

综述与专论

植物中的氯、氯通道和耐氯性^①

於丙军^② 刘友良

(南京农业大学生命科学学院 南京 210095)

摘要 本文介绍了氯(Cl)在自然界的存在形式, Cl与植物生长发育的关系及植物对Cl⁻的吸收和运输机制。概述了Cl⁻通道和Cl⁻通道蛋白(CLCs)的种类与特点。探讨了不同植物对Cl⁻亏缺、过量的不同响应及植物耐Cl⁻的可能生理和分子生物学机制。

关键词 氯, 氯通道, 植物耐氯性

Chlorine, Chloride Channel and Chlorine Tolerance in Plants

YU Bing-Jun^② LIU You-Liang

(College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract In present paper, the natural existing forms of chlorine (Cl), the relationship between chloride and plant growth and development, and the mechanisms of chloride anion absorption and transportation in plants were introduced. The kinds and characteristics of Cl⁻ channels and CLCs proteins were reviewed. The responses of plants to Chlorine deficiency and excessiveness, the possible physiology and molecular biological mechanisms of Chlorine tolerance in plants were also discussed.

Key words Cl, Chloride channel, Plant Cl tolerance

作物产量潜力不能充分发挥的主要原因是非生物逆境的伤害, 其中盐化引起的伤害是限制作物生长和产量提高的重要因子(Boyer, 1982)。盐胁迫使植物生长受抑制, 光合下降, 能耗增加, 衰老加速, 植物产量下降或最终因碳饥饿而死亡。植物盐害主要包括离子毒害、渗透胁迫和营养不平衡三个方面(刘友良和汪良驹, 1998)。一般认为NaCl是造成盐害的主要物质。离子毒害主要涉及Na⁺和Cl⁻, 维持细胞内渗透调节、离子稳态(ion homeostasis)和降低植株地上部Na⁺和Cl⁻浓度是一般植物盐适应的重要机理(Niu *et al.*, 1995; Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Serrano and Rodriguez-Navarro, 2001)。然而, 迄今对植物耐盐机理的生理和分子生物学的研究大都集中在Na⁺胁迫上, Na⁺进入细胞质和液泡主要受质膜及液泡膜上Na⁺/H⁺ antiporter所调节,

①瑞典国际科学基金(IFS)(C/3143-1)和江苏省自然科学基金(BK2001070)资助。

②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: bjyu@njau.edu.cn

收稿日期: 2003-05-21 接受日期: 2003-07-15 责任编辑: 崔郁英

其动力来源于质膜 H^+ -ATPase、液泡膜 H^+ -ATPase、 H^+ -PPase水解ATP和PPi产生的质子驱动力(proton motive force, PMF)(Maathuis and Amtmann, 1999; Blumwald *et al.*, 2000; Maeshima, 2001; Shi *et al.*, 2001)。人们对 Cl^- 胁迫的研究则很少,原因可能是Na作为植物非必需元素,而Cl是作为植物必需元素。一般植物对Na较Cl胁迫更敏感,如棉花(*Gossypium hirsutum*)、水稻(*Oryza sativa*)和大麦(*Hordeum vulgare*)等。但大豆(*Glycine max*)所受的Cl胁迫大于Na胁迫(Parker *et al.*, 1983; Pantalone *et al.*, 1997; Luo *et al.*, 2002)。Cl虽然是植物必需的微量元素之一,但在盐胁迫下其含量远超过植物正常生长所需。因此,盐胁迫下植物对 Cl^- 胁迫的响应和耐氯性与 Na^+ 胁迫一样,应受到高度重视和深入研究。这对全面揭示植物的耐盐机理、提高植物耐盐性、盐渍土生物改良和环境净化都具有十分重要的学术意义和实践价值。

1 植物中的氯(Cl)

