素浓度的增加, 根系和地上部干重均呈现先升高后降低的趋

表 1 烟草钾离子通道相关基因引物序列

Table 1 Tobacco potassium channel related gene primer sequence

目的基因 Target gene	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Sequence of primers	PCR 产物 (bp) PCR product
<i>NKT2</i>	AB196789	5'-GCTCAAGATCATTGCAGGTCAG-3' 5'-CTGAGATCCAAGTTTGCATGTG-3'	201
<i>NiKCI</i>	AB196791	5'-CACTATTGTCATGGCGGATG-3' 5'-TCTTCGGTACATCCGTTTCTG-3'	131
<i>Ntork1</i>	AB196792	5'-AGTGAAACAACCTTGAGAGTACCTC-3' 5'-GAGAAGCATAAACTGCTACAGTGG-3'	175
<i>TIN</i>	AB158612	5'-AACAGTTTGTTGGAGTTCTGG-3' 5'-CATGAAGATTAAGGCGGAGTG-3'	199

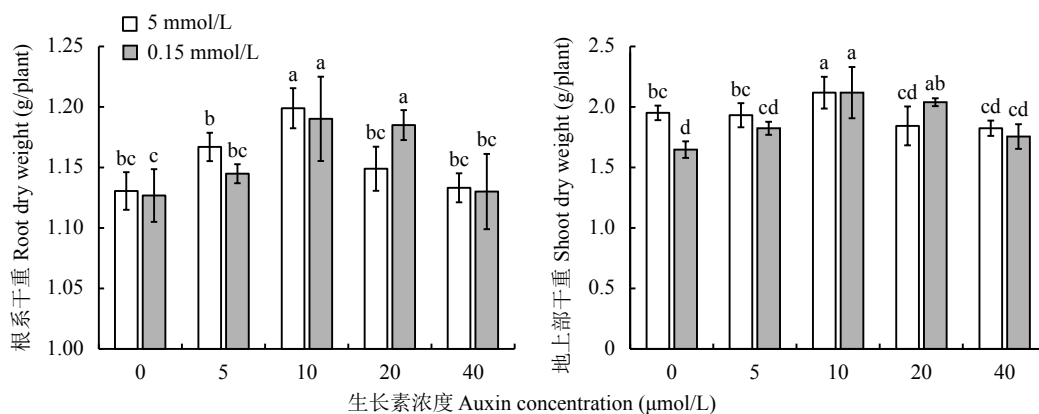


图 1 供钾 5 mmol/L 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理烟草根系及地上部干物质重

Fig. 1 Root and aboveground dry matter weight of tobacco plant as affected by different exogenous auxin concentrations under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

[注 (Note): 柱上不同字母代表处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ level.]

势, 且均在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大值, 其中地上部干重在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时与其余处理差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

2.1.2 植株根系扫描特征 由表 2 可知, 正常供钾水平下各项指标 (总根长、根总体积、根总表面积、根投影面积、根平均直径、根尖数、根分叉数、根交叠数) 数值均明显高于低钾水平相应处理, 且大部分差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 其中在生长素浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 的条件下, 正常供钾植株根尖数高达低钾植株的 4.38 倍; 在生长素浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 的条件下, 正常供钾植株根系总长度高达低钾植株的 2.38 倍, 根系总体积可达低钾植株的 2.91 倍, 说明低钾胁迫显著影响植株根系的生长发育。在正常供钾条件下, 各项根系指标随着外源生长素浓度的增加变化规律表现不一致, 且趋势不明显。但在低钾条件下, 根系的总长度和根尖数均表现出随着外源生长素浓度的增加先增加后降低的趋势, 且均在外源添加生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最高且与其余处理相比差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 根平均直径的变化规律与其正好相反, 其他几项指标变化规律呈波浪线趋势。

2.1.3 植株根系生理特征 如图 2-a 所示, 未添加生长素时, 正常供钾与低钾植株根系活力差异不显著。添加生长素以后, 在常钾条件下, 随着外源生长素浓度的增加, 根系活力呈先减少后增加又减少再增加的波浪型趋势。低钾情况下, 根系活力随着所添加生长素浓度的增加呈先增加后降低的单峰变化趋势, 其中在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大, 且为不添加生长素处理的 3.3 倍, 与低钾其他处理差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

如图 2-b 所示, 在未添加外源生长素的情况下, 常钾植株 ATPase 活性显著高于低钾处理, 说明低钾胁迫可降低植株根系质膜 ATPase 的活性。添加外源生长素以后, 低钾水平植株 ATPase 活性整体高于正常供钾水平, 且随着生长素浓度升高, 正常供钾条件烟草根系 ATPase 活性表现为先降低后增加后又降低的波浪型趋势; 低钾条件下根系 ATPase 活性表现为先增加后降低的单峰型趋势, 在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到峰值, 为不添加生长素处理的 1.89 倍, 且与低钾其余处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

由图 2-c 可知, 除了外源生长素浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$

表 2 供钾 5 mmol/L 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理的烟草植株根系扫描特征

Table 2 Root scanning characteristics of exogenous auxin treated tobacco plants under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

