

# K<sup>+</sup> 高亲和转运系统吸收动力学特征及其受 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 影响的研究

孙小茗, 封克\*, 汪晓丽

(扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏扬州 225009)

**摘要:** 为探讨钾的高亲和转运系统是否受到铵离子的影响, 采用溶液培养方法研究了水稻、大豆两种作物苗期(16 d)的 K<sup>+</sup> 高亲和转运系统吸收动力学特征及其受吸收液中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的影响。结果表明, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 对 K<sup>+</sup> 吸收的 V<sub>max</sub> 的影响在作物种类间有较大的差异, 水稻受影响显著小于大豆。NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 对供试作物 K<sup>+</sup> 吸收的 K<sub>m</sub> 值影响均很小, 说明 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 对 K<sup>+</sup> 吸收速率的影响主要在于影响了细胞膜上 K<sup>+</sup> 载体的数量而非影响了载体吸收位点与 K<sup>+</sup> 之间的亲和性。

**关键词:** K<sup>+</sup> 高亲和转运系统; 水稻; 大豆; K<sup>+</sup>; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 吸收动力学

**中图分类号:** S565.1; S511; Q945.12

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1008-505X (2007)02-0208-05

## Kinetics of high affinity system for K<sup>+</sup> and effects of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

SUN Xiao-ming, FENG Ke\*, WANG Xiao-li

(*Jiangsu Provincial Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China*)

**Abstract:** The present work focused on the influence of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> on the high affinity transport system (HATS) for K<sup>+</sup>. Hydroponic experiments were carried out to study the uptake kinetics of high affinity transport system for K<sup>+</sup> by rice and soybean seedlings, and of their response to NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. The results indicated that the effect of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> on V<sub>max</sub> of K<sup>+</sup> uptake in rice was significantly lower than that in soybean. The influence of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> on the values of K<sub>m</sub> of both two tested crops was neglected; indicating effects of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> on K<sup>+</sup> uptake are mainly attributed to its influence on the quantity of potassium carriers located at the cell membrane instead of on the affinity of the uptake sites for K<sup>+</sup>.

**Key words:** K<sup>+</sup>-HATS; rice; soybean; potassium; ammonium; uptake kinetics

钾是植物细胞中含量最丰富的阳离子之一, 对生物体具有重要的生理功能。细胞内有 50 多种酶或完全依赖于 K<sup>+</sup>, 或受 K<sup>+</sup> 的激活, 从而提高生化反应的速率<sup>[1]</sup>。钾在细胞内外不同浓度的分布是形成细胞膜跨膜电势差的一个重要原因。钾在维持细胞膨压、调节阴阳离子平衡、增强光合作用、增强植物体内物质合成和转运、提高植物抗性、改善农产品品质、提高储藏性等方面均起着重要作用<sup>[2-3]</sup>。因此, 有关土壤钾素供应和植物对钾素吸收的研究多年来一直是国际和国内植物营养学领域的研究热点。但过去有关植物缺钾的研究较多的是关注不同土壤钾形态之间的转化、矿物组成与钾离子释放间的关系、各种提取方法与植物吸钾间的相关程度等。

近年来, 随着分子生物学研究的不断深入和基因技术在育种工作中的实际运用, 国内外的科学家们正试图从筛选钾高效植物基因型、克隆和转导有关基因的角度解决植物的钾吸收和利用问题<sup>[4-12]</sup>。然而, 环境的变化对基因的表达具有关键性的调控作用。在研究基因的同时, 应该同时了解影响其表达的因素以及影响机理。

人们已知, K<sup>+</sup> 的跨细胞膜转移过程涉及位于细胞质膜上的两类转运蛋白系统, 即由 K<sup>+</sup> 载体蛋白组成的高亲和转运系统和由 K<sup>+</sup> 通道蛋白组成的低亲和吸收系统<sup>[13-14]</sup>。前者在低钾环境下(0.001 ~ 0.2 mmol/L)对钾的吸收起主导作用, 在高钾环境下(1 ~ 10 mmol/L)后者对钾的吸收起主要作用<sup>[15]</sup>。