1.1 自然界中Cl的存在形式

Cl作为卤族元素之一,在自然界中主要有 ^{35}Cl 和 ^{37}Cl 两种天然同位素形式,含量分别占其总量的75.77%和24.23%。土壤中的Cl主要以无机 Cl^- 形式存在,不易形成复合物,其移动速率在很大程度上取决于水流的快慢。相比较而言,有机形式的Cl则很少。此外,它还有放射性同位素形式—— ^{36}Cl ,主要由自然和人为两方面因素产生。前者涉及大气中 ^{40}Ar 宇宙射线的蜕变,岩石和土壤表面Cl、Ca、K与宇宙射线的相互作用, ^{35}Cl 被自然界产生的热中子(thermal neutron)的表面活化;后者则包括核爆炸及核工业生产废料等。 ^{36}Cl 释放的 β -射线能量较低,但其半衰期却长达 3.01×10^5 年,且很容易进入生物有机体和食物链。一般认为它是构成环境污染的成分之一,对人体健康有害。如何减少植物可食用器官中 ^{36}Cl 的含量,在人们更加重视身体健康的今天,也是值得关注和研究的课题。

1.2 Cl与植物生长的关系

Cl是高等植物生长发育所必需的重要微量元素之一(在1954年被国际上公认),植物体内的Cl也主要以 Cl^- 形式存在, Cl^- 与 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} 一并被认为是植物细胞胞质和液泡中的主要矿质阴离子(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)。它在光合作用水的光解过程中起活化剂作用,根和叶的细胞分裂也需之参与。土壤中的Cl元素主要来自于雨水、海水倒灌、工业(尤其是核工业)垃圾和空气污染等。灌溉的盐水中 Cl^- 浓度介于 $2 \sim 30 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ 之间,即使用一般淡水灌溉,每年每公顷土壤面积也可沉积1 000 kg左右的Cl元素。 Cl^- 参与细胞和液泡内外的渗透调节和膨压维持,还调节细胞质中一些酶的活性。甚至还有学者是把它比作是植物细胞中主要的与阳离子抗衡的阴离子(counter anion),它在细胞内外的流动直接决定了胞内外pH梯度、膜电势和相关电生理过程的变化(White and Broadly, 2001)。

1.3 植物对 Cl^- 的吸收和运输

相比 Na^+ 而言,人们对细胞吸收 Cl^- 及其在液泡中区域化分配的机制了解较少。研究表明, Cl^- 同植物吸收的其他矿质元素一样,也是由共质体(主动和被动两种方式)和质外体(被动方式)两条途径进入根细胞并向其木质部运输的,其中共质体途径占主导地位。植物体内 Cl^- 的主动转运(Cl^- 浓度低时)和被动转运(Cl^- 浓度高时)过程受 Br^- 竞争性抑制,对 NO_3^- 和DIDS (4,4'-diisothiocyanostibene-2, 2'-disulfonic acid)也敏感,呼吸过程中氧化磷酸化解偶联剂(如迭氮化钠、氰化物、磷酸盐和2,4-二硝基酚等)和缺氧也表现抑制作用,但受 NH_4^+ 促进(White and Broadly,

2001)。不过,关于植物细胞吸收和液泡中积累 Cl^- 的内在机制,由于细胞质膜存在内负外正的膜电势($-100 \sim -150 \text{ mV}$),构成 Cl^- 吸收的热力学障碍(Niu *et al.*, 1995),一般认为 Cl^- 进入细胞需依赖质膜上运输蛋白($\text{Cl}^-/2\text{H}^+$ symporter)或借助于阴离子(Cl^-)通道才能完成。 Cl^- 进入液泡常与其膜上质子泵 H^+ -ATPase和 H^+ -PPase驱动的 H^+ 跨膜转运相伴随,并通过其膜上的 Cl^-/H^+ antiporter来完成,或通过阴离子(Cl^-)通道来实现(Hasegawa *et al.*, 2000; White and Broadly, 2001)。通过这些途径可完成 Cl^- 的共质体运输(绕过凯氏带), Cl^- 由中柱进入木质部或木质部装载(xylem loading)需经过木质部薄壁细胞质膜上3种 Cl^- 通道(即X-SLAC、X-QUAC和X-IRAC)(图1)。Köhler和Raschke(2000)在大麦(*Hordeum vulgare* L.)上的研究显示,X-QUAC在 Cl^- 木质部装载过程中起突出作用。

植物根系吸收的 Cl^- 通过木质部向地上部(茎)运输,并通过韧皮部在组织间重新分配。在蓖麻(*Ricinus communis*)、羽扇豆(*Lupinus albus*)、玉米(*Zea mays*)和千金子(*Leptochloa fusca*)等植物中的研究表明,在低盐($128 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$)胁迫下,植物根和茎中积累近等量的 Cl^- , Cl^- 的运输和分配取决于根/茎比值;在高盐($400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$)胁迫下,根中积累的 Cl^- 未见明显增加,但向地上部的运输大大加强,不过两种情况下,植物木质部和韧皮部中的 Cl^- 含量之比均约为

