

植物的气孔发生

郑玉龙^{1,2} 姜春玲³ 冯玉龙^{1,*}

¹中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部, 昆明 650233 ;²河北大学生命科学学院, 河北保定 071002 ;³黑龙江省伊春职业学院, 黑龙江伊春 153000

Stomatal Generation in Plants

ZHENG Yu-Long^{1,2}, JIANG Chun-Ling³, FENG Yu-Long^{1,*}

¹Kunming Division, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650233, China; ²College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002, China; ³Yichun Vocational College of Heilongjiang Province, Yichun, Heilongjiang 153000, China

摘要 介绍了气孔的发生过程及其影响因素 特别是影响气孔发生的基因及其作用。

关键词 植物气孔发生;基因调控;角质层;细胞骨架;激素

气孔是植物表皮的一个特殊结构,一般植物的气孔由一对保卫细胞围成,有些植物中还有与表皮细胞明显不同的副卫细胞围绕着这一对保卫细胞,组成气孔复合体或称气孔器。气孔是CO₂吸收和水分散失的通道,每年大约有4.4×10¹⁴ kg CO₂和3.2×10¹⁶ kg水蒸气通过气孔转运^[1],对地球上的碳氧平衡、水分平衡和植物的生命活动均起很大作用。外界环境变化时,植物通过改变气孔孔径大小,调节光合和蒸腾速率,适应变化的环境,因而同种植物得以分布在广阔地域中^[1]。气孔的发生是气孔结构和功能的基础,如果能够人工控制气孔的着生位置和数目,就可以提高植物光合速率、水分利用率以及抗逆性,所以研究气孔发生很重要。虽然目前对气孔发生的机制尚未完全弄清楚,但人们在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)气孔发生的研究中,对气孔发生的基本过程及许多与气孔发生相关的因素有了一定的认识。本文主要就拟南芥的气孔发生过程及其影响和调节因素作一介绍。

1 气孔的发生过程

气孔起源于原表皮细胞,拟南芥幼叶的某些原表皮细胞靠自身分裂能力转化为拟分生组织母细胞(meristemoid mother cell, MMC),MMC经历3次不对称分裂和1次对称分裂形成气孔。拟南芥中MMC不对称分裂为三角形的体积较小的拟分生组织细胞(meristemoid cell 1 M1)和体积较大的毗邻细胞(neighbouring cell, NC),M1不对称分裂为M2和另一个NC, M2再进行不对称分裂形成M3和NC。由于细胞壁的强化和内部因素的共同作用M3逐渐变为圆形,成为保卫母细胞(guard

mother cell, GMC), GMC再对称分裂产生两个形状、大小完全一致的保卫细胞(guard cell, GC),两者围成气孔^[2,3]。与MMC或已形成的气孔不相接触的NC也能获得分裂能力转化为新的MMC,按上述方式(进行3次不对称分裂,1次对称分裂)向远离已形成气孔的方向分裂形成新的气孔。但与已形成的气孔或MMC相接触的NC则不能进入气孔发生途径。叶片上大多数气孔通过NC分裂产生^[3,4],表明气孔形成过程中原表皮细胞可能起启动作用,NC获得分裂能力更为重要。

气孔发生遵循这样一条重要的原则,就是任何两个气孔都不相互接触。两个气孔之间总是被一些无气孔区域(stomatal-free region)隔开,气孔开闭依赖于保卫细胞和周围细胞水分和离子交换形成的膨压变化,所以无气孔区域的形成对植物精确调节气孔运动有非常重要的作用^[5]。

2 影响气孔发生的因素

2.1 基因控制 目前已经发现一些控制气孔发生的基因 其中SDD1 (stomatal density and distribution 1)、TMM (too many mouths)及YDA (yoda)对气孔的发生起着重要的作用^[6,7],它们也是研究最清楚的3个基因。

