

# 不同烤烟基因型钾离子通道特性研究

鲁黎明

(四川农业大学 农学院, 四川 雅安 625014)

**摘要:** 通过对4个不同钾营养效率的烤烟品种的根皮层细胞质膜内向跨膜钾电流进行全细胞记录, 研究钾营养效率不同的烤烟基因型的钾离子通道的特性。结果表明, NC89的电流密度(pA/pF)最高, 约为-80; 其次是农大202及净叶黄, 其电流密度分别为-60及-50; NC2326的电流密度在四个基因型中最小, 大约-40。结果表明, 烤烟根皮层细胞质膜跨膜内向钾电流的大小, 与基因型对K<sup>+</sup>亲和力及吸收能力的大小, 以及烤烟基因型钾营养效率高有着密切的关系, 可以作为一个比较可靠的参考鉴定指标, 指导K<sup>+</sup>营养高效的基因型的筛选与鉴定。

**关键词:** 烤烟; 钾离子通道; 内向钾电流

中图分类号: S572 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)04-0531-03

## Characteristics of potassium channel of different tobacco genotypes

LU Li-Ming

(College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**Abstract:** The characteristics of root cortex protoplast whole cell transmembrane in-ward K<sup>+</sup> current of four flue-cured tobacco genotypes with different potassium use efficiency were studied. The results showed that the current density (pA/pF) of NC89 (-80) was the highest of all four genotypes, then Nongda 202, Jingyehuang and NC2326 were -60, -50 and -40 respectively. The results suggested that the current density (pA/pF) of transmembrane in-ward K<sup>+</sup> current was closely related to the potassium absorption ability and potassium use efficiency of flue-cured tobacco, and could be used as an effective method to screen high potassium use efficiency flue-cured tobacco genotype.

**Key words:** flue-cured tobacco; potassium channel; in-ward K<sup>+</sup> current

烟叶含钾量是烟叶的一个重要的质量因素。烟叶含钾量高, 能够提高烟叶的燃烧性、填充力以及增加色泽、降低有害物质的含量等(杨铁钊等, 2002), 并因此具有较好的外观质量与内在品质。研究表明, 不同植物及同一种植物的不同基因型之间, 其叶片含钾量及根系对钾的吸收特性存在着较大的差异。对烟草而言, 其基因型之间, 在叶片含钾量上也存在着显著的差异, 并且这种差异是可以稳定遗传的(牛佩兰等, 1996; 周应兵等, 1998; 杨铁钊等, 2006a)。为了阐明这种差异产生的机制, 对不同遗传

背景的植物进行了生理特性如吸钾能力及钾的营养效率等方面的研究。研究结果表明, 吸收钾能力强的基因型具有最大吸收速率  $V_{max}$  较高, 而米氏常数  $K_m$  相对较小的特点(吕福堂等, 2005; 赵学强等, 2006; 邹春琴等, 2002; 李廷轩等, 2003)。在分子水平上, 植物对K<sup>+</sup>的吸收, 要靠质膜上的K<sup>+</sup>转运蛋白来完成。通过在细胞水平上记录根皮层细胞原生质体跨膜内向K<sup>+</sup>电流的大小, 就可以在一定程度上反映植物吸收K<sup>+</sup>的能力。植物根细胞质膜上的内向K<sup>+</sup>通道所介导的K<sup>+</sup>的转运, 即为跨膜的内

收稿日期: 2008-10-26 修回日期: 2009-07-17

基金项目: 四川省教育厅青年基金(07ZA073)[Supported by Youth Foundation of Education Department of Sichuan Province(07ZA073)]

