

文章编号: 1005-0906(2010)02-0149-04

高等植物 K⁺ 吸收机制研究进展

李万良, 李时群, 张 英

(吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要: 从高亲和性和低亲和性 K⁺ 吸收两个方面较详细介绍了 K⁺ 营养的吸收机制。高亲和性 K⁺ 吸收机制包括 H⁺-K⁺ 交换 ATPase、K⁺-ATPase、H⁺-K⁺ symporter 和 Na⁺-K⁺ symporter; 低亲和性 K⁺ 吸收机制也被称为“协助扩散”, 研究表明是通过 K⁺ 通道进行的, 但 K⁺ 通道的确切结构尚无定论。综述了植物 K⁺ 吸收的调节, 并对相关问题进行了展望。

关键词: 钾离子通道; 高亲和力转运体; H⁺-ATP 酶; 钾吸收

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

A Review on the Potassium Uptake Mechanism in Higher Plants

LI Wan-liang, LI Shi-qun, ZHANG Ying

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: The paper summed up the advances of potassium uptake mechanism in biochemical molecular fields involved in potassium channel, high-affinity potassium transporter and H⁺-ATPase. The potassium transport in plants correlates respectively to the three types of proteins coded by different potassium transporter family. The review focuses on describing the characteristic of the cloned K⁺ transporters and their possible roles in mediating high and low-affinity K⁺ uptake from the soil as well as how K⁺ acquisition regulated with the different level of K⁺.

Key words: Potassium channel; High-affinity transporter; H⁺-ATPase; K⁺ uptake

植物个体在发育过程中当环境条件发生变化时, 发生相应的形状变异, 通过生理表现型变化采取短期逆境反应或通过基因型变化获得长期抗逆性。通过长期演化植物获得了从广泛变化的 K⁺ 浓度 (1 μm/L ~ 10 mm/L) 中获得 K⁺ 营养的适应机制。随着分子生物学理论与技术的发展, 在高等植物 K⁺ 吸收机制与调节等方面取得明显的进展。

1 高等植物 K⁺ 吸收机制

自 Hoagland(1948)发现活细胞内 K⁺ 浓度远高于胞外以来, 人们对植物细胞的 K⁺ 吸收机制进行了大量研究。Epstein 等研究认为 K⁺ 吸收可以用经典的酶动力学描述, 并将 K⁺ 吸收分为 2 个机制: 机制 I, 指 K⁺ 吸收服从 Michaelis-Menten 动力学, 并在低的外部 K⁺ 浓度 (0.001 ~ 0.2 mm/L, 高亲和力) 下起作用;

机制 II, 在高的外部 K⁺ 浓度 (1 ~ 10 mm/L, 低亲和力) 下起作用。

1.1 高亲和性 I 吸收机制

由于高亲和性 K⁺ 吸收是 K⁺ 逆电化学势梯度运输, 需要额外的能量来源, 因而提出了几种假说并对其进行了检验。

1.1.1 H⁺-K⁺ 交换 ATPase

Cheeseman 和 Hanson(1979)提出了植物高亲和性 K⁺ 吸收是通过 H⁺-ATPase 与 H⁺ 反向交换进行的。大量实验证实, K⁺ 的吸收通常伴随有 H⁺ 的外流, 一些学者认为二者是紧密偶联的。另外, 对 H⁺-ATPase 的研究发现, K⁺ 可以刺激 H⁺-ATPase 的活性, 且其动力学数据与 K⁺ 吸收十分相似 (Leonard, 1982)。以上实验证据都支持 H⁺-K⁺ 交换 ATPase 的假说。然而又发现, 激活 H⁺-ATPase 所需的 K⁺ 浓度较高, 而且是在质膜内侧。Koehian 等 (1989) 的实验表明, K⁺ 内流虽然伴随着 H⁺ 外流, 但二者既没有时间上的对应关系, 也没有一定的化学计量比。BrisKin 和 Gawienowski (1996) 对 H⁺-ATPase 介导的电流的逆转电位进行测定, 发现 K⁺ 浓度对该电位没有显著