收稿日期: 2005-11-15 修改稿收到日期: 2006-04-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471031)资助。

作者简介: 孙小茗(1981-), 女, 江苏兴化人, 硕士研究生, 主要从事植物营养生理研究。

\* 通讯作者 Tel: 0514-7979588, E-mail: fengke@yzu.edu.cn

较多报道认为,铵离子与钾离子的吸收之间存在颞颥作用<sup>[16-17]</sup>,铵离子的存在抑制了钾离子的吸收。但这种抑制究竟是通过 K<sup>+</sup>的高亲和转运系统还是低亲和吸收系统,或是通过两者共同实现的还没有明确的报道。此外,铵离子是抑制了转运蛋白的数量还是抑制了蛋白与钾离子之间的亲和性也不清楚。

由于存在着两个不同的 K<sup>+</sup>吸收系统,因此要明确分清 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>对 K<sup>+</sup>吸收的影响机制,就有必要将两个系统分开加以研究。在本研究中,我们通过采用低钾浓度和同时添加通道抑制剂,在排除了低亲和系统吸收(通道转移)的前提下,对具有代表性的禾本科植物中的水稻和豆科植物中的大豆的高亲和系统的吸钾特征以及它们受 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>的影响加以研究,旨在为筛选 K<sup>+</sup>吸收和利用能力强的作物提供参考。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试材准备

试验采用武育粳 7 号水稻 (*Oryza sativa* cv. Wuyujing No. 7) 和辽鲜 1 号大豆 (*Glycine max* cv. Liaoxian No. 1) 两种作物进行。种子先经 1% 的 NaClO 灭菌 30 min, 用自来水冲洗 4~5 次后, 置于 0.2 mmol/L CaSO<sub>4</sub> 溶液中浸泡 24 h。然后将种子捞起, 放在铺有滤纸的塑料器皿中并置于 LRH-250-G 光温培养箱中催芽。3~4 d 后, 将发芽良好且一致的作物幼苗转移到石英砂中, 置于人工气候室内生长, 其间保持每日光照 12 h, 叶面光强 4000 lx, 温度 25 ± 1℃, 相对湿度 80%。生长至 10 d 时, 将幼苗从石英砂中移入电解质为 0.2 mmol/L 的 CaSO<sub>4</sub> 的溶液中进行培养, 6 d 后去除胚乳, 测定根系对 K<sup>+</sup> 的吸收。以上植物材料在离子吸收研究方面称为低盐植物<sup>[17]</sup>。

### 1.2 试验方法

1.2.1 水稻、大豆苗期 K<sup>+</sup> 吸收动力学及其受 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的影响 吸收试验采用浓度梯度法。吸收液中 K<sup>+</sup> 浓度系列为 0.01、0.03、0.06、0.09、0.12、0.15、0.18、0.2 mmol/L, 同时加入特异性低亲和系统通道抑制剂 (TEA) 1 mmol/L, 以完全排除通道系统吸收的影响, 支持电解质为 0.2 mmol/L 的 CaSO<sub>4</sub>, 溶液 pH 均为 6.0。测定时取生长均匀的健壮幼苗, 水稻 6 株为一个测量单位, 大豆每 2 株为一个测量单位, 每种作物共 8 组, 每组包括 3 个测量单位, 即 3 个重复。将作物根系全部浸入 K<sup>+</sup> 系列吸收液中, 溶液体积水

