

HgCl₂ 和甘露醇对细胞骨架调控 气孔开放的影响^①

黄荣峰^② 王学臣 娄成后
(生物学院)

Effect of HgCl₂ and Mannitol on Stomatal Opening Regulated by Cytoskeleton

Huang Rongfeng Wang Xuechen Lou Chenghou
(College of Biology)

传统观点认为水分可自由顺渗透梯度跨质膜进入细胞,最新研究表明水分可以通过膜上的水通道运动。水通道(water channels)或水通道蛋白(aquaporins)的发现使人们对水分运动的观念发生了变化。水通道是一种仅让水分通过而限制离子运动的选择性通道(Chrispeels & Agre, 1994, TIBS, 19: 421~425)。植物中水通道蛋白首先是在液泡膜上发现的,最近在质膜上也发现有水通道蛋白。水通道的研究除了用分子生物学方法外还可用汞试剂处理组织或细胞并测量水分转运的变化,进而推测水通道的存在。植物组织中已有用(ρ -chloromercuri-phenyl sulfonic acid 和 HgCl₂ 处理鉴定出拟丽藻 (*Nitellopsis*) 节间细胞和轮藻节间细胞(chara)中存在水通道蛋白(Wayne & Tazawa, 1990, J. Membrane Biol., 116: 31~39; Henzler 和 Steudle, 1995, J. Exp. Bot. 46: 199~209)。但保卫细胞中是否存在水通道蛋白及其调控因子还未见报道。

我们的研究已经证明细胞骨架对气孔开放具有重要的调控作用。本文采用水通道抑制剂 HgCl₂ 和渗透剂甘露醇处理蚕豆(*Vicia faba* L.) 表皮条或蚕豆保卫细胞原生质体,研究了细胞骨架对气孔开放的调控途径。所有实验试剂均溶于 10 mmol·L⁻¹ Mes-Tris 的无 K⁺ 缓冲液(pH 6.1)中,且实验在暗中进行。不同浓度甘露醇处理蚕豆表皮条结果表明,0.5 mg·L⁻¹ 真菌毒素-Fusicoccin (FC) 能有效的诱导 0.45 mol·L⁻¹ 甘露醇处理的气孔开放,10 μ mol·L⁻¹ 乙酰胆碱(Ach)和 0.5 mmol·L⁻¹ 吲哚乙酸(IAA)在 0.1 mol·L⁻¹ 甘露醇溶液中均可在无 K⁺ 缓冲液分别诱导气孔开放;且 FC, Ach 或 IAA 在不同浓度甘露醇处理下的诱导作用均随着处理时间延长而降低,FC, Ach 和 IAA 在以上相应甘露醇浓度处理下使气孔维持最大开度的时间分别为 120, 120 和 90 min。但一旦在 FC, Ach 和 IAA 溶液中分别加入 10 mg·L⁻¹ 细胞松弛素-B(CB)(微丝抑制剂)或 50 mg·L⁻¹ Oryzalin(微管抑制剂)则这种诱导气孔开放的作用均被抑制,说明气孔的开放需要有微管或微丝的参与。同样,10 mmol·L⁻¹ Mes-Tris 的无 K⁺ 缓冲液(pH 6.1)中,FC, Ach 和 IAA 均可分别诱导蚕豆保

(下转第 44 页)

收稿日期: 1996-07-11

①国家自然科学基金资助项目 39230040

②黄荣峰,北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

(上接第6页)

卫细胞原生质体膨胀,但在FC, Ach 和 IAA 溶液中分别加入 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CB 或 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Oryzalin 后,其膨胀作用均被抑制。表明在没有表皮细胞向保卫细胞提供 K^+ 的情况下 FC, Ach 或 IAA 均可诱导保卫细胞原生质体膨胀,且这种保卫细胞原生质体膨胀作用与微管、微丝的作用有关。水通道抑制剂 HgCl_2 处理蚕豆表皮条和蚕豆保卫细胞原生质体的结果表明,在FC, Ach 和 IAA 溶液中分别加入 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HgCl_2 则 FC, Ach 和 IAA 诱导气孔开放和保卫细胞原生质体膨胀均被抑制,说明水通道蛋白可能参与了气孔开放过程。

从以上结果我们可以推测,微管、微丝可能直接调控并引起保卫细胞原生质体体积膨胀,或者至少说在气孔开放的初期是这样,在气孔开放后期则还须有 K^+ 等渗透调节物质维持保卫细胞内足够的膨压。由于保卫细胞壁特别加厚,它们对气孔的运动是非常重要的,仅有保卫细胞原生质体体积的膨胀还可能不足以克服胞壁对其产生的影响,须有某种因子使壁松动;研究认为 FC, IAA, Ach 均可分泌质子引起质外体 pH 下降,进而导致细胞壁松动。因而,微管、微丝共同引起的胞质膨胀就可能导气孔开放。另一方面,保卫细胞原生质体膨胀后须有水分进入以维持其形态,水通道蛋白的存在为此提供了新的证据。

(上接第30页)

实验中我们除了采用无 K^+ 溶液外,还在 FC, IAA 或 Ach 溶液中加入 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ABA, 或 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 , 二者的作用机制都认为可能是引起 K^+ 内向通道关闭,而开启 K^+ 外向通道,进而导致气孔关闭。结果发现,无论在暗中或光下,对照(无 K^+ 溶液、ABA 或 Ca^{2+})中,气孔均不开放。加入 FC, IAA, 或 Ach 后,气孔均能不同程度的开放。表明 FC, IAA 或 Ach 诱导气孔开放不受 ABA 或 Ca^{2+} 的影响。但将关闭气孔经 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的细胞松弛素-B(CB)暗中处理 50 min 或 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Oryzalin 暗中处理 60 min 后,再分别用 FC, IAA 或 Ach 诱导,发现这种诱导气孔开放的作用均被抑制。即用 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CB 暗中预处理关闭气孔 50 min 后,再用 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FC 处理 90 min(暗无 K^+),气孔开度(较不经 CB 预处理)被抑制了 35.6%; 同样,用 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Oryzalin 暗中预处理关闭气孔 60 min 后, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FC 诱导的气孔开放被抑制了 48.6%; 类似 CB 和 Oryzalin 抑制 FC 诱导气孔开放的影响,用 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CB 暗中处理 50 min 或 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Oryzalin 暗中处理 60 min 后, IAA 和 Ach 诱导气孔开放作用均被抑制,其抑制程度分别为 33.6%~52.5% 和 25%~44.7%。

从以上结果我们推测微管、微丝可能对气孔开放起着重要的直接调控作用,这种调控作用可能不依赖于 K^+ 的运动,而与花粉管的萌发与伸长中微管、微丝的作用类似。气孔运动是一个复杂过程,多种内源和外源因子均可引起气孔运动。以离子运动导致水分运动解释气孔运动机理还不够全面,气孔运动须有胞内细胞器的参与。我们的实验初步确定了微管、微丝在无 K^+ 情况下仍可调控气孔的开放,但这种调控的方式或途径还有待进一步的研究。