根系指标 Root index	钾水平 (mmol/L) K level	生长素浓度 Auxin concentration ($\mu\text{mol/L}$)				
		0	5	10	20	40
总长度 Length	5	930 \pm 35.3 b	993 \pm 17.4 a	864 \pm 21.2 c	775 \pm 22.4 d	732 \pm 9.84 d
	0.15	392 \pm 40.8 f	416 \pm 38.9 f	510 \pm 9.99 e	470 \pm 43.5 e	384 \pm 14.4 f
体积 Volume	5	1.09 \pm 0.09 c	1.08 \pm 0.09 c	1.27 \pm 0.09 b	1.15 \pm 0.05 bc	1.13 \pm 0.25 bc
	0.15	0.45 \pm 0.04 d	0.37 \pm 0.03 d	0.40 \pm 0.03 d	0.49 \pm 0.04 d	0.42 \pm 0.02 d
表面积 Surface area	5	116 \pm 10.5 a	116 \pm 4.52 a	114 \pm 8.51 a	120 \pm 2.88 a	117 \pm 7.82 a
	0.15	47.1 \pm 4.33 bc	53.4 \pm 4.50 b	49.3 \pm 3.68 bc	53.6 \pm 4.11 b	42.9 \pm 3.35 c
投影面积 Projection area	5	36.9 \pm 3.33 b	36.8 \pm 1.44 b	36.3 \pm 2.71 b	33.6 \pm 2.44 b	46.9 \pm 3.33 a
	0.15	15.0 \pm 1.38 c	17.1 \pm 1.77 c	16.0 \pm 0.76 c	17.1 \pm 1.31 c	13.7 \pm 1.07 c
平均直径 Diameter	5	0.40 \pm 0.03 cd	0.37 \pm 0.02 cd	0.43 \pm 0.03 b	0.40 \pm 0.03 bc	0.63 \pm 0.05 a
	0.15	0.38 \pm 0.01 bcd	0.34 \pm 0.03 de	0.31 \pm 0.01 e	0.36 \pm 0.02 cde	0.37 \pm 0.01 cde
根尖数 Root tip number	5	1930 \pm 93.7 b	1215 \pm 109 c	884 \pm 73.9 d	880 \pm 14.7 d	1195 \pm 40.7 c
	0.15	440 \pm 38.8 e	826 \pm 54.3 d	828 \pm 81.4 d	706 \pm 21.7 d	709 \pm 25.2 d
分叉数 Bifurcation number	5	5533 \pm 307 b	4732 \pm 191 c	5678 \pm 377 b	4939 \pm 180 c	8353 \pm 548 a
	0.15	1560 \pm 69.8 f	2114 \pm 147 e	1831 \pm 83.3 ef	2104 \pm 123 e	1621 \pm 66.5 f
交叠数 Overlap number	5	891 \pm 25.5 c	1433 \pm 117 a	1103 \pm 72.4 b	950 \pm 26.1 c	790 \pm 61.5 d
	0.15	398 \pm 17.7 e	302 \pm 12.4 f	446 \pm 23.6 e	431 \pm 20.1 e	285 \pm 28.5 f

注 (Note): 同行数据后不同字母表示不同生长素浓度间在 $P < 0.05$ 水平差异显著 Values followed by different letters in a row indicate significant difference among different auxin concentrations at $P < 0.05$ level.

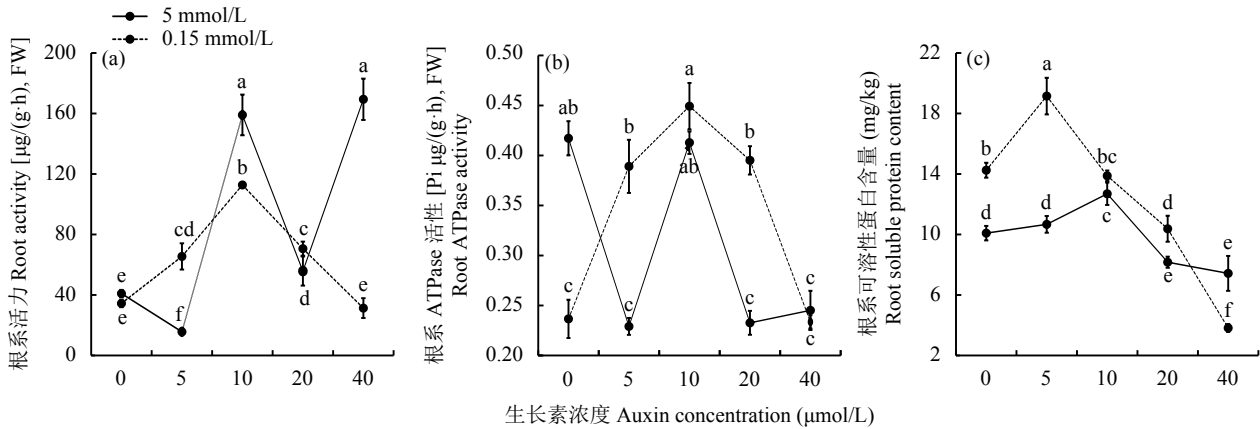


图 2 供钾 5 mmol/L 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理烟草根系生理特征

Fig. 2 Physiological characteristics of roots of exogenous auxin treated tobacco plants under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

[注 (Note) : 线上不同字母代表处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Different letters above the lines indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ level.]

时, 其他生长素浓度条件下, 低钾水平可溶性蛋白含量均高于常规钾水平处理, 说明低钾胁迫仍可刺激根系的代谢活动。无论正常供钾或是低钾条件下, 随着外源生长素浓度的增加, 植株根系中可溶性蛋白含量都呈现为先增加后降低的趋势, 其中常钾植株在生长素浓度为 10 μmol/L 时可溶性蛋白含量达到最大值, 低钾植株在生长素浓度为 5 μmol/L 可溶性蛋白含量达到最大值, 且与低钾其他处理相比差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

2.1.4 植株各部位内源生长素浓度分布特征 如图 3-a 所示, 在主根尖内源生长素中, 除了外源生长素浓度为 20 μmol/L 外, 其他 4 个外源生长素浓度条件下, 低钾水平根尖内源生长素浓度均高于正常供钾

水平。无论正常供钾或是低钾条件下, 随着外源生长素浓度的增加, 主根尖内源生长素浓度整体呈现增加的趋势, 且均在外源生长素浓度为 40 μmol/L 时达到最大值 28.39 和 20.57 ng/g, FW。