作者简介: 鲁黎明(1965-), 男, 河南正阳人, 博士, 副教授, 研究方向为烟草分子遗传, (E-mail)llm\_louis@sohu.com。

向 K<sup>+</sup> 电流。Xu 等(2006)利用膜片钳技术对拟南芥突变体与野生型的根皮层原生质体内向 K<sup>+</sup> 电流进行了全细胞记录,从而在细胞水平上,从 K<sup>+</sup> 的转运能力方面阐明了突变体对低钾敏感的原因。在烟草方面,刘卫群等(2005)以烟草为材料,对其根皮层原生质体膜上的钾通道的特性进行了研究。结果表明,内向钾通道在膜电压低于-40mV 时,可以被 K<sup>+</sup> 激活,该内向钾电流的 K<sub>m</sub> 约为 15.2 mmol · L<sup>-1</sup>,与低亲和性钾吸收的 K<sub>m</sub> 十分接近。然而,烤烟品种的不同基因型在根皮层原生质体膜的内向钾电流的大小之间的差异的研究还鲜见报道。本试验研究了 4 个烤烟品种根皮层原生质体膜的内向钾电流的特性,以试图找出烤烟不同基因型之间跨膜内向钾电流的大小与其钾的营养效率之间是否存在某种程度的相关。

### 1 材料与方 法

供试材料为 NC89、NC2326、农大 202(ND202)及净叶黄(JYH)。烟草种子经表面消毒后,播种于 MS 培养基上,在光照培养箱中进行全光照培养。培养温度为 25 °C,光照度为 70 μmmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>。取在 MS 培养基上生长 28 d 的幼苗进行根皮层原

生质体的分离。原生质体的分离、全细胞内向通道电流的记录及通道性质鉴定等方法,参见于川江等(1999)及刘卫群等(2005)的方法进行。

### 2 结果与分析

#### 2.1 全细胞电流的鉴定

电流成分的鉴定,对研究质膜的跨膜电流至关重要。因此,在对内向钾电流进行正式记录前,必须对电流的成分进行鉴定。鉴定电流成分的重要依据是全细胞电流的逆转电位(E<sub>rev</sub>)。根细胞原生质体在胞外溶液含 K<sup>+</sup> 10 mmol · L<sup>-1</sup>、胞内含 K<sup>+</sup> 100 mmol · L<sup>-1</sup>时,保持电位设在-58 mV,当膜电位超过-100 mV 时,可记录到明显的内向电流;膜电位越负则内向电流越大。通过尾电流记录分析跨膜电流变化,内向电流的逆转电位(E<sub>rev</sub>)为-40 mV。根据能斯特方程对细胞内外主要离子平衡电位的计算表明,烟草根细胞质膜的逆转电位接近 K<sup>+</sup> 的平衡电位(-58 mV),证明烟草根细胞原生质体的全细胞内向电流主要是 K<sup>+</sup> 电流。

#### 2.2 全细胞电流的记录

图 1 为烟草不同烤烟基因型根皮层原生质体膜内向钾电流全细胞记录的结果。

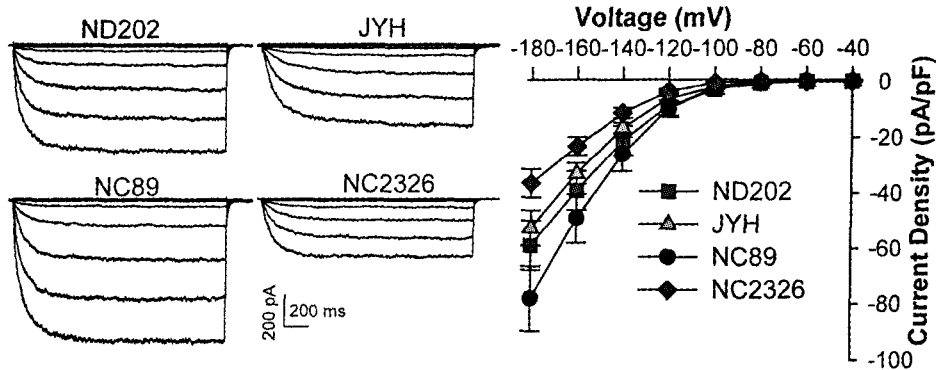


图 1 烟草根皮层细胞内向 K<sup>+</sup> 电流全细胞记录图

Fig. 1 Whole cell recording of in-ward K<sup>+</sup> current of tobacco root cortex cell

A. 全细胞记录及电流与时间标尺; B. 全细胞跨膜电流密度与跨膜电压关系曲线。ND202:农大 202;JYH:净叶黄。

Data show whole cell current recording and time course(A)and the relation of whole cell current density and voltage across membrane(B).

