

蚕豆叶片气孔对生长素和脱落酸的反应^①

张蜀秋^② 魏惠利

(中国农业大学生物学院)

摘要 研究了蚕豆叶片和离体表皮条上气孔对外源生长素和脱落酸的反应及这2种激素在调节气孔运动中的关系。生长素能诱导关闭的气孔在黑暗条件下开放,在 $0.01\sim 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,随生长素浓度增加,气孔孔径加大,但在更高浓度下,诱导作用减小;叶片上的气孔比离体表皮条上的气孔对生长素的浓度变化反应更敏感。在 $0.01\sim 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,脱落酸能有效地诱导气孔关闭,随脱落酸浓度增加而气孔孔径减小;在较低浓度范围,离体表皮上的气孔反应较灵敏,但在较高浓度时,叶片上的气孔关闭更明显。抑制被光诱导的气孔开放的作用随脱落酸浓度增加而加强,在叶片上的气孔和在离体表皮上的气孔对脱落酸的反应有类似趋势,但叶片上气孔孔径变化的幅度更大。生长素对脱落酸诱导的气孔关闭表现出一定程度的拮抗作用,与其不同浓度组合有关。

关键词 气孔;蚕豆;生长素;脱落酸;拮抗作用

分类号 Q945

Stomatal Responses of *Vicia faba* L. to IAA and ABA

Zhang Shuqiu Wei Huili

(College of Biology, CAU)

Abstract Effects of external ABA and IAA on the stomatal behavior of *Vicia faba* L. were tested with leaf tissues and isolated epidermal peels. Tissues were incubated in solutions containing different concentration IAA or / and ABA in the light or dark. In the range of $0.01\sim 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration IAA induced stomatal opening in the dark, stomatal apertures reached maximum at $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Stomata in leaf tissues were apparently more sensitive to IAA than isolated epidermal peels. In the range of $0.01\sim 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA induced stomatal closure and inhibited stomatal open in the light. In terms of inducing stomatal closure, stomata in isolated epidermis were more sensitive to the low concentration ($0.01\sim 0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of ABA, but stomatal aperture reduced rapidly in leaf tissues at the $1\sim 10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA concentration. For inhibiting light induced stomatal opening, effects increased with rising ABA concentration, but the changes of stomatal aperture were more notable in leaf tissues. Interactions between IAA and ABA on closing regulation of stomata were also studied, and results showed that IAA and ABA are antagonistic each other in their effects on stomatal movement.

Key words stomata; *Vicia faba* L.; IAA; ABA; antagonism

收稿日期: 1997-10-30

①国家自然科学基金资助项目 39870076

②张蜀秋,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

植物叶片表面上密布的气孔是水分和气体出入的通道,其孔径大小直接控制着植物的光合作用和蒸腾作用的进行及其平衡。组成气孔的一对保卫细胞对光、温度、水分、 CO_2 等环境因子非常敏感,而水分等因子又通过植物内源激素水平变化来传递信息。已有许多实验证明:在缺水条件下,植物从根系到叶片各部位内源激素脱落酸(ABA)含量增加,诱导气孔关闭^[1];ABA 也能阻止 K^+ 和/或光诱导的气孔张开^[2];在含 KCl $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液中加入生长素(IAA)可诱导鸭趾草(*Commelina communis* L.)叶片气孔张开^[3];Davies 和 Mansfield^[4]进一步阐述了 IAA 对气孔运动的影响。但是目前观察到的 IAA 对气孔运动的作用存在矛盾的结果,特别是在不照光条件下,IAA 诱导气孔张开的证据不足。近年来,人们开始注意到在叶片上的气孔与离体表皮条上的气孔对激素的敏感性不同^[5]。为此,我们研究了蚕豆叶片和离体表皮条上的气孔对 IAA 和 ABA 反应的差别,以及 IAA 和 ABA 在调节气孔运动中的相互作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蚕豆(*Vicia faba* L.)种子浸种 3 d 后播种在营养土中,置生长室中生长,温度:白天 $22 \sim 25^\circ\text{C}$,夜间 $16 \sim 18^\circ\text{C}$;相对湿度 50%;11 h 光照,13 h 黑暗,光强为 $8\,000 \sim 10\,000 \text{ lx}$;适时浇水。取 3~4 周龄的幼苗上部完全展开叶片,从叶片一侧中部切取 1 cm^2 的小块,并从另一侧撕取同样大小的下表皮作为实验材料。