稻为 50 mL, 大豆为 200 mL。在温度 25 ± 1℃、光强 4000 lx 条件下吸收 5 h 后, 取出幼苗立即用吸水纸吸干根外水分, 切除地上部后称取根鲜重。采用火焰光度计测定吸收前后溶液中 K<sup>+</sup> 的浓度。根据吸收前后 K<sup>+</sup> 浓度的变化量, 计算出单位鲜根在单位时间内 K<sup>+</sup> 的净吸收量, 即根系对 K<sup>+</sup> 的净吸收速率。采用 Michaelis-Menten 方程的 Hofstee 转换式, 即  $1/V = K_m/V_{max} \cdot 1/[S] + 1/V_{max}$  处理数据, 求得 K<sup>+</sup> 吸收动力学参数 V<sub>max</sub> 和 K<sub>m</sub> 值。

1.2.2 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 对水稻、大豆苗期吸收的影响 该部分测定的植物培养和吸收液配制以及吸收试验采用方法及数据处理同 1.2.1。但本组试验是在 1.2.1 的处理基础上, 每个吸收液均添加了浓度为 0.2 mmol/L 的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻、大豆苗期根系 K<sup>+</sup> 吸收动力学特征

供试作物苗期 (16 d) 对 K<sup>+</sup> 的吸收速率曲线同样符合 Michaelis-Menten 方程的描述 (图 1)。低 K<sup>+</sup> 浓度下, 供试植物对 K<sup>+</sup> 的吸收速率随着溶液中 K<sup>+</sup> 浓度的增加而增加, 大约在 0.1 mmol/L 时到达最大速率。以单位根系鲜重计算, 水稻的最大吸收速率 V<sub>max</sub> = 11.1 μmol/(g·h), FW, 大豆的最大吸收速率为 V<sub>max</sub> = 6.46 μmol/(g·h), FW (表 1), 说明前者单位根鲜重的 K<sup>+</sup> 转载体数高于后者。

结果还显示, 水稻 (武育粳 7 号) 吸 K<sup>+</sup> 的 K<sub>m</sub> = 0.042 mmol/L, 与大豆 (辽鲜 1 号) 吸 K<sup>+</sup> 的 K<sub>m</sub> 0.045 mmol/L 相近, 说明水稻根细胞膜和大豆根细胞膜上的钾离子载体蛋白与钾离子之间的亲和力相似。

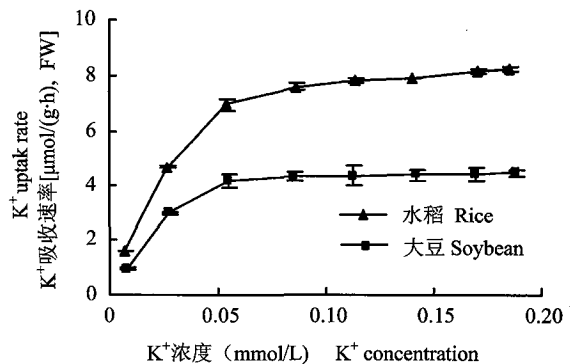


图 1 不同作物苗期根系吸 K<sup>+</sup> 特征

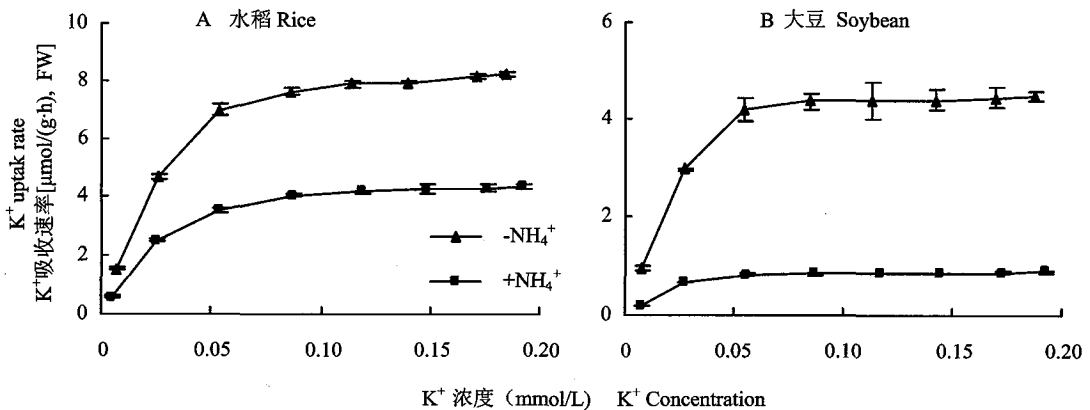
Fig. 1 K<sup>+</sup> uptake by the roots of different crops at seedling stage