由图 3-b 可知, 在侧根尖内源生长素中, 添加不同浓度的外源生长素后, 低钾水平侧根尖内源生长素浓度均高于正常供钾水平。无论正常供钾或是低钾水平, 添加生长素以后, 侧根尖内源生长素均表现出增加趋势, 其中在生长素浓度为 0~20 μmol/L 时变化不大, 在生长素浓度为 20~40 μmol/L 时内源生长素浓度迅速增加达到最大值且与其余处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

由图 3-c 可知, 在叶片内源生长素中, 低钾水平

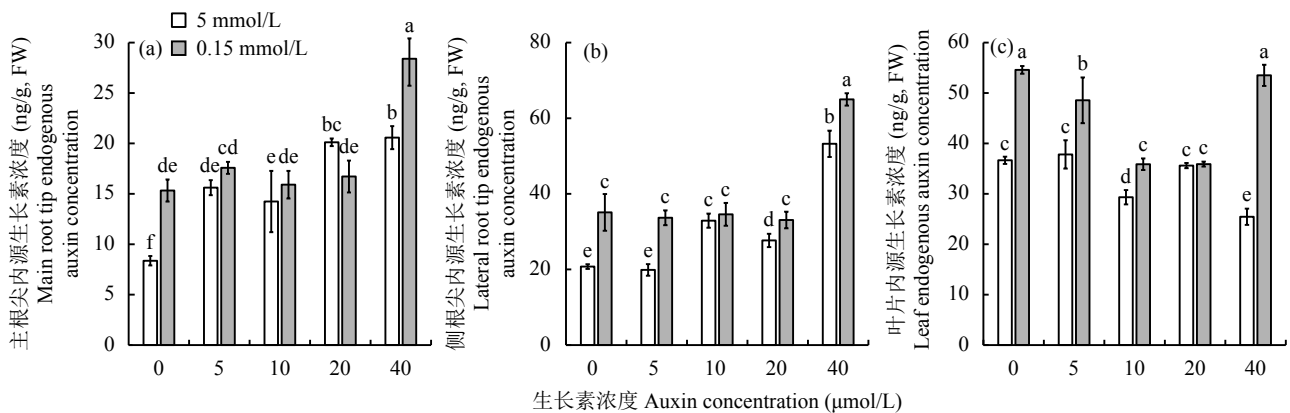


图 3 供钾 5 mmol/L 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理植株各部位内源生长素浓度

Fig. 3 Endogenous auxin concentration in various parts of exogenous auxin-treated tobacco plants under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

[注 (Note) : 柱上不同字母代表处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ level.]

下叶片内源生长素浓度整体均高于正常供钾水平。正常供钾水平下, 随着外源生长素浓度的增加, 叶内源生长素浓度表现为先降低后增加又降低的规律; 低钾水平下, 在外源生长素浓度为 0~10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 叶内源生长素浓度呈现降低趋势, 在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时最低, 为 35.88 ng/g, FW, 之后随着外源生长素浓度的升高, 叶片内源生长素浓度开始升高。

2.2 不同钾水平下生长素对植株体内钾素吸收的影响

2.2.1 植株各部位钾素浓度

由表 3 可知, 钾水平、生长素浓度以及两者交互 3 个因素均对植株各部位钾素浓度有显著影响, 对钾素的贡献率分别达到了 83.9%、3.50%、12.5%, 说明钾水平对植株各部位钾素浓度起着关键作用, 其次是两者交互, 最后是生长素浓度。

如图 4 所示, 无论是在根系还是叶片中, 正常供钾条件下其钾素浓度均显著高于低钾水平 ($P < 0.05$)。在根系中, 随着生长素浓度的增加, 正常供钾植株根系钾素浓度表现为持续降低趋势; 低钾植株根系

钾素浓度表现为先增加后降低的趋势, 其中在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大值 14.21 mg/g 且与其他处理差异达到显著水平。在叶片中, 正常供钾条件下, 当生长素浓度为 0~10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 其钾素浓度变化不大, 在生长素浓度为 10~20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 其钾素浓度迅速降低, 之后随着生长素浓度的增加, 其钾素浓度又缓慢升高; 而低钾植株叶片钾素浓度表现为先缓慢升高又缓慢降低的趋势, 其中在生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时达到峰值 38.7 mg/g。

2.2.2 植株根系钾吸收动力学特征差异

根系钾吸收动力学参数 V_{max} 和 K_m 用来定量表征根系吸钾特征, V_{max} 表示植物对钾离子的最大吸收速率, 其值越大, 表示植株对钾离子的吸收能力越强^[20]; K_m 表示植株对钾离子的亲和力, 其值越大, 亲和力越低^[21]。在测定各部位钾素浓度的基础上, 进一步研究了烟草根系对钾素吸收的动力学参数。结果表明 (表 4), 正常供钾水平下根系动力学参数值均明显高于低钾水平。随着生长素浓度的升高, 正常供钾和低钾条件下根系 V_{max} 均表现为先升高后降低的趋势, 其中

表 3 钾水平和生长素浓度对植株各部位钾素浓度影响的方差分析

Table 3 Variance analysis of potassium level and auxin concentration on potassium concentration in various parts of plants

变异来源 Variation source	df	平方和 Sum of squares	均方 Mean square	F 值 F value	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$	贡献率 (%) Contribution rate
钾水平 K level (K)	1	7791.84	7791.84	7286.32	4.41	8.29	83.92
生长素浓度 Auxin concentration (A)	4	325.20	81.30	76.02	2.93	4.58	3.50
K × A	4	1163.90	290.97	272.10	2.93	4.58	12.54
误差 Error	18	19.25	1.07				
总变异 Total	29	9304.24					

注 (Note): 贡献率 (%) = $SS_{\text{变因}} \times 100\% / (SS_{\text{总}} - SS_{\text{误}})$ Contribution rate (%) = $SS_{\text{F}} \times 100\% / (SS_{\text{T}} - SS_{\text{E}})$.