收稿日期: 2009-10-12

作者简介: 李万良 (1969-), 男, 副研究员。

张 英为本文通讯作者。

影响,从而也否定了 H^+ -ATPase 直接参与 K^+ 运输的观点。

1.1.2 K^+ -ATPase

与 K^+ 吸收直接偶联的 ATPase 最早在动物细胞中得到确认(Sachs 等,1982; Schwarts and Collins, 1982)。Epstein 等(1984)确认在大肠杆菌中也存在 K^+ -ATPase, Gaber 等 (1988) 在酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) 中克隆到两个 K^+ 吸收蛋白基因 *TRK1* 与 *IRK2*, 其中 *TRK1* 与大肠杆菌的 K^+ -ATPase 基因 *KDP* 的一些片段有同源性。因而人们设想植物中也可能存在专门负责 K^+ 运输的 ATPase。Kochian 等(1989)发现玉米的高亲和性 K^+ 吸收对胞外 pH 变化不敏感,这既不支持 H^+ - K^+ 交换 ATPase 假说,也不支持 H^+ - K^+ 同向共运转体的假说,因而设想可能存在专一性 K^+ -ATPase。汤章城(1996)报道,高粱在渗透胁迫时, K^+ 吸收的 K_m 值下降,同时有新蛋白合成,分离质膜囊泡后的药理实验显示,胁迫后的根细胞质膜上可能存在专一性的 K^+ -ATPase。

1.1.3 H^+ - K^+ 同向共运转体(H^+ - K^+ symporter)

化学渗透学说提出后,人们推测质膜上也存在由 H^+ 电化学势梯度推动的溶质运输。Rodriguez-Navaro 等(1986)结合电生理和同位素技术,对脉孢菌(*Nearospora crassa*)的 K^+ 吸收机制进行了细致的研究,认为 K^+ 运输是通过 H^+ - K^+ 同向共运转体进行的,他们还认为这可能也是植物 K^+ 吸收的机制之一。Maathuis 和 Sanders(1994,1996)用膜片钳(patch clamp)技术对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根细胞进行了全细胞记录,认为 Na^+ 和 Ca^{2+} 跨膜浓度梯度均对低浓度 K^+ 引起的内向电流的逆转电位无明显影响,而 pH 跨膜梯度的变化引起的逆转电位(reversal potential)的改变则与理论上的预期值接近,因而认为 K^+ 内流与 H^+ 内流偶联,并计算得 H^+ 与 K^+ 计量比为 1:1。

1.1.4 Na^+ - K^+ 同向共运转体(Na^+ - K^+ symporter)

Smith 和 Walker(1989)在轮藻(*Chara australis*)中观察到 Na^+ 或 Li^+ 能引起依赖 K^+ 的内向电流,从而认为 K^+ 的吸收与 Na^+ 内流偶联。 K^+ 内流所需的能量由 Na^+ 的跨膜电化学势梯度提供。后来又在伊乐藻(*Elodea canadensis*)中得到相似结果(Walker 和 Sanders, 1991; Walker, 1994)。Schachtman 和 Schroeder(1994)从经钾饥饿的小麦中得到 *fh-* 编码负责 K^+ 运输的膜蛋白基因 *HKT1*,该基因在丧失 K^+ 吸收功能的酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)突变体中表达后恢复了突变体在低钾下正常生长的功能。进一步的同位素

实验显示,当介质 Na^+ 浓度在微摩尔水平时,*HKT1* 引起的 K^+ 内流与 Na^+ 内流相互促进,因此 *HKT1* 被认为是一 Na^+ - K^+ 同向共运转体;当介质 Na^+ 浓度高于 100 mmol/L 时,*HKT1* 介导的 K^+ 吸收被 Na^+ 抑制(Rubio 等,1995)。但对 *HKT1* 的实际功能还有争议, Maathuis 等(1996)对 *HKT1* 在植物细胞中的功能提出了质疑,他们用得到 *HKT1* 的小麦品种 Atlas 66 进行实验,没有发现贮吸收有与 Na^+ 偶联的迹象。