表1 水稻、大豆苗期根系  $K^+$  吸收动力学参数Table 1 The kinetic parameters of  $K^+$  uptake by the roots of rice and soybean at the seedling stage

项目 Items	水稻 Rice	大豆 Soybean
$V_{max}$ [ $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW]	11.1	6.46
$K_m$ (mmol/L)	0.042	0.045

## 2.2 $\text{NH}_4^+$ 对水稻、大豆 $K^+$ 吸收动力学的影响

在  $\text{NH}_4^+$  (0.2 mmol/L) 存在条件下, 两种供试作物苗期(16 d)的  $K^+$  吸收速率与介质  $K^+$  浓度之间的关系依然符合 Michaelis-Menten 方程, 但与无  $\text{NH}_4^+$  时相比,  $\text{NH}_4^+$  的存在大大降低了  $K^+$  的吸收速率(图

图2  $\text{NH}_4^+$  对水稻、大豆苗期根系吸收  $K^+$  的影响Fig. 2 The effects of  $\text{NH}_4^+$  on  $K^+$  uptake by the roots of rice and soybean at the seedling stage表2  $\text{NH}_4^+$  对水稻、大豆苗期根系  $K^+$  吸收动力学参数的影响Table 2 Effects of  $\text{NH}_4^+$  on the kinetic parameters of  $K^+$  uptake by the roots of rice and soybean at the seedling stage

项目 Items	水稻 Rice	大豆 Soybean
$V_{max}$ [ $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW]	6.06	1.33
$K_m$ (mmol/L)	0.045	0.048
$V_{max}$ 减少 Decrease (%)	45.4	79.4
$K_m$ 增加 Increase (%)	5.98	5.35

## 3 讨论

$V_{max}$  值和  $K_m$  值两个参数可用来表征植物根系对养分离子的吸收的动力学特征。 $V_{max}$  表示离子吸收所能达到的最大速率,  $V_{max}$  越大, 离子吸收的内在潜力越大, 它的大小基本上是由细胞膜上某种离子转运载体蛋白的数量所决定的。而  $K_m$  的倒数表示根

2)。水稻根系的  $V_{max}$  从  $11.1 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW 降为  $6.06 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW; 大豆的  $V_{max}$  从  $6.46 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW 降为  $1.33 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW。虽然从降低的绝对值上看差异不大, 两者分别降低  $4.67 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW 和  $4.73 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ , FW, 但由于基数不同, 所以从降低的百分比上看, 前者降低了  $45.4\%$ , 而后者降低了  $79.4\%$  (表 2)。说明  $\text{NH}_4^+$  对水稻和大豆的根系高亲和和系统钾载体的数量均产生了影响, 其中对大豆的影响更大。

表 2 还看出,  $\text{NH}_4^+$  的存在使得两种植物吸钾的  $K_m$  值略有增加, 水稻和大豆的  $K_m$  值分别增加了  $5.98\%$ 、 $5.35\%$ , 但两种植物之间的差异不大, 这一点与  $V_{max}$  的情况有较大区别。

系吸收位点(转载体)与所吸收离子间的亲和力大小,  $K_m$  值越小, 亲和力越大<sup>[18]</sup>。显然, 在筛选吸收和利用钾离子能力强的植物基因型时, 从生理指标上看, 应注重选择那些  $V_{max}$  较大而  $K_m$  值较小的基因型。