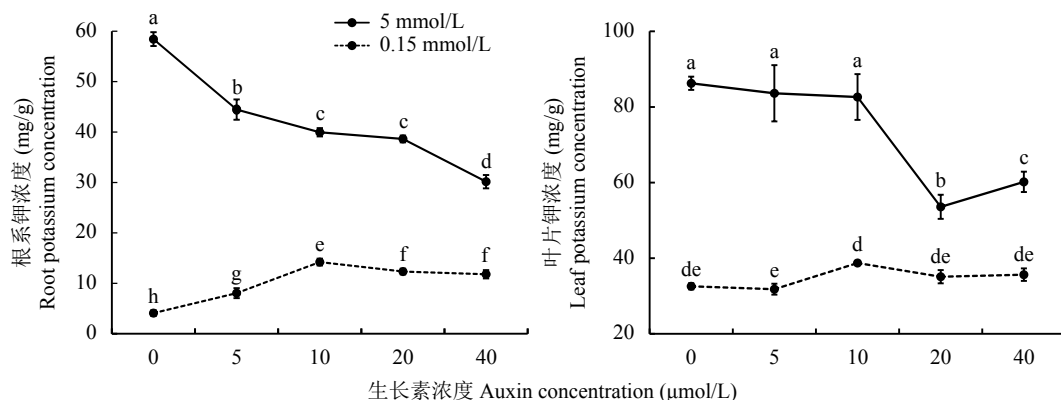


图 4 供钾 5 mmol/L 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理植株根系和叶片钾浓度

Fig. 4 Potassium concentration in various parts of plants treated with exogenous auxin under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

[注 (Note): 线上不同字母代表处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Different letters above the lines indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ level.]

表 4 植株根系钾吸收动力学特征差异

Table 4 Difference of kinetics of potassium absorption in plant root

钾水平 K level (mmol/L)	生长素浓度 Auxin concentration ($\mu\text{mol/L}$)	V_{max} [$\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$, FW]	K_m ($\mu\text{mol/L}$)
5	0	19.88 c	0.0055 a
	5	44.99 a	0.0049 b
	10	43.42 a	0.0049 b
	20	28.26 b	0.0049 b
	40	17.14 c	0.0044 c
0.15	0	2.15 c	2.23×10^{-5} a
	5	3.18 b	1.21×10^{-5} d
	10	4.18 a	1.08×10^{-5} d
	20	2.77 bc	1.46×10^{-5} c
	40	2.39 c	1.92×10^{-5} b

注 (Note): 同列数据后不同字母表示相同钾水平不同生长素浓度间在 $P < 0.05$ 水平差异显著 Values followed by different letters in a column indicate significant difference among different auxin concentrations at $P < 0.05$ level.

正常供钾在生长素浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时达到峰值, 为不添加生长素处理的 2.26 倍, 低钾在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到峰值, 为不添加生长素处理的 1.94 倍, 且差异达到显著水平 ($P < 0.05$); K_m 在正常供钾时表现为持续降低趋势, 在低钾时表现为先降低后升高的趋势, 在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到最小值。

2.2.3 植株体内相关钾离子通道基因表达量检测

从图 5-a, b 可知, *NKT2* 基因在植株根系中的表达量整体高于叶片, 且低钾水平下 *NKT2* 基因的表达量普遍高于正常供钾水平, 随着生长素浓度的提高, 根系和叶片中基因 *NKT2* 的表达量整体呈现先增加后降低的趋势。在根系中, 正常供钾和低钾条件下, *NKT2* 基因的表达量均在外源生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到峰值, 其中此时低钾条件下 *NKT2* 基因的表达量相对于低钾无添加生长素增加了 6.83 倍, 显著高于其他各处理。叶片中, 正常供钾条件下 *NKT2* 基因的表达量在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到最大值; 低钾条件下在生长素浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时达到最大值, 且显著高于其余各处理 ($P < 0.05$)。

从图 5-c, d 可知, 随着生长素浓度的增加, 根系和叶片中 *NtKCI* 基因的表达量整体表现为先增加后降低的趋势。在根系中, 正常供钾水平下各处理 *NtKCI* 基因的表达量均高于相应低钾水平; 相对于

正常供钾无添加生长素处理, 低钾水平下各处理该基因的表达量均降低。正常供钾条件下, *NtKCI* 基因的表达量在生长素浓度为 $20 \mu\text{mol/L}$ 时达到最大值; 低钾条件下在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时其值最高。在叶片中, 正常供钾条件下, 在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时 *NtKCI* 基因的表达量与无添加生长素时水平相当, 生长素浓度为 $20 \mu\text{mol/L}$ 时 *NtKCI* 基因表达量最高; 低钾条件下, *NtKCI* 表达量在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到最大值。

Ntork1 属于外流型钾离子通道基因。从图 5-e, f 可知, 无论是根系还是叶片, 正常供钾水平下各处理 *Ntork1* 基因的表达量均高于低钾水平各相应处理, 且相对于正常供钾无添加生长素处理, 低钾水平下植株 *Ntork1* 基因的表达量均降低; 随着生长素浓度的升高, 根系和叶片中 *Ntork1* 基因的表达量整体呈现先降低后增加的趋势, 且无论正常供钾或是低钾, 该基因的表达量均在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到最低值同时差异达到显著性 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 外源生长素对不同钾水平下植株根系生长及各部位内源生长素浓度的影响