随着对 K^+ 吸收机制研究的进展,人们逐渐认识到植物的 K^+ 吸收机制可能是多样化的,随植物种类或环境的不同而有所不同。

1.2 低亲和性 K^+ 吸收机制

低亲和性 K^+ 吸收起初也被称为“协助扩散”。由于其具有对膜电位的强烈依赖(Cheeseman 和 Hanson, 1979,1980)和被 K^+ 通道抑制剂 TEA 所抑制的特性,人们开始推测低亲和性 K^+ 吸收是通过 K^+ 通道进行的(Kochian 等,1985)。与此同时,膜片钳技术在植物细胞上的应用也获得成功(Schroeder 等,1984),这一技术的应用使对植物离子通道的研究有可能获得直接的实验证据,而 K^+ 通道则是利用该技术研究最多的一种离子通道。

Anderson 等(1992)和 Sentenac 等(1992)分别将从拟南芥中克隆到的 K^+ 通道基因 *AKT1* 和 *KAT1* 转入缺失 K^+ 吸收系统的酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)突变体中,使其恢复了能在微摩尔 K^+ 浓度的培养基上正常生长的能力,这一结果有力地支持了 K^+ 通道具有 K^+ 吸收功能的看法。

Gassmann 和 Schroeder(1994)用膜片钳记录了小麦根毛原生质体的全细胞 K^+ 电流,在胞外 K^+ 浓度高于 0.5 mmol/L 时即可记录到内向 K^+ 电流;小麦根毛 K^+ 通道被 Al^{3+} 抑制,这与已知的植物 K^+ 吸收对 Al^{3+} 敏感的现象一致。Maathuis 和 Sanders(1995)在拟南芥根细胞中记录到两种内向 K^+ 通道,其中一种导度为 6 pS 的内向 K^+ 通道的数量随培养液中 K^+ 浓度由 6 mmol/L 降到 0.1 mmol/L 而显著增加。对外向 K^+ 通道的分析后认为,外向 K^+ 通道也可能介导一定量的 K^+ 内流(Maathuis 和 Sanders, 1995,1997)。这些实验表明, K^+ 通道在植物体内具有 K^+ 吸收的功能。

植物细胞 K^+ 通道具有离子通道的一般特性:①对透过离子的种类有选择性。 K^+ 通道的选择性不是绝对的,一般对于 NH_4^+ 、 Rb^+ 、 Li^+ 、 Na^+ 也有一定通透性,只是在正常条件下对 K^+ 的通透性比其他离子的通透性大。不同贮通道的选择性也有一定差异, K^+

通道对 Na⁺ 通透性的不同可能影响到植物的耐盐程度(Schaechtmann 等,1991);②有不连续的“开”或“关”的状态,表现为在一定电压下,单个离子通道的电流自基线向下(或向上)短暂地保持一稳态,然后回到基线,呈矩形脉冲(Maathuis 等,1997)。

植物细胞的质膜、液泡膜、叶绿体膜上都有 K⁺ 通道的分布。在相同的细胞膜上,K⁺ 通道也可能有不同的种类,如液泡膜上就已鉴定出 FV(fast vacuolar)、SV(slow vacuolar)、VK(vacuolar K⁺)3 种 K⁺ 通道(Maathuis 等,1997)。

目前对于 K⁺ 通道的确切结构尚无定论。人们根据各内向 K⁺ 通道 cDNA 所编码的氨基酸序列以及对动物 K⁺ 通道结构研究的结果,对植物 K⁺ 通道的结构进行了推测。基于对氨基酸序列和蛋白质结构分析,人们认为 *KAT1* 和 *AKT1* 所表达的蛋白分子量为 65 ~ 100 kD,属于 K⁺ 通道“Shaker”超家族的成员(Jan 和 Jan,1992)。