不同种类的植物对同一养分离子的吸收动力学参数有很大差异。Jackman<sup>[19]</sup> 报道, 大麦、黑麦草吸收  $\text{Rb}^+$  的  $V_{max}$  值是绿豆和地中海三叶草的 6.7 倍; 向日葵、黄瓜、白桦、松树等吸收  $K^+$  的  $V_{max}$  值之间也有显著差异<sup>[20]</sup>。不同种类植物间动力学参数的差异具有生态学意义, 高的  $V_{max}$  值或低的  $K_m$  值与较低的相对生长率相结合, 有利于物种在养分贫乏的环境里生存与竞争<sup>[20]</sup>。本试验结果表明, 就单位根鲜重而言, 禾本科植物和豆科植物在  $K^+$  的吸收上存在着明显的差异。水稻与大豆相比, 前者在  $K^+$  吸收上显示出了较为明显的优势, 这种优势主要在于

单位鲜重的水稻具有更大的  $V_{\max}$ , 或者说单位鲜重的根具有更多的钾载体蛋白, 而不是由于水稻载体蛋白与钾离子之间有更大的亲和性。

在过去的试验中已经发现, 铵离子的存在对钾离子的吸收具有较大的抑制作用<sup>[21]</sup>, 而由于铵态氮肥的施用, 土壤中铵离子的存在是不可避免的。因此在考虑提高钾离子的吸收时必须同时考虑铵的影响问题。就铵的影响途径而言, 或是影响位于细胞膜上钾载体的数量, 或是影响载体与钾离子之间的亲和性。本试验结果显示, 在有 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 存在时, 供试的两种植物对 K<sup>+</sup> 的最大吸收速率  $V_{\max}$  均显著减小, 而米氏常数  $K_m$  值变化不大, 意味着这种减小主要是通过减少钾载体的数目实现的, 而与载体和钾离子之间的亲和性关系不大。此外, 铵离子对不同植物相对载体数目的减少能力有所不同, 对水稻的影响较小, 而对大豆的影响较大。

对铵离子影响钾离子吸收的机制也有不同的报道。黄建国等<sup>[22]</sup>应用离子耗竭技术证明 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 显著抑制小麦对 K<sup>+</sup> 的吸收, 并分析了养分离子影响 K<sup>+</sup> 的吸收的动力学机理。他们认为, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 降低小麦对 K<sup>+</sup> 的亲和性 ( $K_m$  值增加)。可见对于不同植物, 其影响机制有可能不一样, 对此还应进一步加以研究。

本试验结果可以得到以下结论: 铵离子影响水稻和大豆幼苗根系主导钾离子吸收的高亲和运输系统, 降低对钾离子的吸收速率; 铵离子减少钾离子的吸收主要通过减少钾离子载体总量的影响而实现, 而不是靠降低载体与钾离子之间的亲和性实现的; 铵离子影响钾离子吸收的机理对不同植物而言可能不一样, 影响程度也不同。