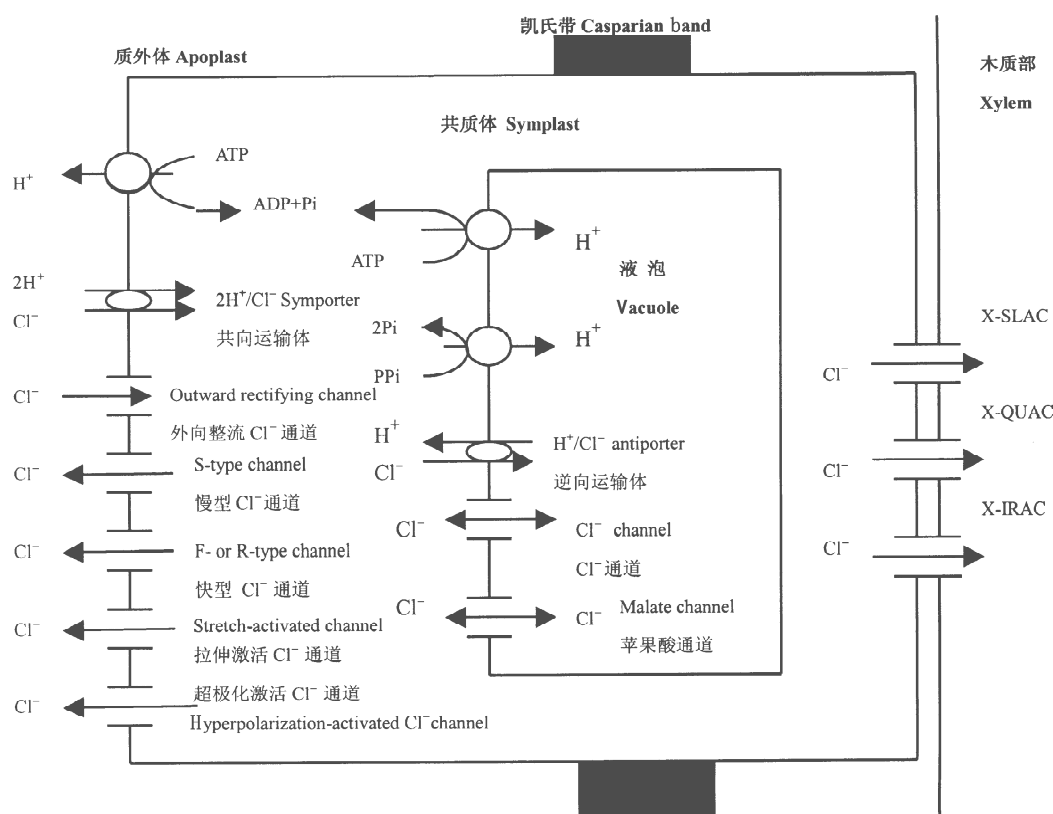


图1 植物根细胞内 Cl^- 跨膜转运和木质部装载示意图(White and Broadly, 2001)

Fig.1 Sketch map of Cl^- transport across root cell membranes and xylem loading in plants
X-SLAC. Xylem-slowly activating anion conductance; X-QUAC. Xylem-quickly activating anion conductance;
X-IRAC. Xylem-inwardly rectifying anion channel

5:1(White and Broadly, 2001)。

2 植物Cl⁻通道(chloride channels, CLCs)