根系是植物吸收矿质营养元素的主要部位, 研究表明, 外界供钾水平的高低显著影响烟株根系及地上部生长发育和干物质累积。在正常供钾水平下各组织干物质累积量高于低钾水平, 说明低钾胁迫影响干物质在植株中的累积, 不利于根系的发育, 这与代晓燕等^[22-23]的研究结果一致。洪丽芳等^[11]、代晓燕等^[24]、刘世亮等^[25]研究表明, 打顶后叶面外施植物生长调节剂或生长素类物质可增加烟叶干物质累积量, 这与本试验中不同供钾水平下添加外源生长素改善烟株生长状况的结果相一致。此外, 本试验还发现, 在正常供钾和低钾条件下, 当添加外源生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时, 可明显提高烟株根系及地上部干物质重, 改善烟株生长发育状况。这说明通过根系添加生长素类物质也可调控植株根系生长, 与以前研究发现打顶时叶面外施生长素的作用一致。

植物根系结构的可塑性 (尤其是侧根) 是植物进化过程中对根际环境胁迫的一种适应机制。植物在面临各种根际环境时会持续地改变其根系构型, 主要是侧根的数量和长度。Dubrovsky 等^[26]发现当拟南芥根系维管柱细胞生长素浓度降低时, 拟南芥侧根的萌发和伸长都受到抑制。研究表明, 拟南芥在低钾胁迫下, 根系的生长会发生变化, 而这与低钾胁

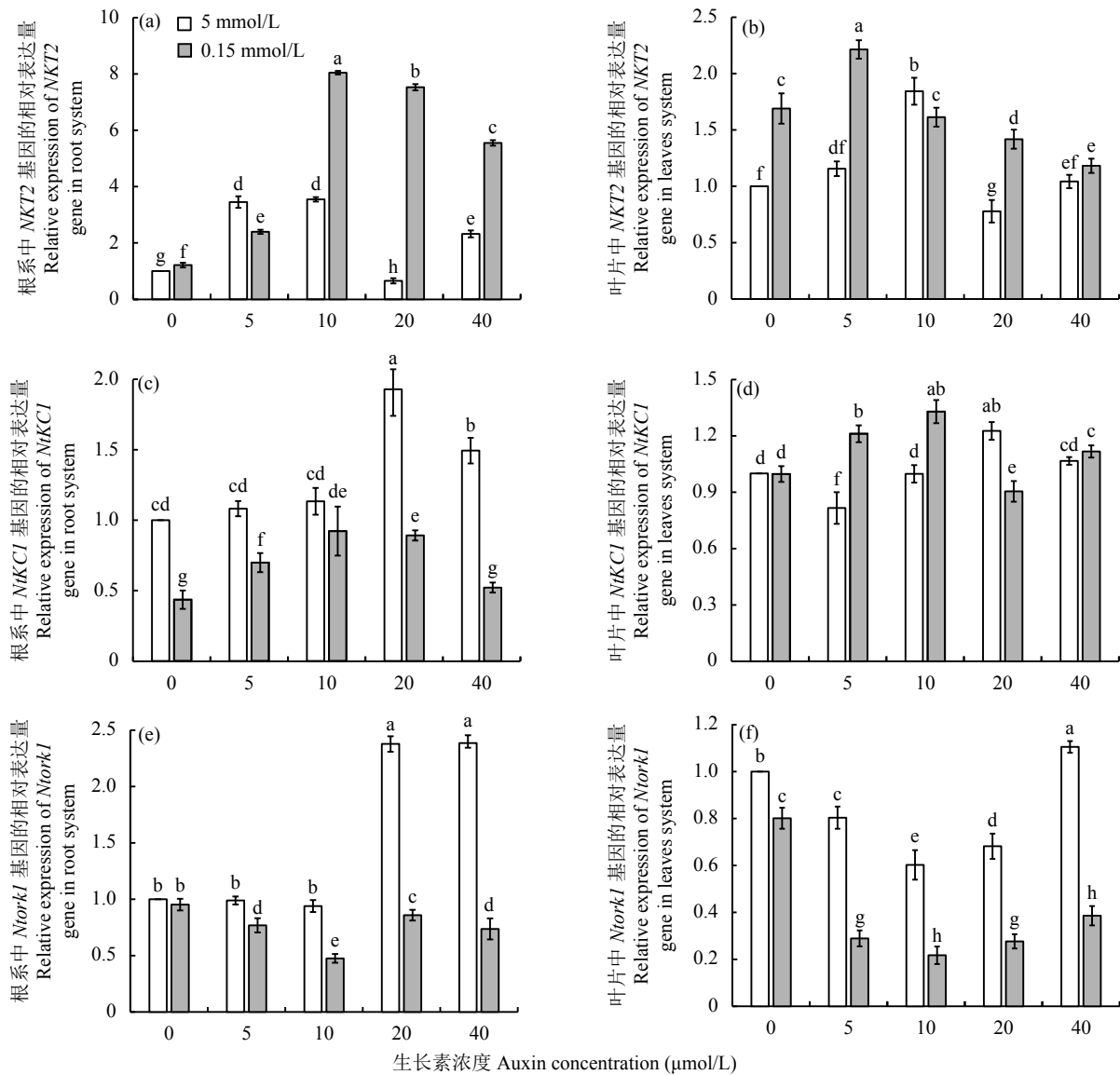


图5 供钾 5 和 0.15 mmol/L 水平下外源生长素处理的烟草植株钾离子通道基因相对表达量

Fig. 5 Relative expression levels of potassium channel genes in exogenous auxin-treated tobacco plants under treatments of K 5 and 0.15 mmol/L

[注 (Note): 柱上不同字母代表处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著]

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ level.]