2 K⁺ 吸收的调节

虽然克隆得到了低亲和力 *KAT1*、*AKT1*、*KST1*、*AKT2*、*SKOR*、*KORC*、*KCO1*、*atKUP1*、*KAB1* 和高亲和力 *HKT1*、*KEA1*、*HvHAK1-2*、*atKUP1-4* 的 K⁺ 运输体基因,但这些运输体调节细胞 K⁺ 水平却不很清楚,但是其活性调节已被广泛关注。

2.1 高亲和力系统的缺钾诱导

K⁺ 对其本身的吸收行为表现为饥饿诱导和反馈抑制。K⁺ 饥饿时高亲和力 K⁺ 吸收系统会导致 K⁺ 吸收,进入根的 K⁺ 增加。同时由于不断增加的内部 K⁺ 浓度所引起的反馈抑制也在植物和酵母中存在。对于大麦和玉米苗在低钾浓度范围(1 ~ 100 μmol/L)的大量研究表明,一旦幼苗 K⁺ 饥饿,吸收动力学参数(K_m 和 V_{max})即改变。当生长在充足的 K⁺ 条件下的大麦苗饥饿 24 h(短期),K⁺ 运输 K_m 立即减小 4 倍,表明高亲和力 K⁺ 运输体对 K⁺ 亲和力增加;如果饥饿延长至 7 d(长期),K⁺ 吸收的 V_{max} 渐增。短期 K⁺ 饥饿使得高亲和力系统的生化控制系统发挥作用,引起 K⁺ 转运体活性的增加;而在深度的 K⁺ 饥饿下,会有更多的转运蛋白合成,导致 K⁺ 吸收 V_{max} 的增加。几乎没有生理学证据支持短期 K⁺ 饥饿期间有新的高亲和力转运体合成,首先因为 K⁺ 饥饿引起的吸收反应似乎太快(在处理的 22 min 内);其次是吸收速率的增加在缺乏 DNA、RNA 或蛋白合成的情况下也会发生。在深度 K⁺ 饥饿情况下转运体的合成是可能的。

Glass 进一步阐明了根高亲和力转运系统控制 K⁺ 水平的机制。认为在大麦根中,随着内部 K⁺ 浓度的不断增加,K⁺ 吸收的 K_m 增加,而且这种向较低亲和力系统迁移的趋势表明 K⁺ 转运蛋白通过变构控制 K⁺ 吸收。这一模型认为,随细胞质 K⁺ 增加,K⁺ 逐渐结合在 K⁺ 转运体的面向细胞质面的 4 个变构位点上,当所有 4 个位点都完全被 K⁺ 占据时,引起构造改变,减少了转运体对 K⁺ 的亲和力。

高亲和力转运系统在微摩尔范围内 K⁺ 吸收有明显的 K_m 值,而且高亲和力 K⁺ 吸收速率对植物 K⁺ 状态极为敏感,当根中 K⁺ 含量增加时,K⁺ 吸收的 V_{max} 值下降而 K_m 值增加;相反,当外部 K⁺ 供应受到干扰时,高亲和和 K⁺ 吸收快速上调。高亲和力 K⁺ 吸收在分子水平上有明显的复杂性,研究各个运输因子受 K⁺ 诱导的时间历程显得非常重要,以便确定植物不同时间和发育阶段各个基因的相对重要性。

2.2 低亲和力系统的缺钾诱导

有人认为低亲和力转运系统似乎对植物 K⁺ 状态不甚敏感。低亲和力系统在大麦、黑麦草和玉米中对 K⁺ 状态不敏感;在向日葵和拟南芥中 K⁺ 吸收和 K⁺ 通道活性因 K⁺ 饥饿而轻微增加;在油菜中,供应不同浓度 K⁺ 时,*AKT1* 基因有明显的高水平表达,当撤去 K⁺ 时没有改变 *AKT1* 的表达水平。*AKT1* 在油菜中可能是结构性地表达。