SDD1的主要功能是:调节进入气孔发生途径中的原表皮细胞数目;保证MMC必须经过3次不对称分裂后才能形成气孔;保证NC产生的气

收稿 2005-03-14 修订 2005-09-06

资助 中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX1-SW-13-0X-0X)。

通讯作者(E-mail: fyl@xtbg.ac.cn, Tel: 0871-5163626)。

孔可排列在正确的位置上^[5]。野生型拟南芥的原表皮细胞只有一小部分能转化为MMC形成气孔,大部分分化为扁平细胞(pavement cell),而且NC分裂产生的气孔总是远离已形成的气孔,避免气孔之间相互接触。sdd1突变体则相反,进入气孔发生途径的原表皮细胞数目大量增加,产生很多拟分生组织细胞,并且MMC不是在3次不对称分裂后而是直接由M1或M2发育成气孔^[8],因而气孔数目大量增加。在sdd1突变体中,NC产生许多拟分生组织紧靠气孔,以致新形成的气孔与已有气孔相互接触。

TMM有一系列等位基因,其主要功能是:“校正”拟分生组织细胞排列出现的错误;保证与已有气孔接触的MMC分裂产生的气孔远离已形成的气孔。野生型拟南芥的两个拟分生组织细胞很少接触在一起,即使偶尔出现这种情况,其中一个拟分生组织细胞也会分裂产生一个子细胞将两者分开,避免以后形成的气孔互相接触。而tmm突变体则丧失这种自我“校正”能力,导致多个气孔“拥挤”在一起,呈现严重的气孔“簇生”现象^[4]。MMC与已形成的气孔接触时,野生型拟南芥MMC会尽量向远离气孔的方向分裂,但tmm突变体MMC却随机分裂,因而新产生的气孔与已形成的气孔接触在一起的几率大大增加。

YDA也是一个与气孔发生密切相关的基因,YDA编码的YDA蛋白是一种可促分裂原活化蛋白激酶的激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK),是气孔发生的负调节子,此酶的N末端区域对酶活性有抑制作用^[9]。Bergmann等^[10]发现,当拟南芥YDA蛋白的N末端缺失后,植物叶片表皮上几乎没有气孔;而yda突变体的叶片和下胚轴表皮却产生大量气孔,且气孔出现“簇生”现象。因此他们认为,YDA的主要功能是限制进入气孔发生途径中的MMC和NC数目以及调节拟分生组织细胞的分裂方向。正常状态下,只有一定数量的YDA蛋白的N末端区域发生降解,使其活性保持在一定的水平。活性太高会限制进入气孔发生途径中相关细胞数目,以致气孔数量降低;活性太低则会增加进入气孔发生途径的MMC和NC数目,以致气孔数目大量增加^[10]。

SDD1、TMM、YDA基因突变体的表型相似,SDD1、TMM、YDA可能处于调控气孔发生的同一个信号通路中^[7],SDD1可能主要决定气孔的数目,而TMM则可能主要决定气孔的排列^[2]。SDD1富含丝氨酸,是胞外蛋白,是调控气孔发

生的主要胞外因子。TMM富含亮氨酸,位于细胞膜上,与一种未知因子组成SDD1的受体复合体。当SDD1与受体复合体结合后,胞外信号即传递到胞内,通过调节不同部位的YDA活性高低,调节气孔的数目和分布^[7]。

除TMM、SDD1和YDA调控气孔的发生外,还发现其它几个基因对气孔发生有作用。FLP(four lips)可能有保障保卫母细胞只能进行1次对称分裂的功能;flp基因缺失突变体的保卫母细胞可多次分裂,形成由多个保卫细胞围成的变异气孔^[11]。KAT1(K⁺-channel from Arabidopsis thaliana)与KST1(K⁺-channel from Solanum tuberosum)分别编码拟南芥和马铃薯K⁺通道相关的蛋白^[12],苹果酸产生途径中的关键酶PEPC(phosphoenolpyruvate carboxykinase)编码马铃薯K⁺通道相关的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶,这3个基因对气孔开闭起作用^[13]。G CPRP(guard cell proline-rich protein)编码保卫细胞中一种富含脯氨酸的蛋白(respectively proline-rich protein, RPRP),RPRP是高等植物初生壁重要组成部分,G CPRP的表达对保卫细胞壁的增厚有作用^[13]。