迫下植物激素的变化有关, 根系中大量累积的生长素抑制植物主根生长^[9], 这与本试验中低钾胁迫条件下根系的发育状况一致, WinRHIZO 软件分析也表明正常供钾水平各项指标数值均显著高于低钾水平处理, 说明低钾胁迫在一定程度上抑制了根系的伸长, 不利于根系的生长发育。但是其中在外源生长素浓度为 20 μmol/L 时, 正常供钾与低钾条件下植株根系各项扫描指标与根系干重表现出相矛盾的关系, 研究认为这种情况可能是由于低钾条件下, 添加特定浓度的生长素可能会影响植株内部某种机制, 从而对低钾植株的干物质累积量及含水率有影

响, 虽然根系扫描各指标值较低, 但其干物质累积量却不少。对于这种特殊情况也是以后工作中我们需要继续探讨和有待于证实的问题。在低钾条件下, 施加生长素浓度为 10 μmol/L 时根系的长度、根尖数和根交叠数达到峰值, 说明外施一定浓度的生长素浓度能够缓解低钾胁迫, 有利于根系伸长, 并增加侧根数量, 增大根系体积和吸收面积。

根系活力表征根系的代谢状况, 是反映根系吸收营养元素和水分的重要指标, 根系活力愈强, 代表根系吸收能力越强, 提供给植株地上部的养分和水分也越多^[27]。本试验研究证明, 在不添加生长素

时,正常供钾植株根系活力值高于低钾植株。低钾水平下,通过添加适当浓度的生长素可提高根系活力,提高根系的钾素吸收能力。根系 ATP 酶的活性影响质子跨膜运输,进而影响植株根系对矿质养分的吸收,是表示根系代谢强度的重要指标^[28]。杨铁钊等^[15]研究表明,低钾胁迫条件下可降低植株根系 ATP 酶的活性,不利于质子跨膜运输,对养分的吸收产生阻碍作用,本试验结果与其一致,在低钾条件下,根系 ATP 酶的活性显著低于正常供钾水平($P < 0.05$)。但是,在添加不同浓度的外源生长素以后,低钾根系 ATP 酶的活性反而高于相应正常供钾水平,且在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时酶活性最高,说明在低钾条件下可通过适当添加外源生长素来改善根系 ATP 酶的活性,进而调控植物根系对矿质养分的吸收。根系可溶性蛋白主要由根系中的酶组成,可溶性蛋白含量增加是根系活性增强的基础。从根系可溶性蛋白含量上来看,低钾条件下可溶性蛋白含量整体高于常规供钾处理,说明低钾胁迫仍可刺激根系的代谢活动。其中正常供钾植株在生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时可溶性蛋白含量达到最大值,低钾植株在生长素浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时达到最大值,且差异达到显著水平。综合而言,低钾胁迫可刺激植株根系中可溶性蛋白含量的增加,且无论正常供钾还是低钾情况下,外源添加生长素对植株根系可溶性蛋白含量均有一定的改善作用。

Ma 等^[29]在进行低钾胁迫下水稻转录组分析中发现,在 33 个植物激素中有 22 个与生长素相关的基因发生了显著变化,以上这些研究都说明在植物中生长素和钾素营养有着关联。钾素水平影响植物体内生长素的分布,在不同钾素水平下烟株体内生长素的分布也表现出一定的规律性。本试验中,无论是主根尖、侧根尖还是叶片中,添加不同浓度外源生长素后,低钾植株内源生长素浓度整体高于相应正常供钾条件,说明低钾胁迫可刺激植物激素生长素的合成,促进各部位对生长素的累积。添加外源生长素以后,低钾植株主根尖及侧根尖内源生长素浓度在外源生长素浓度为 $0 \sim 20 \mu\text{mol/L}$ 范围内变化不大;叶片内源生长素浓度在外源生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时达到最小值,同时与正常供钾无添加生长素达到相同水平,说明低钾条件下过高的内源生长素浓度可能抑制了叶片及植株的生长,添加一定浓度的外源生长素以后,在一定程度上缓解了高浓度的抑制作用,促进烟株生长发育,这与上面研究一系列结果基本一致。正常供钾水平下添加外源生

长素以后,除了叶片内源生长素有略微降低趋势以外,其余部位内源生长素浓度均增加。所以在正常供钾和低钾水平下,适当添加外源生长素可增加相应部位内源生长素浓度,促进植株生长发育。

3.2 外源生长素对不同钾水平下植株体内钾素吸收的影响

代晓燕等^[24]和洪丽芳等^[11]研究表明,打顶后在烟株顶端涂抹生长素也能够提高烟草叶内的钾素含量,其是在顶端调控条件下进行,本试验采用根系调控的方法与其得出相同的结论。研究发现,低钾条件下施加生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时,根系和叶片钾素浓度均达到最大值,说明低钾条件下通过适当添加外源生长素可以提高烟株整株的钾含量,而生长素同样也影响着烟株钾素的累积分布。而在正常供钾条件下,施加外源生长素以后,根系和叶片中的钾素浓度均表现为不同程度的降低,这可能与其内源生长素浓度的变化有关,其机理还需进一步研究探讨。

用根系钾吸收动力学参数更能进一步定量描述植株根系对养分的吸收情况。 V_{max} 值越大,表示植株对钾离子的吸收速率越大,对钾离子的吸收能力越强, K_m 越小,表示对钾离子的亲和力越高。结果表明(表 4),正常供钾情况下,在生长素浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时,烟株的 V_{max} 表现最大,高达生长素浓度为 $0 \mu\text{mol/L}$ 时的 2.26 倍; K_m 则表现为持续降低趋势,这可能是由于苗龄的影响。低钾情况下,当生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时烟株 V_{max} 值最大而 K_m 值最小,表示对钾离子的吸收和亲和力最强。由上可知,无论正常供钾还是低钾条件下,施加适当浓度的生长素可以提高植株对钾离子的吸收能力,进而提高植株钾含量。