离子通道(ion channels)在盐逆境下植物细胞内盐离子的跨膜转运、区隔化分配、渗透调节、信号转导、膜电势和细胞体积控制等过程中发挥着极其重要的作用。不过,这方面有关阳离子通道的研究较多,如控制植物K⁺跨膜运输的K⁺通道就有KAT、AKT和KCO三大家族(Czempinski *et al.*, 1999; Zimmermann and Sentenac, 1999),控制细胞第二信使物质之一的Ca²⁺进出细胞和液泡的Ca²⁺通道(Barkla and Pantoja, 1996)。阴离子通道,特别是Cl⁻通道,人们在植物上的探索较细菌、酵母和哺乳动物起步要晚。一般认为,它的具体功能涉及细胞膨压和渗透调节、离子稳态、胞内pH、气孔运动、营养物质运输、金属耐性和信号识别与转导等诸多方面(Hechenberger *et al.*, 1996)。近年来的研究表明,Cl⁻通道在植物细胞的质膜、液泡膜、内质网膜、线粒体膜(White and Broadly, 2001)、叶片的叶绿体被膜(Heiber *et al.*, 1995)和内囊体膜(Schönknecht *et al.*, 1988)上都有存在。

2.1 植物Cl⁻通道的种类

2.1.1 质膜Cl⁻通道 根据其电压依赖性的特点,可将其分成去极化激活(depolarization-activated)和超极化激活(hyperpolarization-activated)两大类(White and Broadly, 2001)。前者如气孔保卫细胞质膜上的快激活型(F-或R-type)、慢激活型(S-type)和拉伸激活型(stretch-activated)通道;在植物下胚轴和胚芽鞘细胞质膜上鉴定出的R-type、S-type和蓝光激活型(blue-light activated)通道(Cho and Spalding, 1996);根木质部薄壁细胞X-SLAC、X-QUAC和外向整流(outward rectifying或OR)阴离子通道等。它们的抑制剂有DIDS、NPPB、Nif(niflumic acid)和IAA-94等。后者如叶肉细胞上的Cl⁻通道、根木质部薄壁细胞的X-IRAC和萝卜悬浮培养细胞的拉伸激活通道等,抑制剂有Zn²⁺、ABA和EA等(Schauf and Wilson, 1987)。

2.1.2 液泡膜Cl⁻通道 植物细胞液泡中可积累高达500 mmol·L⁻¹的Cl⁻,液泡膜Cl⁻通道在此方面就发挥非常重要的作用。迄今为止,通过荧光标记染料(Wissing and Smith, 2000)和电生理技术(如膜片钳技术)在液泡膜上发现的阴离子通道主要有两类,即Cl⁻通道(V_{cl})和苹果酸(malate)通道(V_{mal})。两者均属内向整流型(inward rectifying)通道,但V_{cl}形成的E_{cl}值较V_{mal}形成的E_{mal}更低(Krol and Trebacz, 2000)。V_{cl}主要通透Cl⁻,也允许苹果酸根离子通过,但谷氨酸盐不能。它受胞质Ca²⁺激活(Berecki *et al.*, 1999),具体机制是通过ATP存在条件下CDPK(calmodulin domain protein kinase)的激活,但受Nif抑制,与一般阴离子通道不同,却不受DIDS抑制(White and Broadly, 2001)。V_{mal}在CAM植物、盐生植物和模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等植物中均已发现。它受苹果酸激活,但不受胞质Ca²⁺和ATP浓度的影响(Krol and Trebacz, 2000),对其他有机酸阴离子(如琥珀酸盐、延胡索酸盐、醋酸盐和草酸乙酸盐等)和无机阴离子(如NO₃⁻、H₂PO₄⁻和Cl⁻)也表现通透性(White and Broadly, 2001)。苹果酸是植物细胞中最丰富的有机酸,在液泡中同Cl⁻一样,呈现区域化积累,也发挥渗透调节的功能(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)。

2.1.3 其他Cl⁻通道 植物线粒体膜的阴离子转运主要受其阴离子(Cl⁻)通道控制,该通道又受线粒体内介质H⁺浓度和pH值调控(Krol and Trebacz, 2000)。植物叶绿体内膜上Cl⁻通道允许Cl⁻、NO₃⁻和NO₂⁻透过,但SO₄²⁻和H₂PO₄⁻不能,且对DIDS和NEM不敏感(Heiber *et al.*, 1995; Fuks and Hombl, 1999)。叶绿体内囊体膜上的电压依赖性Cl⁻通道驱动Cl⁻跨膜进入内囊体内部,可