## 参 考 文 献:

- [1] 吴平, 印莉莉, 张立平, 等. 植物营养分子生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 163.  
Wu P, Yin L L, Zhang L P *et al.* Molecular physiology of plant nutrition [M]. Beijing: Science Press, 2001. 163.
- [2] 孙羲. 植物营养原理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 47-156.  
Sun X. The theory of plant nutrition [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1995. 47-156.
- [3] 李玉影, 金继运, 刘双全, 黄绍文. 钾对春小麦生理特性、产量及品质的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(4): 449-455.  
Li Y Y, Jin J Y, Liu S Q, Huang S W. Effects of potassium on physiological characteristics, yield and quality of spring wheat [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2005, 11(4): 449-455.
- [4] 李华, 杨肖娥, 罗安程. 不同氮钾条件下水稻基因型氮、钾积累利用差异[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 86-88.  
Li H, Yang X E, Luo A C. Genotypic difference in N and K accumulation under different N sources and K levels in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Chin. Rice Sci., 2002, 16(1): 86-88.
- [5] 李共福, 谢少平. 水稻耐低钾能力及其鉴定研究[J]. 作物研究, 1991, 5(1): 4-9.  
Li G F, Xie S P. The research of K-efficient ability and identification on rice [J]. Crop Res., 1991, 5(1): 4-9.
- [6] 刘国栋, 刘更另. 籼型杂交稻耐低钾基因型的筛选[J]. 中国农业科学, 2002, 35(9): 1044-1048.  
Liu G D, Liu G L. Screening hybrid combinations of Indica rice for K-efficient genotypes [J]. Sci. Agric. Sin., 2002, 35(9): 1044-1048.
- [7] Yang X E, Liu J X, Wang W M *et al.* Genotypic differences and associated plant traits in potassium internal use efficiency of lowland rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Nutr. Cycl. Agroecosys, 2003, 67: 273-282.
- [8] Maser P, Gierth M, Schroeder J I. Molecular mechanisms of potassium and sodium uptake in plants [J]. Plant Soil, 2002, 247: 43-54.
- [9] Elumalai R P, Nagpal P, Reed J W. A mutation in the *Arabidopsis* KT2/KUP2 potassium transporter gene affects shoot cell expansion [J]. Plant Cell, 2002, 14: 119-131.
- [10] Kim E J, Kwak J M, Uozumi N, Schroeder J I. AtKUP1: An *Arabidopsis* gene encoding high-affinity potassium transport activity [J]. Plant Cell, 1998, 10: 51-62.
- [11] Rigas S G, Debrosses K, Haralampidis F *et al.* TRH1 encodes a potassium transporter required for tip growth in *Arabidopsis* root hairs [J]. Plant Cell, 2001, 13: 139-151.
- [12] Rubio F, Santa-Maria G E, Rodriguez-Navarro A. Cloning of *Arabidopsis* and barley cDNAs encoding HAK potassium transporters in root and shoot cells [J]. Physiol. Plant, 2000, 109: 34-43.
- [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: 655-658.
- [14] Ko C H, Buckley A M, Baber R F. TRK2 is required for low-affinity K<sup>+</sup> transport in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genetics, 1990, 125: 305-312.
- [15] Epstein E, Rains D W, Elzam O E. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots [J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1963, 49: 684-692.
- [16] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants (2 ed.) [M]. London, England: Harcourt Brace & Company, Publishers, 1995.
- [17] Spalding E P, Hirsch R E, Lewis D R *et al.* Potassium uptake supporting plant growth in the absence of AKT1 channel activity inhibition by ammonium and stimulation by sodium [J]. J. Gen. Physiol., 1999, 113: 909-918.
- [18] 谢少平, 倪晋山. 水稻(威优 49)幼苗根系 K<sup>+</sup> (80Rb<sup>+</sup>) 吸收的

- 调节[J]. 植物生理学报, 1990, 16(1): 63-69.
- Xie S P, Ni J S. Regulation of  $K^+$  ( $^{86}Rb^+$ ) absorption by roots of hybrid rice (Weiyou49) low-salt seedlings[J]. Acta Phytophysiol. Sin., 1990, 16(1): 63-69.
- [19] Larsson C M, Ingemarsson B. Molecular aspects of nitrate uptake in higher plants [A]. Wary J L, Kinghorn J R (Eds). Molecular and genetic aspects of nitrate assimilation [M]. Newyork: Oxford University Press, 1989.
- [20] Jackman R H. The uptake of rubidium by the roots of some graminaceous and leguminous plants [J]. New Zealand J. Agric. Res., 1965, 8: 763-777.
- [21] Pettersson S, Jensen P. Variation among species and varieties in uptake and utilization of potassium [J]. Plant Soil, 1983, 72: 231-237.
- [22] 黄建国, 杨邦俊, 袁铃. 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): 38-42.
- Huang J G, Yang B J, Yang L. Kinetics of  $K^+$  absorption by various wheat varieties[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 1995, 1(1): 38-42.