2.2 角质层 植物的表皮覆盖着角质层从形态和化学组成上可以将它分为两部分:上面一层富含蜡质,下面一层富含角质。角质是16 C和18 C脂肪酸相互连接构成的多聚体;蜡质主要由长链脂肪酸构成。CER(eceriferum)基因与植物表皮蜡质含量有关,包含一系列等位基因,其中CER1与CER6编码拟南芥长链脂肪酸合成酶系的相关组分。生长在干旱条件下的cer1拟南芥突变体,蜡质少,气孔密度大,并且气孔簇生^[14]。但CER的其它44对等位基因缺失突变体只是蜡质少,并不出现气孔密度变化及簇生现象^[15]。HIC(high carbon dioxide)编码3-酮脂酰辅酶A合成酶,此酶是角质层中许多长链脂肪酸合成过程中的一个重要组分。CO₂抑制拟南芥拟分生组织细胞的分裂,降低气孔密度,而角质层中长链脂肪酸利于CO₂的跨膜转运^[14]。hic突变体的角质层中长链脂肪酸含量下降,因而影响CO₂信号传递,所以在高CO₂浓度下hic突变体气孔密度明显高于野生型^[14]。

角质层中短链脂肪酸的饱和度也影响气孔发生。脂肪酸脱氢酶4(fatty-acid desaturase 4, FAD4)的作用是催化软脂酸脱氢,如果此酶突变,即使CO₂浓度升高,拟南芥的气孔数目也不降低^[16]。Fiehn等^[17]发现,在很高浓度CO₂条件下拟南芥fad4突变体仍能形成气孔,且气孔数目比野生型

高3~4倍,与此同时,非饱和软脂酸数量下降了5倍,饱和软脂酸数量则明显增加。

角质层与表皮紧密相连,处于植物最外层,能有效地感受那些与气孔密度、分布和功能有关的信号因子。角质层伴随着气孔密度和分布的变化而变化,这可能主要是因为角质层中角质与蜡质的变化可改变信号分子的亲和性和扩散性,或者是影响脂依赖型信号分子产生的缘故^[18]。

2.3 细胞骨架 表皮细胞中高度有序排列的微管和肌动蛋白丝对气孔复合体的形态建成也有作用^[19]。表皮层中的微管能够控制纤维素微纤丝的沉积方向,影响细胞壁的增厚过程,从而决定气孔的机械特性,因而保卫细胞能够精确调节气孔的孔径。在拟分生组织细胞不对称分裂过程中,与细胞极性相关的物质转运以及细胞分裂面的形成都需要肌动蛋白丝的参与,另外,肌动蛋白丝还可能参与转运与气孔形态建成有关的信号物质。气孔下腔和气孔口的形成也是一个微管依赖性过程^[20]。秋水仙素能够抑制豇豆(*Vigna sinensis*)气孔的发生,体内产生大量拟分生组织和保卫母细胞^[21],可能是因为秋水仙素能够阻断微管组装,抑制了拟分生组织和保卫母细胞分裂的缘故。

2.4 激素 Saibo等^[22]发现赤霉素(GAs)处理可促使拟南芥幼苗下胚轴形成大量气孔,赤霉素与乙烯或生长素同时使用时效应更明显。赤霉素信号转导抑制剂或与赤霉素生物合成相关的基因突变都会使下胚轴气孔数目减少,但叶片气孔数目不受影响。赤霉素可促进下胚轴气孔形成,但不影响叶片气孔发生,表明不同器官气孔发生的调控机制可能不同。赤霉素可能参与下胚轴气孔发生过程中的信号转导,促进拟分生组织细胞分裂^[22]。这一过程可能与TMM有关,拟南芥 *tmm-1* 突变体叶片和子叶有大量气孔,而下胚轴则没有气孔(但其它TMM等位基因突变却导致拟南芥下胚轴形成大量气孔), *tmm-1* 突变的表型是显性的,只要 *tmm-1* 突变就能导致下胚轴气孔消失。因而Geisler等^[23]推测TMM-1是赤霉素作用的靶物质,突变体不能形成TMM-1产物,信号转导途径受阻,细胞不能进行分裂,以致下胚轴不能形成气孔。脱落酸(ABA)对气孔发生也有影响,拟南芥中与ABA合成有关基因的突变体气孔密度明显高于野生型,但气孔指数[气孔数目/(气孔数目+表皮细胞数目)]却与野生型一致,并且突变体气孔也未出现簇生现象。Razem和Davis^[24]认为ABA不影响MMC形成及气孔定位,可能在气孔发生的后