能主要起到平衡和补偿光驱动的 H^+ 跨膜转运的作用(Schönknecht *et al.*, 1988; Krol and Trebacz, 2000)。

2.2 Cl^- 通道(CLCs)的分子生物学研究

Jentsch 等(1990)用爪蟾(*Xenopus*)卵母细胞基因表达技术在石纹电鳗(*Torpedo marmorata*)中分离到第一个CLC家族蛋白(CLC-O),之后在细菌、酵母和哺乳动物上都有新成员发现,统称电压依赖性(voltage dependent) Cl^- 通道(CLCs)基因家族。已在哺乳动物(如老鼠)上发现9种CLC通道蛋白,据其同源性程度的大小,可分成3个亚类,分别命名为CLC-K1、CLC-K2、CLC-1和CLC-2(亚类1),CLC-3、CLC-4和CLC-5(亚类2),CLC-6和CLC-7(亚类3) (Hechenberger *et al.*, 1996)。在*Caenorhabditis elegans*杂志上报道的有CAEEL、CAEEL1、CAEEL2和CAEEL3,在啤酒糖酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中报道的ScCLC(早期取名为GEF1),分别在大肠杆菌(*Escherichia coli*)和*Synechocystis* sp.中发现的Ec-CLC和Cyano-CLC等(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)。在植物方面,Hechenberger等(1996)从拟南芥中克隆到4个CLC家族成员,即AtCLCa、AtCLCb、AtCLCc和AtCLCd,并首次将其基因作为表达序列标签(expressed sequence tags, EST),其中AtCLCa和AtCLCb同源性较高,可达87%左右,它们与AtCLCc和AtCLCd的同源性只有约50%。Lurin等(1996)在烟草(*Nicotiana tabacum*)中鉴定到2个CLC成员(CLC-Nt1和CLC-Nt2)。此外,还有在马铃薯(*Solanum tuberosum*)中发现的StCLC(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)。上述CLCs家族蛋白之间的同源性关系如聚类分析图2所示。值得注意的是,所有的植物CLCs蛋白都属于同一大分枝。拓扑学的研究表明,CLC通道一般由10~12个跨膜结构域(domains)组成,N-末端和C-末端位于细胞质一侧,通常以二聚体双孔形式存在。在结构域D2和D3及D5和D6的连接部位存在CLC的3个保守序列(GxGxPE、GKxGPxxH和PxxGxLF),被认为与通道的阴离子选择性有关(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000; White and Broadly, 2001)。

在植物CLCs蛋白的功能研究方面,爪蟾卵母细胞是常用的研究材料。将烟草CLC-Nt1或CLC-Nt2导入此卵母细胞并表达,可诱导细胞膜上出现超极化激活的受胞外阴离子调节和 Ca^{2+} 阻断的内向 Cl^- 电流,但由于这种诱导的电流不具备依赖烟草CLC蛋白的特异性,所以其真正的功能还有待于进一步研究(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)。Hechenberger等(1996)把拟南芥的AtCLCa、AtCLCb、AtCLCc、AtCLCd的cDNA单个或集中注射到*Xenopus*卵母细胞中,并通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记证明它们的表达,但均未检测到诱导的 Cl^- 电流,虽然AtCLCd与GFP的融合标记实验证明,AtCLCd可能是位于细胞内高尔基体膜上的 Cl^- 通道。AtCLCc(Gaxiola *et al.*, 1998)和AtCLCd (Hechenberger *et al.*, 1996)还可在酵母的ScCLC(或gef1)突变株细胞中表达,并可取代其ScCLC(或GEF1)蛋白发挥恢复生长等作用。但由于人们对ScCLC的了解还不深入,所以拟南芥CLC蛋白的功能至今尚不明确。通过Western Blot和免疫细胞化学的方法,对植物CLC蛋白进行细胞内定位研究可能会获得有益的启示。

3 植物对 Cl^- 胁迫的响应

3.1 植物对 Cl^- 亏缺的响应

Cl^- 作为植物必需的微量矿质元素之一,在无 Cl^- 的介质中植物生长受抑制。缺 Cl^- 症状发生的 Cl^- 临界浓度是 $0.03\sim 17\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (即 $0.1\sim 5.7\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$)。其典型症状是叶片生长变慢,呈萎蔫状,随后发黄并显烫金色,最后坏死;根变短,根尖变粗,侧根发育停止(White and Broadly,