1.2 实验前处理

配制 pH 6.15 缓冲液($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MES-KOH 含 KCl $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 CaCl_2 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),将切取的叶片材料放入盛缓冲液的培养皿中。对将诱导气孔开放的材料置室温($18 \sim 20^\circ\text{C}$)、黑暗条件下进行前处理 60 min,使气孔基本关闭,对将诱导气孔关闭的材料置室温、 $6\,000 \text{ lx}$ 日光灯光照下进行前处理 60 min,使气孔张开。

1.3 IAA 促进气孔开放实验处理

用上述缓冲液配制不同浓度的 IAA 溶液,将经过前处理使气孔关闭的叶片块和表皮条分别放入不同浓度的 IAA 溶液中,置室温($18 \sim 20^\circ\text{C}$)、黑暗条件下 3 h 后,在显微镜下用显微测微尺测定气孔孔径,每个处理取 3 片表皮在不同视野随机测定共 60 个孔径值,所有实验重复 3 次。

1.4 ABA 诱导气孔关闭和抑制气孔开放实验处理

用上述缓冲液配制不同浓度的 ABA 溶液,将经过前处理使气孔开放或关闭的叶片块和下表皮分别放入不同浓度的 ABA 溶液中,置室温、 $6\,000 \text{ lx}$ 日光灯光照下 3 h,同上分别测定气孔孔径。

1.5 IAA 和 ABA 相互作用实验处理

将不同量 IAA 和 ABA 溶液加入小培养皿中,使之分别为 ABA 浓度 0, 0.01, 0.1, 1, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 IAA 浓度 0, 0.1, 1, 10, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的各种组合,放入经过前处理使气孔开放的叶片块和表皮条,置室温、 $6\,000 \text{ lx}$ 日光灯光照下 3 h,同上测定各处理的气孔孔径。

2 结果分析

2.1 IAA 诱导气孔开放的作用

IAA 能诱导原处于关闭状态的气孔在黑暗条件下开放,在 $0.01 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围

内,随 IAA 浓度增加,气孔孔径加大,但在超过 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,诱导开放的作用减小(图 1)。在同一 IAA 浓度下,叶片块上的气孔孔径比表皮条上的气孔孔径大,对 IAA 浓度增加的反应更敏感:对于叶片块, $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IAA 起最大诱导作用,而对下表皮, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA 处理时,气孔孔径达到最大。

2.2 ABA 诱导的气孔关闭和抑制气孔开放

在照光条件下,一定浓度的 ABA 能明显地诱导原处于开放状态的气孔关闭、抑制原处于关闭状态的气孔开放,在 $0.01\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,均随 ABA 浓度增加而效应加强(图 2,3),从图 2 中可以看出:在较低浓度下,表皮条上的气孔比叶片块上气孔对浓度变化反应更灵敏,而在较高浓度下,叶片块上气孔孔径减小得更多。在 ABA 抑制气孔开放的作用中(图 3),叶片和表皮条上气孔对浓度变化的反应有类似趋势,但叶片上气孔孔径变化幅度更大, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 处理比对照的气孔孔径平均减小了 $8 \mu\text{m}$,而表皮条上的气孔孔径只减小了 $5 \mu\text{m}$ 。