半阶段起作用。

2.5 外界环境因子 植物生长环境对气孔的发生也有很大影响,不同环境下同种植物的气孔数目和分布均不相同。CO₂浓度升高会导致拟南芥气孔密度降低^[14]; Knapp等^[25]在北美大蓝茎草(*Andropogon gerardii*)和鼠尾草(*Salvia pitchei*)中也发现,高浓度CO₂条件下,气孔密度明显降低,并且叶片上表面与下表面的气孔数目比例升高。Gray等^[14]认为,高浓度CO₂能抑制拟分生组织分裂,以致气孔数目减少。但Bettarini等^[26]发现,CO₂浓度变化对小麦气孔发生影响不大; Luomala等^[27]也发现欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)气孔发生对CO₂不敏感,而温度升高时其气孔密度明显降低。水分胁迫下玉米和小麦气孔变小,密度增加^[28,29]。紫外辐射和光照也能影响气孔发生:受UV-B辐射的大豆气孔密度降低^[30]; UV-A照射的桦木叶片的气孔孔径变宽、变长,但气孔密度不受影响^[31]; 蓝光促进大豆叶片下表皮气孔的生成,但对上表皮气孔形成则起抑制作用,这可能与光形态发生有关^[32,33]。气孔发生随着环境而变化可能是植物主动适应环境的一种策略。

3 结语

气孔是植物与外界进行气体与水分交换的通道,气孔的结构是其功能的基础,而气孔的发生又决定了气孔的结构,气孔的形成对绿色植物的生命活动作用极大。气孔发生机制可以概括为几点:(1)MMC不对称分裂是气孔正常形成的前提;(2)气孔发生遵循间隔原则,即两个气孔之间决不互相接触;(3)气孔发生非由单个因子决定,而是受多个因子共同参与的复杂的信号转导途径调控的,其中SDD1、TMM、YDA的作用很大。

气孔发生机制仍有几个问题需要继续研究:原表皮细胞是如何获得分裂能力转化为MMC并进入气孔发生途径的;MMC不对称分裂形成的小细胞总是转变为拟分生组织细胞,而且似乎在不对称分裂之前就已经确定了分裂后细胞的极性,那么,这个不对称分裂面是怎样形成的,是哪种蛋白或基因决定了细胞的极化方向;气孔形成要经过3次不对称分裂,植物通过什么机制保证恰好进行了3次分裂;NC总是向着远离已形成气孔的方向分裂,NC是如何感知已形成气孔的位置而决定自己的分裂方向的。相信随着基因技术的发展,结合采用筛选突变体和基因剔除技术,人们将可以陆续发现和鉴定出其它更多与气孔发生有关的基因,找出更多与气孔发生相关的因子,从而

加深对气孔发生机制的认识。随着科技的进步,将来还有可能人为地改变植物叶片气孔的数量、位置、形态、调节气孔孔径,使农作物保持较高光合速率的同时又能有效地防止水分丢失,从而提高作物产量和水分利用效率。