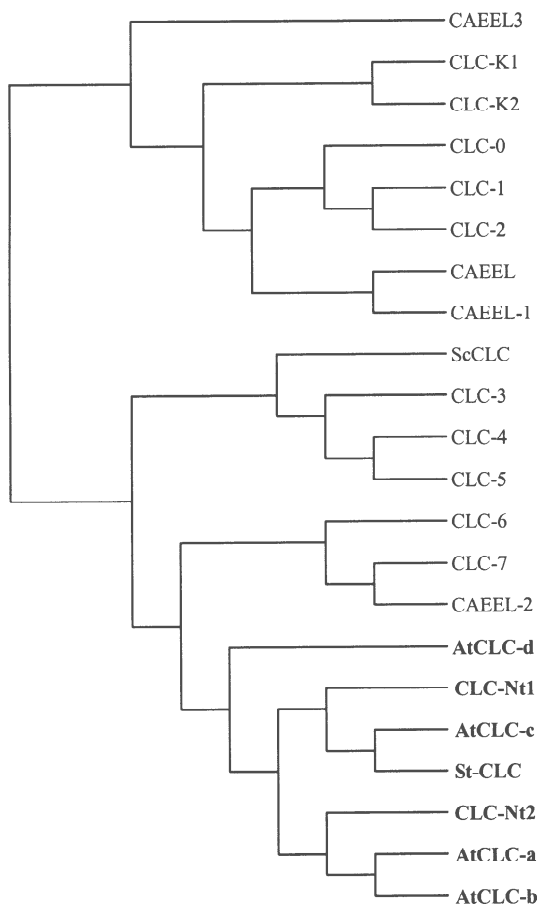


图2 CLC 家族蛋白同源关系的树形图(植物 CLC 蛋白以黑体字表示)(Barbier-Brygoo *et al.*, 2000)

Fig.2 Dendrogram for some proteins of the CLC family(Plant CLCs are represented in boldface)

2001)。由于植物对Cl的需要量较低,土壤中的Cl量一般都可满足植物生长的需求,因此,缺Cl症状仅在实验室条件下方能观察到,而生长在田间的植物不会发生此症状。

3.2 植物对Cl⁻过量的响应

相对Cl⁻亏缺而言,土壤中Cl过量而造成的Cl毒害则是植物经常面临的问题,尤其是在盐(NaCl)胁迫下。根据植物对Cl⁻过量的忍受能力,Green和Munns(1980)把植物分成4类:(1)极端盐生植物(extreme halophytes),其生长受过量Cl⁻促进,如海滨碱蓬(*Sueda maritima*),大洋洲滨藜(*Atriplex nummularia*);(2)一般盐生植物,其生长仅在外界介质Cl⁻浓度达200 mmol·L⁻¹时略受影响,如戟叶滨藜(*Atriplex hastata*)和大米草(*Spartina* spp.)等;(3)在外界介质Cl⁻浓度达100 mmol·L⁻¹时生长才受到影响的植物,包括部分盐生植物,如紫羊茅(*Festuca rubris*)和碱茅(*Puccinella peisonis*)等,淡土植物(glycophytes),如棉花(*Gossypium hirsutum*)、大麦、大豆等;(4)敏感淡土植物,如柑橘(*Citrus*)等木本植物,禾谷类和果蔬类作物。对Cl敏感植物和耐Cl植物组织中临界Cl浓度分别为4~7 mg·g⁻¹DW和15~50 mg·g⁻¹DW。叶片焦枯(leaf scorch)是植物遭受Cl毒害时的典型症状(Parker *et al.*, 1983)。

3.3 植物对Cl⁻耐受

NaCl胁迫下,不同植物体内积累Cl⁻的能力差异很大。盐生植物体内可积累的Cl⁻浓度高达340~475 mmol·L⁻¹,这非常有利于盐逆境下的渗透调节和膨压维持。而淡土植物体内积累的Cl⁻则要低很多,一般只有7~70 mmol·L⁻¹。淡土植物耐氯性的强弱与耐钠性一样,也取决于其根系吸收的Cl⁻的区域化分配和限制Cl⁻向地上部运输的能力的高低。这在小麦(*Triticum aestivum* L.)、大麦和大豆(於丙军等, 2003)等许多淡土植物中都已得到证实。盐胁迫降低植物的光合作用。Bethke和Drew(1992)研究表明,Cl⁻浓度与光合抑制的相关性(R²=0.926)较Na⁺更明显。因此,减少盐离子特别是Cl⁻在光合细胞中积累,有利于提高植物抗盐(氯)性。Huang和Steveninck(1989)报道,在NaCl胁迫下,在较耐盐的大麦植株中,Cl⁻主要积累于叶鞘而不是叶片中,叶片表皮细胞中的Cl⁻浓度明显高于叶肉细胞,两者相差可达近30倍,而Na⁺在不同组织细胞间分配