同时,本研究进一步分析了烟草相关的钾离子吸收转运关键基因 *NKT2*、*NtKCI*、*Ntork1* 的表达情况。*NKT2* 主要负责参与转运 K^+ 的作用,它能调控韧皮部细胞膜电压,和 *NKT1* 基因一起分担叶内细胞 K^+ 的渗透。本试验中,无论根系还是叶片,低钾水平下 *NKT2* 的相对表达量整体高于正常供钾水平下。正常供钾水平下,在外源生长素浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时,根系和叶片中 *NKT2* 的相对表达量最高,说明适当添加了生长素后对提高钾素的运输来说还是有利的,低钾条件下也几乎符合此规律。拟南芥中的 *AtKCI* 基因主要在根毛区和根的内皮层中表达,是根毛钾离子吸收通道的重要组成单位,本试验中,正常供钾情况下在外源生长素浓度为 $20 \mu\text{mol/L}$ 时各部位

NtKCI 的相对表达量最高, 而低钾情况下在外源生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 最高, 说明在不同的钾水平下, 可添加不同的生长素来提高根系钾素运输。*Ntork1* 基因主要在叶片保卫细胞和根表皮木质部薄壁细胞中表达, 属于外流型钾离子通道, 本试验中无论正常供钾还是低钾, 其表达量均在外源生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的最低, 因为其属于外流型钾离子通道, 所以说明在正常和低钾条件下添加 10 $\mu\text{mol/L}$ 的外源生长素可有效抑制钾离子的外流, 从而提供烟株体内钾离子浓度。

植物对 K^+ 的吸收通过高亲和系统[低外部 K^+ 浓度 (1~200 $\mu\text{mol/L}$), 通过钾转运蛋白主动运输]和低亲和系统[高外部 K^+ 浓度 (1~10 mmol/L), 通过钾离子通道被动运输]进行。本试验主要研究低钾胁迫即高亲和系统, 钾离子通道是钾离子吸收的其中一个途径。孙小茗^[30]研究表明, 在外源 K^+ 浓度为 5 mmol/L 时, 将通道抑制后, K^+ 的跨细胞膜转移过程有很大一部分是通过载体蛋白组成的高亲和转运系统来完成的。其研究发现, 当同时添加通道抑制剂 TEA 和载体抑制剂 NEM 后, 植物仍然可以吸收部分钾, 而且这种情况随介质中钾离子浓度的增加而更趋明显, 这种途径很可能就是非选择性离子通道 (NSCCs)^[31-32]。说明植株对钾离子的吸收不只是局限于已知的两种机制, 且目前对于烟草钾转运蛋白的研究较少, 尚不成熟, 而对钾离子通道的研究日趋完善, 所以本试验对钾离子通道的测定研究具有一定的参考价值和研究意义。

4 结论

1) 在未添加外源生长素条件下, 与正常供钾处理相比, 低钾胁迫可明显抑制植株根系生长发育及对钾素的吸收累积。

2) 当施用外源生长素以后, 随着生长素浓度的升高, 正常供钾和低钾植株的根系干重、根系活力、主根尖及侧根尖内源生长素浓度均有增加的趋势, 且钾吸收动力学参数 V_{max} 值和 *NKT2* 和 *NtKCI* 的表达量明显增加。其中低钾植株根系生长状况明显改善, 地上地下部钾素浓度提高, *Ntork1* 的表达量降低。

3) 无论正常供钾或是低钾, 当添加外源生长素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 可明显改善植株根系的生长发育, 提高内流型通道基因 *NKT2* 和 *NtKCI* 的表达量, 降低外流型通道基因 *Ntork1* 的表达量, 提高烟

株对钾离子的吸收能力与亲和力, 从而增加植株钾含量。

参 考 文 献:

- [1] Schachtman D P, Shin R. Nutrient sensing and signaling: nPKS[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2007, 58: 47-69.
- [2] Leigh R A, Wyn Jones R G A. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and function of this ion in the plant cell[J]. *New Phytologist*, 1984, 97: 1-13.
- [3] Clarkson D T, Hanson J B. The mineral nutrition of higher plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980, 31: 239-298.
- [4] Barber S A. Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach[M]. New York: John & Wiley Sons, Inc., 1995.
- [5] Schroeder J I, Ward J M, Gassmann W. Perspectives on the physiology and structure of inward rectifying K^+ channels in higher plants: biophysical implications for K^+ uptake[J]. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 1994, 23: 441-471.
- [6] Kim M J, Ciani S, Schachtman D P. A peroxidase contributes to ROS production during Arabidopsis root response to potassium deficiency[J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(2): 420-427.
- [7] Kim M J, Ruzicka D, Shin R, et al. The Arabidopsis AP2/ERF transcription factor RAP2. 11 modulates plant response to low-potassium conditions[J]. *Molecular Plant*, 2012, 5(5): 1042-1057.
- [8] Xu J, Li H D, Chen L Q, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates K^+ transporter *AKT1* in Arabidopsis[J]. *Cell*, 2006, 125(7): 1347-1360.
- [9] Muday G K, Rahman A, Binder B M. Auxin and ethylene: collaborators or competitors?[J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17: 181-195.
- [10] 郭丽琢, 张福锁, 李春俭. 打顶对烟草生长、钾素吸收及其分配的影响[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(7): 819-822.
Guo L Z, Zhang F S, Li C J. Effects of decapitation on growth, uptake and distribution of potassium in tobacco[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(7): 819-822.
- [11] 洪丽芳, 付春波, 苏帆. 生长素对烟株中钾的分配和积累的影响[J]. *作物学报*, 2003, 29(3): 457-461.
Hong L F, Fu C B, Su F. Effect of auxin on the potassium distribution and accumulation in flue-cured tobacco[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2003, 29(3): 457-461.
- [12] Dai X Y, Su Y R, Wei W X, et al. Effects of top excision on the potassium accumulation and expression of potassium channel genes in tobacco[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(1): 279-289.
- [13] 杨铁钊, 夏巍, 范进华. 不同供钾水平下烟草钾积累特性研究[J]. *河南科学*, 2005, 23(3): 375-378.
Yang T Z, Xia W, Fan J H. Study on characteristic of potassium accumulation of tobacco under different potassium levels[J]. *Henan Science*, 2005, 23(3): 375-378.
- [14] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [15] 杨铁钊, 杨志晓, 聂红资, 等. 富钾基因型烤烟的钾积累及根系生理特性[J]. *作物学报*, 2009, 35(3): 535-540.