由图 1 可以看出,烤烟各个基因型随着膜电位偏向负值程度的加大,其内向钾电流的密度(pA/pF)也逐步加大,但其增加的幅度却有明显的不同。在膜电位达到-180 mV 时,各个基因型的电流密度均达到最大。其电流密度(pA/pF)的绝对值以 NC89 最高,约为-80,其次为农大 202 及净叶黄,其

电流密度分别为-60 及-50,而 NC2326 的电流密度最小,大约-40。

Epstein 等(1963)认为,高等植物对离子的吸收存在高亲和与低亲和两种吸收机制。通过离子通道对离子的吸收是一个被动的过程,也被认为是一种低亲和性吸收的机制。对跨膜内向电流的研究表明

(刘卫群等,2005;于川江等,1999),在胞外  $K^+$  浓度从  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  至  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  变化时,根据记录到的内向  $K^+$  电流的大小所计算得出的  $K^+$  吸收的平衡解离常数( $K_m$ )均大于  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,表明高等植物根皮层细胞质膜上的内向  $K^+$  通道所介导的主要是植物低亲和性  $K^+$  吸收。所以,内向钾电流的大小在一定程度上反映了基因型对  $K^+$  吸收能力的高低。本研究结果说明,在低亲和性  $K^+$  吸收状态下,NC89 对  $K^+$  的吸收能力最高,其次为农大 202 及净叶黄,吸收能力最低的是 NC2326。

### 3 讨论

植物  $K^+$  吸收的实质,是  $K^+$  的跨膜运输。在分子水平上,植物对  $K^+$  的吸收是由两类不同的  $K^+$  转运蛋白来完成的。根皮层细胞质膜上的  $K^+$  通道则主要介导了  $K^+$  的低亲和吸收。 $K^+$  通道所介导的内向  $K^+$  电流的大小,反映了  $K^+$  通道对  $K^+$  通透能力的高低。Xu 等(2006)的研究发现,拟南芥敲除突变体 *akt1*、*lks1* 以及 *cb11cb19* 的根皮层原生质体内向  $K^+$  电流大大低于野生型,并因此造成了突变体在低钾培养基上由于不能吸收足量的  $K^+$  而变黄的表现型。因此,通过记录根皮层原生质体全细胞内向  $K^+$  电流的大小,就能够在一定程度上判定植物对  $K^+$  吸收能力的强弱(Xu 等,2006;于川江等,1999)。本研究通过对  $K^+$  营养效率不同的四个烤烟基因型的全细胞内向  $K^+$  电流的记录发现,不同  $K^+$  营养效率的烤烟基因型的内向  $K^+$  电流有着显著的不同。最大电流密度以 NC89 最高,其次为农大 202 及净叶黄,而 NC2326 的电流密度最小,

植物对  $K^+$  的营养效率在不同的植物种类之间、同一种植物的不同基因型之间存在着显著的差异,这种差异与植物根系对  $K^+$  的吸收效率密切相关(李廷轩等,2003)。在本研究所采用的烤烟品种当中,农大 202 属于高钾型品种,在北方烟区,其叶片含钾量可达 2.5%;而 NC89、净叶黄及 NC2326 的叶片含钾量则只有 1.5%。杨铁钊等(2006a,b)的研究表明,这四个品种叶片含钾量不同,对钾的吸收强度与积累效率也不同。农大 202 属于  $K^+$  的吸收利用高效型,净叶黄则属于  $K^+$  吸收低效型。在本研究中,农大 202 具有较高的电流密度,并因此具有较强的吸收钾的能力。所以,本研究得出的结果与杨铁钊等的研究结论是可以相互印证的。由此

说明,根皮层原生质体内向  $K^+$  电流的大小,与烤烟品种对  $K^+$  吸收能力的高低密切相关,在一定程度上决定了基因型的  $K^+$  营养效率。