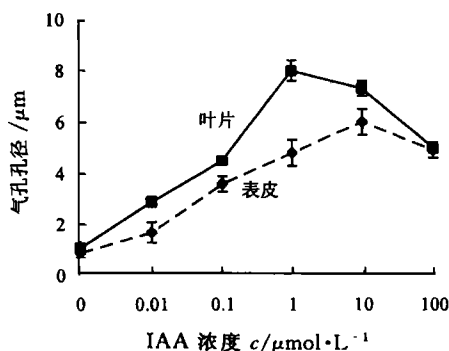


图 1 IAA 诱导的暗中气孔开放

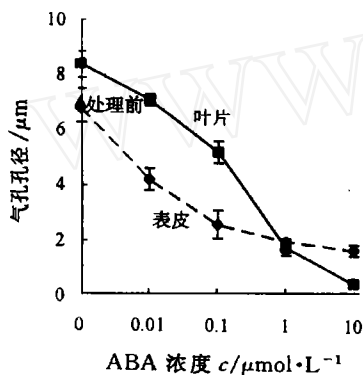


图 2 在光下 ABA 诱导的气孔关闭

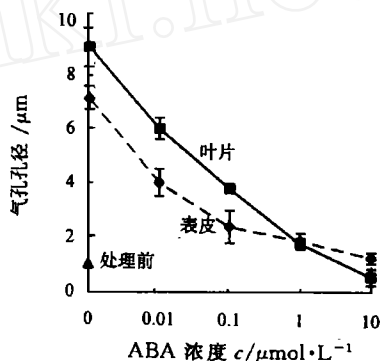


图 3 在光下 ABA 抑制的气孔开放

2.3 IAA 和 ABA 对气孔运动影响的相互作用

研究了不同浓度的 IAA 和 ABA 组合处理在调节气孔运动中的相互作用。随 IAA 浓度增加,对 ABA 诱导的表皮条上气孔关闭的拮抗作用越明显,至 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IAA 能完全抵消 ABA 的作用(图 4)。对于叶片上的气孔(图 5),在较低 ABA 浓度时,二者之间的拮抗作用表现不明显,在较高的 ABA 浓度下,IAA 才表现较明显的拮抗作用, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IAA 对 ABA 诱导气孔关闭的效应有最显著的拮抗效应,而 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IAA 对 ABA 的作用却几乎没有影响。

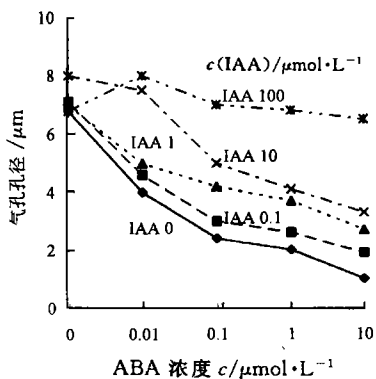


图4 IAA对ABA诱导离体表皮气孔关闭的影响

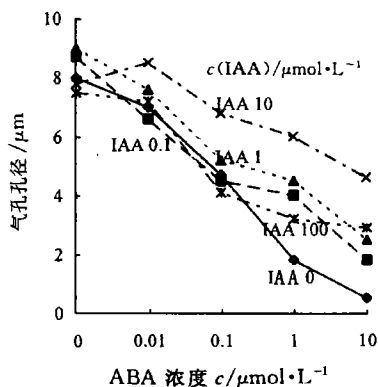


图5 IAA对ABA诱导叶片上气孔关闭的影响

3 讨论

3.1 气孔保卫细胞对IAA反应的浓度效应

早在发现生长素之初就探讨过生长素是否会影响气孔开度,观察到不同的植物对不同类型的生长素类物质及其不同的浓度的反应不同,不同的处理方式和条件也会使气孔的行为表现不一致,甚至有时是促进气孔开放,而有时却使气孔关闭^[4,6]。本实验结果表明 IAA 对蚕豆气孔保卫细胞的作用具有典型的浓度效应,在 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下的低浓度范围内,随生长素浓度增加,诱导的气孔孔径加大,而超过此浓度范围时,诱导效应则减弱了。已有一些实验室初步研究了生长素促进气孔开放的机理,实验证明: $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 2,4-D 能激活保卫细胞质膜上的 H^+ -ATPase,引起 H^+ 外流,使保卫细胞质膜超极化,进而使质膜上的 K^+ 内向通道开启, K^+ 流入细胞,胞内渗透势下降,水分流入,保卫细胞膨胀,气孔开放^[7];而高浓度生长素导致气孔关闭的效应可能和调节保卫细胞质膜上的阴离子通道有关,Marten^[8]用膜片钳技术测定离子流证实生长素作用于质膜阴离子外向通道而使 Cl^- 外流,导致质膜去极化,引起气孔关闭。

3.2 ABA 诱导气孔关闭和抑制气孔开放

正如目前一致公认的,ABA 能使质膜去极化,刺激 K^+ 外向通道开启而内向通道关闭,大量 K^+ 外流,而诱导气孔关闭和抑制气孔开放^[6,9]。本实验结果表明:ABA 诱导气孔关闭和抑制气孔开放的程度和 ABA 的浓度正相关,但是对叶片块处理的气孔关闭和抑制开放随浓度变化的趋势有所不同,是否存在不同的机制值得进一步研究。

3.3 IAA 和 ABA 在调节气孔运动中的相互作用

由于在一定条件下 IAA 可明显诱导气孔开放,推测 IAA 可能影响了 ABA 的作用。Dunleavy 和 Ladley^[10]的研究表明在蚕豆叶片离体表皮条上气孔运动的调节中,在无缓冲系统和无 CO_2 的条件下,IAA 与 ABA 表现出一定的拮抗作用。本实验进一步确定在有 MES 缓冲液、正常空气条件下,IAA 也能在一定程度上逆转 ABA 诱导的气孔关闭。可能的解释是:ABA 使质膜去极化,而 IAA 能激活保卫细胞膜上的 H^+ -ATPase,使 H^+ 外流而膜超极化,因而表现出