的不均一性就没有 Cl^- 明显。这样可尽量减轻 Cl^- 对叶片光合作用的抑制。 Cl^- 在液泡中的区域化也是植物耐NaCl胁迫的重要方式(Niu *et al.*, 1995)。

Abel (1969)就发现大豆叶片和茎杆排氯和吸氯特性受一对单基因控制,其中排氯为显性基因(*Ncl*)控制,吸氯为隐性基因(*ncl*)控制。邵桂花等(1994)利用耐盐品种和盐敏感品种的杂交试验表明,大豆耐盐性受一对基因控制,耐盐为显性,盐敏感为隐性,属核遗传。使用 Cl^- 通道的cDNA探针,对盐生野大豆BB52种群和非盐生野大豆N23232种群幼苗根和叶的mRNA进行Northern杂交的结果显示,盐胁迫下BB52根和叶中该基因的表达较N23232均有明显的增强(未发表资料)。

4 结语

Cl^- 作为植物必需的重要微量矿质元素,对植物正常的生长和发育过程起着非常重要的作用。但NaCl胁迫下,土壤中的 Cl^- 含量会超过植物的正常需求,对植物产生毒害作用,导致生长受抑,产量下降,特别是 ^{36}Cl 进入食物链后,还严重威胁人类的健康。因此,研究不同植物对 Cl^- 的吸收、运输、分配机制乃至植物耐氯性的生理和分子生物学机理,就显得日趋重要和迫切。相比 Na^+ 胁迫而言,人们现在对质膜 $\text{Cl}^-/2\text{H}^+$ symporter和 Cl^- 通道、液泡膜 Cl^-/H^+ antiporter和 Cl^- 通道的了解还很少, Cl^- 在液泡中的区域化的机制尚不清楚,NaCl胁迫下上述转运蛋白的基因表达和活性的变化及其与植物耐氯性之间的关系更未见研究。这些都是今后应深入研究的课题。相信经过科学家们的不断努力,我们会朝着植物耐氯性的遗传工程和化学调控及环境净化目标不断迈进。

参 考 文 献

- 刘友良, 汪良驹, 1998. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性. 见: 余叔文, 汤章城主编. 植物生理与分子生物学, 第二版. 北京: 科学出版社, 752~769
- 邵桂花, 常汝镇, 陈一舞, 闫淑荣, 1994. 大豆耐盐性遗传的研究. 作物学报, 20: 721~726
- 於丙军, 罗庆云, 刘友良, 2003. NaCl胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内离子的再转运. 植物生理与分子生物学学报, 29: 39~44
- Abel G H, 1969. Inheritance of the capacity for chloride inclusion and chloride exclusion by soybeans. *Crop Sci*, 9: 697~698
- Barbier-Brygoo H, Vinauger M, Colcombet J, Ephritikhine G, Frachisse J M, Maurel C, 2000. Anion channels in higher plants: functional characterization, molecular structure and physiological role. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 199~218
- Barkla B J, Pantoja O, 1996. Physiology of ion transport across the tonoplast of higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 47: 159~184
- Berecki G, Varga Z, van Duijn B, Duijn B, 1999. Anion channels in *Characorrallina* tonoplast membrane: calcium dependence and rectification. *J Membrane Biol*, 172: 159~168
- Bethke P C, Drew M C, 1992. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity. *Plant Physiol*, 99: 219~226