Maathuis 和 Sanders 研究了拟南芥根中低亲和力和单通道活性,K⁺ 从高到低的改变导致内向整流通道活性的增加。进一步的试验发现,无论短期或长期 K⁺ 饥饿,*AKT1* 基因的表达都没有增加。也就是说,因 K⁺ 浓度的改变,通道活性而不是基因表达受到调节。植物 K⁺ 通道活性调节的分子机制可由哺乳动物 K⁺ 通道 p 亚基的克隆得到启示,即 K⁺ 通道 p 亚基可以通过阻塞通道孔而引起通道失活。从植物中克隆到的 p 亚基同源体暗示这种哺乳动物中发生的通道调节方式也可能发生在植物中。

油菜中的 *AKT1* 基因水平未受外部 K⁺ 浓度的影响,认为 *AKT1* 是一个 K⁺ 吸收的结构性组分。但是,K⁺ 饥饿的小麦苗中时间依赖性内向整流 K⁺ 通道电流的数值和发生频率增加,原因是 K⁺ 从介质中撤去后根中编码 K⁺ 通道的 TaAKT1 mRNA 水平上调,TaAKT1 表达增加。*AKT1* 在酵母中的表达及在拟南芥根中的自然表达已证明,*AKT1* 能调节微摩尔范围的高亲和力 K⁺ 吸收,这些和小麦根中 TaAKT1 mRNA 及 K_m 的饥饿诱导都说明 K_m 通道有可能既是结构性的也是可诱导的。

3 展 望

目前已经从植物中克隆出多个编码 K^+ 通道和 K^+ 转运体基因,初步探索了不同离子选择性通道结构特征和离子通道活性及表达水平的调节机制,而对同一类钾转运体基因在不同基因型植物中的基因表达、活性等方面的差异或不同基因型植物可能具有的钾离子转运体基因组成的差异性研究不多。此项研究对于育种学家和植物营养学家选择培育耐低钾或高效吸钾用钾基因型具有重要意义。钾离子通道、高亲和力转运体和 H^+ -ATP 酶属于膜蛋白。因此,基因调控、转录、翻译水平、蛋白修饰和蛋白降解等许多分子水平的因素会影响膜蛋白活性及在钾营养中的作用。深入开展这方面的研究将有助于揭开钾营养的分子机制。环境因素如营养胁迫、水分胁迫以及激素调节也可能影响钾离子通道的表达和活性。植物生理现象期待内在分子机制的解释,高效

营养基因的分离和克隆及转基因操作将会培育出高营养效率作物,在生产实践中发挥更重要的作用。

参考文献:

- [1] 赵淑清,郭剑波. 高等植物根细胞高亲和性吸收钾的机制[J]. 生命科学,2001,13(3):123-134.
- [2] 赵淑清,郭剑波. 植物钾营养性状的遗传潜力[J]. 西北植物学报,2001,21(2):221-225.
- [3] 汤利,施卫明. 植物钾吸收转运基因的克隆与作物遗传改良[J]. 植物营养与肥料学报,2001,7(4):467-473.
- [4] 周峰,李平华. K^+ 稳态与植物耐盐性的关系[J]. 植物生理学通讯,2003,39(1):67-70.
- [5] 董先平,徐天乐. 钙调素参与离子通道和受体功能的调控[J]. 自然科学进展,2002,12(3):212-219.
- [6] 汤文强,白娟,等. 植物胞外 CaM 调节机理初探[J]. 河北师范大学学报,1999,23(1):106-112.
- [7] 沈元月,黄丛林,等. 植物抗旱的分子机制研究[J]. 中国生态农业学报,2002,10(1):30-34.
- [8] 曹敏建,王淑琴,松本英明. 玉米自交系对低钾胁迫耐性的差异[J]. 作物学报,1999,25(2):54-259.

(责任编辑:朴红梅)