烤烟钾含量的高低,对烤烟的外观质量与内在质量有着十分重要的影响。选育钾高效的烟草品种,对提高烟叶的质量及对土壤钾的利用效率具有重要的意义。而如何简便、快速、准确地筛选出  $K^+$  营养效率高的基因型,则一直是人们所研究的课题。本研究通过对 4 个烤烟基因型的根皮层原生质体全细胞内向  $K^+$  电流的研究发现,内向  $K^+$  电流的大小,与烤烟品种对  $K^+$  吸收能力及  $K^+$  营养效率具有十分密切的关系,可以作为一个比较可靠的参考鉴定指标,指导  $K^+$  营养高效的基因型的筛选与鉴定。

### 参考文献:

- Epstein E, Rains DW, Elzam OE. 1963. Resolution of dual mechanism of potassium absorption by barley roots[J]. *Pro Nat Acad Sci USA*, **49**:684—692
- Li TX(李廷轩), Ma GR(马国瑞). 2003. Screening grain amaranths for genotypes of the capability of enrichment in potassium (籽粒富含钾基因型筛选研究)[J]. *Plant Nut Fert Sci*(植物营养与肥料学报), **9**(4):473—479
- Liu WQ(刘卫群), Wang WM(王卫民), Shi YC(石永春), et al. 2005. The character of inward  $K^+$ -channels in the plasma membrane from tobacco root cortex protoplasts(烟草根皮层原生质体膜钾通道的特性研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **23**(6):524—529
- Lü FT(吕福堂), Zhang XS(张秀省), Zhang BH(张保华), et al. 2005. Study on the ability of potassium absorption and tolerant to low potassium for different genotype maize(不同玉米基因型吸钾和耐低钾能力的研究)[J]. *Plant Nut Fert Sci*(植物营养与肥料学报), **11**(4):556—559
- Niu PL(牛佩兰), Shi Y(石屹). 1996. Study on the difference of potassium efficiency between tobacco genotypes(烟草基因型间钾效率差异研究初报)[J]. *Tob Sci Tech*(烟草科技), (1):33—35
- Xu J, Li HD, Chen LQ, et al. 2006. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates  $K^+$  transporter AKT1 in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, **125**:1 347—1 360
- Yang TZ(杨铁钊), Chao FC(晁逢春), Ding YL(丁永乐), et al. 2002. Analysis on potassium accumulation characteristics and genetic variation in tobacco leaves(烟草不同基因型叶片钾积累特性及变异分析)[J]. *Acta Tabac Sin*(中国烟草学报), **9**(3):11—16
- Yang TZ(杨铁钊), Fan JH(范进华). 2006a. The roots characteristics of different genotype flue-cured tobacco varieties in absorption potassium(不同基因型烤烟品种吸收钾差异的根系特性研究)[J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*(西北农业学报), **15**(3):41—44
- Yang TZ(杨铁钊), Peng YF(彭玉富). 2006b. Potassium accumulation characteristics of rich-potassium genotypic flue-cured (下转第 447 页 Continue on page 447)

mm;花淡黄绿色,质地较厚;中萼片长卵形,长3—4 mm,中部宽2 mm,先端渐尖,具3条脉,仅中脉淡紫色且到达先端;侧萼片斜卵状三角形,长3—4 mm,中部宽2 mm,基部贴生在蕊柱足上,先端近急尖,3条与中萼片相似的脉。花瓣极小,椭圆状披针形,长约1.5 mm,宽0.5—1 mm,先端近急尖,具1

条脉。唇瓣肉质,舌形,基部具凹槽并且与蕊柱足末端连接而形成活动关节,从中部向下弯,长约2 mm,宽1—1.5 mm,先端钝,多少被乳突;蕊柱粗短,蕊柱齿近镰刀状;药帽舌状,被乳突。花期10月。