拮抗作用。在正常生长的植物体内,同时存在几种激素,在对环境变化的反应中,各种激素水平可能发生变化,植物的响应常是由不同激素平衡的变化来指导的,而不仅仅决定于某单一激素的浓度变化。在激素对气孔运动的调节中,也应注意各相关激素的平衡。

3.4 叶片和离体表皮上气孔保卫细胞对激素反应程度不同

从本实验可以看出:无论是对 IAA 或是 ABA,叶片上和离体表皮条上气孔的反应都有不同,在 IAA 诱导的气孔开放中,叶片上气孔对浓度变化更为敏感;在 ABA 诱导的气孔关闭中,低浓度时表皮条上的气孔反应更敏感,但高浓度 ABA 使叶片上气孔孔径明显减小;在 ABA 抑制气孔开放中,虽然离体表皮上气孔和叶片上气孔的反应有类似趋势,但孔径变化的幅度也有所不同。分析这种差异的原因,首先,可能由于叶片和表皮条对激素溶液的吸收和代谢有差别而造成反应程度不同。Trejo^[5]用不同方式供应 ABA,发现离体表皮对 ABA 最敏感,叶圆片最不敏感,从叶柄进入的居中,经放射性标记 ABA 及 ABA 代谢抑制剂的检测,证明表皮细胞和保卫细胞代谢 ABA 的能力比叶肉细胞低,分析可能由于叶肉细胞对 ABA 的迅速代谢影响了到达和积累于保卫细胞的 ABA 的量,而影响其对 ABA 的反应。但是,在本实验中,叶片上气孔和表皮条上气孔对 IAA 和对 ABA 反应的差异不是相同的趋势,要解释这一现象,还需要检测表皮条或叶片分别对 IAA 和 ABA 吸收和代谢的情况。

其次,应考虑表皮细胞的作用。有实验表明,表皮细胞的状态对气孔的行为有所影响^[11],在完整叶片上的表皮细胞可能作为离子、糖、激素等的中转站,协助调节保卫细胞的生理生化状态而影响气孔运动。我们在研究中常用离体表皮条这样一个单纯的实验系统,能方便有效地研究气孔运动的机制及其调控。但其结果和完整叶片或在完整植株上气孔的行为也许不完全一致,因而应在完整植株上得到进一步的确证。

参 考 文 献

- 1 王学臣,任海云,娄成后. 干旱胁迫下植物根与地上部间的信息传递. 植物生理学通讯, 1992, 28(6): 397~402
- 2 Raschke K. Stomatal action. Annu Rev Plant Physiol, 1975, 26: 309~340
- 3 Pemadasa M A. Differential abaxial and adaxial stomatal responses to indole-3-acetic acid in *Commelina communis* L. New Phytologist, 1982, 90: 209~219
- 4 Davies W J, Mansfield T A. Auxins and stomata. In: Zeiger E, et al eds. Stomatal Function. Stanford CA: Stanford Univ Press, 1987, 293~309
- 5 Trejo C L, Davies W J, Ruiz L M. Sensitivity of stomata to abscisic acid. Plant Physiol, 1993, 102: 497~502
- 6 Assmann S A. Signal transduction in guard cells. Annu Rev Cell Biol, 1993, 9: 345~375
- 7 Lohse G, Hedrich R. Characterization of the plasma-membrane H^+ -ATPase from *Vicia faba* guard cells. Planta, 1992, 188: 206~214
- 8 Marten I, Lohse G, Hedrich R. Plant growth hormones control voltage-dependent activity of anion channels in plasma membrane of guard cells. Nature, 1991, 353: 758~762
- 9 Blatt M R. Potassium channel currents in intact stomatal guard cells: rapid enhancement by abscisic acid. Planta, 1990, 180: 445~455
- 10 Dunleavy P J, Ladley P D. Stomatal responses of *Vicia faba* L. to indole acetic acid and abscisic acid. J Expt Bot, 1995, 46: 95~100
- 11 Spence R D, Sharpe P J H, Powell R D, et al. Epidermal and guard cell interactions on stomatal aperture in epidermal strips and intact leaves. Annals of Botany, 1983, 52: 1~12