- Blumwald E, Aharon G S, Apse M P, 2000. Sodium transport in plant cells. *Biochem Biophys Acta*, **1465**:140~151
- Boyer J S, 1982. Plant productivity and environment. *Science*, **218**:443~448
- Cho M H , Spalding E P, 1996. An anion channel in *Arabidopsis* hypocotyls activated by blue light. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**:8134~8138
- Czempinski K, Gaedeke N, Zimmermann S, Müller-Röber B, 1999. Molecular mechanisms and regulation of plant ion channels. *J Exp Bot*, **50**:955~966
- Fuks B, Homblé F, 1999. Passive anion transport through the chloroplast inner envelope membrane measured by osmotic swelling of intact chloroplasts. *Biochim Biophys Acta*, **1416**:361~369
- Gaxiola R A, Yuan D S, Klausner R D, Fink G R, 1998. The yeast CLC chloride channel functions in cation homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**:4046~4050
- Greeway H, Munns R, 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu Rev Plant Physiol*, **31**:149~190
- Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, Bohnert H J, 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, **51**:463~499
- Hechenberger M, Schwappach B, Fischer W N, Frommer W B, Jentsch T J, Steinmeyer K, 1996. A family of putative chloride channels from *Arabidopsis* and functional complementation of a yeast strain with a *CLC* gene disruption. *J Biol Chem*, **271**: 33632~33638
- Heiber T, Steinkamp T, Hinnah S, Schwarz M, Flüge U I, Weber A, Wagner R, 1995. Ion channels in the chloroplast envelope membrane. *Biochemistry*, **34**:15906~15917
- Huang C X, Steveninck R F M, 1989. Maintenance of low Cl^- concentrations in mesophyll cells of leaf blades of barley seedlings exposed to salt stress. *Plant Physiol*, **90**:1440~1443
- Jentsch T J, Steinmeyer K, Schwarz G, 1990. Primary structure of *Torpedo marmorata* chloride channel isolated by expressing cloning in *Xenopus oocytes*. *Nature*, **348**:510~514
- Köhler B, Raschke K, 2000. The delivery of salts to the xylem. Three types of anion conductance in the plasmalemma of the xylem parenchyma of roots of barley. *Plant Physiol*, **122**:243~254
- Krol E, Trebacz K, 2000. Ways of ion channel gating in plant cells. *Ann Bot*, **86**:449~469
- Lurin C, Geelen D, Barbier-Brygoo H, Guern J, Maurel C, 1996. Cloning and functional expression of a plant voltage-dependent chloride channel. *Plant Cell*, **8**:701~711
- Luo Q Y, Yu B J, Liu Y L, 2002. Stress of Cl^- is stronger than that of Na^+ on *Glycine max* seedling under NaCl stress. *Agricul Sci China*, **1**: 1404~1409
- Maathuis F J M, Amtmann A, 1999. K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K^+/Na^+ ratios. *Ann Bot*, **84**: 123~133
- Maeshima M, 2001. Tonoplast transporters: organization and function. *Annu Rev Plant Phys*, **52**:469~497
- Niu X, Bressan R A, Hasegawa P M, Pardo J M, 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol*, **109**:735~742
- Pantalone V R, Kenworthy W J, Slaughter L H, Jame B R, 1997. Chloride tolerance in soybean perennial *Glycine accessions*. *Euphytica*, **97**:235~239
- Parker M B, Gascho G J, Gaines T P, 1983. Chloride toxicity of soybeans grown on Atlantic coast flatwoods soils.

- Agron J*, 75:439~443
- Schauf C L, Wilson K J, 1987. Properties of single K⁺ and Cl⁻ channels in *Asclepias tuberosa* protoplasts. *Plant Physiol*, **85**:413~418
- Schönknecht G, Hedrich R, Junge W, Raschke K, 1988. A voltage-dependent chloride channel in the photosynthetic membrane of a higher plant. *Nature*, **336**:589~592
- Serrano R, Rodriguez-Navarro A, 2001. Ion homeostasis during salt stress in plants. *Curr Opin Cell Biol*, **13**: 399~404
- Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu J K, 2000. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**: 6896~6901
- White P J, Broadley M R, 2001. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Ann Bot*, **88**: 967~988
- Wissing F, Smith J A C, 2000. Vacuolar chloride transport in *Mesembryanthemum crystallinum* L. measured using the fluorescent dye lucigenin. *J Membrane Biol*, **177**:199~208
- Zhu J K, 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, **6**: 66~71
- Zimmermann S, Sentenac H, 1999. Plant ion channels: from molecular structures to physiological functions. *Curr Opin Plant Biol*, **2**:477~482