- Yang T Z, Yang Z X, Nie X Z, *et al.* Potassium accumulation and root physiological characteristics of potassium-enriched flue-cured tobacco genotypes[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(3): 535–540.
- [16] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
Zou Q. Experimental guidance of plant physiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [17] 何钟佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993.
He Z P. Crop chemical control experiment guide[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1993.
- [18] 王瑞新, 韩富根, 杨素勤, 等. 烟草和烟气化学分析[M]. 郑州: 河南科技出版社, 1996.
Wang R X, Han F G, Yang S Q, *et al.* Analysis method for tobacco chemical quality[M]. Zhengzhou: Henan Science & Technology Press, 1996.
- [19] 李廷轩, 马国瑞. 籽粒富钾基因型的根系形态和生理特性[J]. 作物学报, 2004, 30(11): 1145–1151.
Li T, Ma G. Physiological and morphological characteristics of roots in grain amaranth genotypes enrichment in potassium[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2004, 30(11): 1145–1151.
- [20] 蒋廷惠, 郑绍建, 石锦芹, 等. 植物吸收养分动力学研究中的几个问题[J]. *植物营养与肥料学报*, 1995, 1(2): 11–17.
Jiang T H, Zheng S J, Shi J Q, *et al.* Several considerations in kinetic research on nutrients uptake by plants[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1995, 1(2): 11–17.
- [21] 黄建国, 杨邦俊, 袁玲. 小麦不同品种吸收钾离子的动力学研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 1995, 1(1): 38–43.
Huang J G, Yang B J, Yuan L. Kinetics of K⁺ absorption by various wheat varieties[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1995, 1(1): 38–43.
- [22] 代晓燕, 郭春燕, 王海波, 等. 钾肥施用方式对豫西烤烟钾含量及产质量的影响[J]. *中国烟草学报*, 2012, 18(3): 42–49.
Dai X Y, Guo C Y, Wang H B, *et al.* Effects of potassium fertilization modes on potassium content, yields and quality of flue-cured tobacco leaves in western Henan province[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2012, 18(3): 42–49.
- [23] 代晓燕, 郭春燕, 刘国顺, 等. 钾肥不同追施时期对烤烟品质和产量的影响[J]. *浙江农业学报*, 2014, 26(2): 421–426.
Dai X Y, Guo C Y, Liu G S, *et al.* Effects of different topdressing periods of potassium fertilization on quality and yields of flue-cured tobacco[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2014, 26(2): 421–426.
- [24] 代晓燕, 苏以荣, 魏文学, 等. 打顶对烤烟植株钾素代谢和钾离子通道基因表达的影响[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(3): 854–861.
Dai X Y, Su Y R, Wei W X, *et al.* Effects of topping on potassium metabolism and expression of potassium channels in tobacco plants[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(3): 854–861.
- [25] 刘世亮, 杨素勤, 刘芳, 等. 植物生长调节剂对烟草生长发育及钾素吸收与分配影响研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2008, 26(2): 106–110.
Liu S L, Yang S Q, Liu F, *et al.* Effects of plant growth regulators on tobacco growth and development and potassium absorption and distribution[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2008, 26(2): 106–110.
- [26] Dubrovsky J G, Sauer M, Napsucially-Mendivil S, *et al.* Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(25): 8790–8794.
- [27] 王晓光, 曹敏建, 王伟, 等. 钾对大豆根系形态与生理特性的影响[J]. *大豆科学*, 2005, 24(2): 126–129.
Wang X G, Cao M J, Wang W, *et al.* Effects of potassium concentration in the soil on the morphological and physiological characteristics of soybean root[J]. *Soybean Science*, 2005, 24(2): 126–129.
- [28] 我国玉米品种更替过程中根系生理特性的演进 I. 根系活性与 ATPase 活性的变化[J]. *作物学报*, 2002, 28(2): 185–189.
Wang K, Dong S, Hu C, *et al.* The evolution of physiological characteristics of maize root during varieties replacing in China, 1950s to 1990s I. Changes of root vigor & ATPase activity[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2002, 28(2): 185–189.
- [29] Ma T L, Wu W H, Wang Y. Transcriptome analysis of rice root responses to potassium deficiency[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12(1): 161.
- [30] 孙小茗. 钾离子跨细胞膜吸收过程受铵影响的机理探讨[D]. 江苏扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2006.
Sun X M. Mechanism of potassium ion absorption in the process of cell membrane absorption by ammonium[D]. Yangzhou, Jiangsu: MS Thesis of Yangzhou University, 2006.
- [31] Tyerman S, Skerrett M, Garrill A, *et al.* Pathways for the permeation of Na⁺ and Cl⁻ into protoplasts derived from the cortex of wheat roots[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48(suppl. 1): 459–480.
- [32] Demidckik V, Davenport R J, Tester M. Nonselective cation channels[J]. *Annual Review Plant Biology*, 2002, 53: 67–107.