China. Guizhou(贵州): Libo(荔波), Maolan Nature Reserve(茂兰自然保护区), Sanchahe(三岔

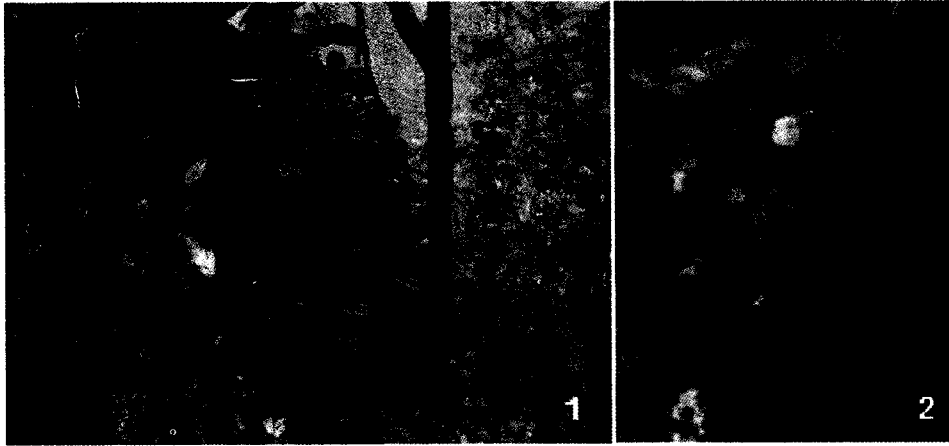


图1 革叶石豆兰

Fig. 1 *Bulbophyllum xylophyllum* Par. et Rehb. f.

1. 生境 Habitat; 2. 花序 Inflorescence.

河), Qinglongtan(青龙潭), on broad-leaved trees, along a ravine(河旁的阔叶树干上), alt. 530 m. 2006-10-19, L. M. Wei(魏鲁明) Mao-Lan-105(茂兰—105)(PE).

#### 参考文献:

- 吉占和, 陈心启, 罗毅波, 等. 1999. 中国植物志(第19卷)[M]. 北京: 科学出版社: 164—257
- King G, Pantling R. 1898. The Orchids of Sikkim-Himalaya[J]. *Annals of the Royal Botanic Garden Calcutta*, **8**: 67—96
- Seidenfaden G. 1973. Notes on *Cirrhopetalum* Lindl[J]. *Dansk Botanisk Arkiv*, **29**(1): 7—260
- Seidenfaden G. 1979. Orchid Genera in Thailand VIII. *Bulbophyllum* Thou[J]. *Dansk Botanisk Arkiv*, **33**(3): 7—223
- Seidenfaden G. 1992. The Orchids of Indochina[J]. *Opera Botanica*, **114**: 26—317
- tobacco(富钾基因型烤烟钾积累特征研究)[J]. *Plant Nut Fert Sci*(植物营养与肥料学报), **12**(5): 750—753
- Yu CJ(于川江), Wu WH(武维华). 1999. Analysis of characteristics of in-ward potassium channels on *Arabidopsis* root cortex cell plasma(拟南芥根皮层细胞质膜内向K<sup>+</sup>通道电生理特性分析)[J]. *Sci in China Ser C*(中国科学, C辑), **29**(3): 316—323
- Zhao XQ(赵学强), Jie XL(介晓磊), Li YT(李有田), et al. 2006. Study on potassium uptake kinetics by different genotype wheat(不同基因型小麦钾离子吸收动力学分析)[J]. *Plant Nut Fert Sci*(植物营养与肥料学报), **12**(3): 307—312
- Zhou YB(周应兵), Lin GP(林国平), Bi HL(毕洪来), et al. 1998. Identification of tobacco germplasm of high-accumulated potassium(钾积累高效烟草种质资源的鉴定)[J]. *J Anhui Agro Teach Coll*(安徽农业技术师范学院学报), **12**(3): 21—25
- Zou CQ(邹春琴), Li ZS(李振声), Li JY(李继云). 2002. Characteristics of potassium nutrition of six wheat cultivars at different growth stages(钾利用效率不同的小麦品种各生育期钾营养特点)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **35**(3): 340—344

(上接第533页 Continue from page 533)