参考文献

- Gray JE, Hetherington AM. Plant development: YODA the stomatal switch. *Curr Biol*, 2004, 14: 488-490
- Nadeau JA, Sack FD. Stomatal development: cross talk puts mouths in place. *Trends Plant Sci*, 2003, 8(6): 294-299
- Serna L, Fenoll C. Reinforcing the idea of signalling in the stomatal pathway. *Trends Genet*, 2002, 18(12): 597-600
- Geisler M, Nadeau JA, Sack FD. Oriented asymmetric divisions that generate the stomatal spacing pattern in *Arabidopsis* are disrupted by the too many mouths mutation. *Plant Cell*, 2000, 12: 2075-2086
- Serna L, Fenoll C. Stomatal development in *Arabidopsis*: how to make a functional pattern. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(11): 458-460
- Nadeau JA, Sack FD. Control of stomatal distribution on the *Arabidopsis* leaf surface. *Science*, 2002, 296: 1697-1700
- Serna L. Good neighbours. *Nature*, 2004, 430(15): 302-304
- Berger D, Altman T. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Gene Dev*, 2000, 14: 1119-1131
- Asai T, Tena G, Plonikova J et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 2002, 415: 977-983
- Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 2004, 304: 1494-1497
- Yang M, Sack FD. The too many mouths and four lips mutations affect stomatal production in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1995, 7: 2227-2239
- Muller-Rober B, Ellenberg J, Provart N et al. Cloning and electrophysiological analysis of KST1, an inward rectifying K⁺ channel expressed in potato guard cells. *EMBO J*, 1995, 14: 2409-2416
- Groll UV, Altman T. Stomatal cell biology. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4: 555-560
- Gray JE, Holroyd GH, Van der Lee FM et al. The HIC signalling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature*, 2000, 408: 713-716
- Zeiger E, Stebbins GL. Developmental genetics in barley: a mutant for stomatal development. *Am J Bot*, 1972, 59: 143-148
- Lake JA, Woodward FI, Quick WP et al. Long-distance CO₂ signalling in plants. *J Exp Bot*, 2002, 53: 183-193
- Fiehn O, Kopka J, Dormann P et al. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(11): 1142-1143
- Bird SM, Gray JE. Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. *New Phytol*, 2003, 157: 9-23
- Huang RF, Wang XC. Roles of cytoplasmic microtubules in the regulation of stomatal movement. *Acta Bot Sin*, 1997, 39: 253-258
- Galatis B, Apostolakis P. The role of the cytoskeleton in the morphogenesis and function of stomatal complexes. *New Phytol*, 2004, 161: 613-639
- Galatis B. Differentiation of stomatal meristemoids and guard cell mother cells into guard-like cells in *Vigna sinensis* leaves after colchicine treatment. *Planta*, 1977, 136(2): 103-114
- Saibo NJ, Vriezen WH, Beemster GT et al. Growth and stomatal development of *Arabidopsis* hypocotyls are controlled by gibberellins and modulated by ethylene and auxins. *Plant J*, 2003, 33: 989-1000
- Geisler M, Yang M, Sack FD. Divergent regulation of stomatal initiation and patterning in organ and suborgan regions of the *Arabidopsis* mutants too many mouths and four lips. *Planta*, 1998, 205: 522-530
- Razem FA, Davis AR. Stomatal frequency, maturity and index on developing bracts of four abscisic acid mutants and wild-type plants of *Arabidopsis thaliana*. *Environ Exp Bot*, 2002, 48: 247-256
- Knapp AK, Cocke M, Hamerlynck EP et al. Effect of elevated CO₂ on density and distribution in a C₄ grass and a C₃ forb under field conditions. *Ann Bot*, 1994, 74(6): 595-599
- Bettarini I, Vaccari FP, Miglietta F. Elevated CO₂ concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO₂ spring in central Italy. *Glob Chan Biol*, 1998, 4: 17-22
- Luomala EM, Laitinen K, Sutinen S et al. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO₂ and temperature. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 733-749
- 于海秋, 武志海, 沈秀瑛等. 水分胁迫下玉米气孔密度、大小及纤维结构的变化. *吉林农业大学学报*, 2003, 25(3): 239-242
- 杨惠敏, 王根轩. 干旱和CO₂浓度升高对干旱区春小麦气孔密度及分布的影响. *植物生态学报*, 2001, 25(3): 312-316
- Gitz III DC, Liu-Gitz L, Britz SJ et al. Ultraviolet-B effects on stomatal density, water-use efficiency, and stable carbon isotope discrimination in four glasshouse-grown soybean (*Glycine max*) cultivars. *Environ Exp Bot*, 2005, 53(3): 343-355
- Kostina E, Wulff A, Julkunen-Tiitto R. Growth, structure, stomatal responses and secondary metabolites of birch seedlings (*Betula pendula*) under elevated UV-B radiation in the field. *Trees*, 2001, 15(8): 483-491
- Nogués S, Allen DJ, Morison JI et al. Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development, and photosynthesis in droughted pea plants. *Plant Physiol*, 1998, 117: 173-181
- Liu-Gitz L, Britz SJ, Wergin WP. Blue light inhibits stomatal development in soybean isolines containing kaempferol 3-O-2G-glycosyl-gentiobioside (K9), a unique flavonoid glycoside. *Plant Cell Environ*, 2000, 23: 883-891