

文章编号: 1001-1498(2000) 01-0071-04

水分胁迫下中东杨气孔运动与保卫细胞 离子含量变化的关系

周晓阳, 赵楠, 张辉

(北京林业大学生物学院, 北京 100083)

摘要: 中东杨插条苗经水分胁迫处理后, 在扫描电镜下观察了气孔开度的变化, 并用扫描电镜结合 X-射线能谱显微分析技术, 分析了保卫细胞中的离子含量变化。结果表明, 随着水分胁迫强度的增大, 气孔开度变小, 气孔趋于关闭。伴随着气孔关闭, 保卫细胞中最明显的变化就是 K^+ 、 Cl^- 含量的下降和 Ca^{2+} 含量的上升。这个结果表明 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子参与了气孔运动, K^+ 、 Ca^{2+} 的移动在保卫细胞膨压运动及气孔开闭现象中起着十分重要的作用。

关键词: 中东杨; 水分胁迫; 保卫细胞; 扫描电镜; X-射线显微分析

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

干旱是限制植物生长的主要环境因子。研究干旱胁迫下, 植物对逆境信息感受的细胞学机制及由此引发的一系列适应性反应, 是基础研究中的一个重大课题^[1]。而气孔作为植物与环境之间气体与水分交换的关键门户, 又是研究中的重点和难点。气孔运动是一个相当复杂的生理活动, 受许多内外因子的影响, 保卫细胞能感受内外环境信号而调节其体积, 控制气孔大小, 主宰植物与外界环境所进行的水分、气体等交换^[2]。植物受到水分胁迫时, 一个重要的生理反应是气孔关闭。已有研究表明^[3], K^+ 等离子进出保卫细胞与气孔的运动密切相关。因此, 研究水分胁迫下保卫细胞内的离子含量变化, 对揭示气孔运动机制有重要的理论意义。

近年来, 随着电镜技术的广泛应用, 电镜 X-射线能谱分析技术成功地用于研究植物组织单细胞或亚细胞微区离子的含量与分布, 实验中所采用的先进生物制备技术(快速冷冻、冷冻干燥、真空渗透等)能很好地将离子固定在细胞原位上, 很适用于对植物细胞中可溶性离子进行 X-射线能谱分析^[4,5]。本文采用生物制备新技术以保持离子在植物组织细胞中的固定^[4], 用扫描电镜 X-射线能谱显微分析技术(SEM-EDAX)测定保卫细胞中的离子含量, 用扫描电镜观察记录气孔开度的变化, 研究水分胁迫下保卫细胞的离子含量与气孔运动的相互关系。

1 材料与方法

1.1 植物材料的培养和处理

以中东杨(*Populus berolinensis* Dipp.) 1年生插条苗为实验材料, 在温室中用 1/2 强度 Hoagland 溶液进行水培。待长到 10 片叶时, 将 PEG-6000 加到营养液中, 配成水势分别为

收稿日期: 1998-03-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目“干旱胁迫下杨树气孔运动机制研究”(39570582)的部分内容

作者简介: 周晓阳(1965-), 男, 广东广州人, 副教授。

- 0.4、- 1.0、- 1.6 MPa 的溶液, 分别代表水分逆境的轻度、中度和严重胁迫。用 PEG 处理苗木 24 h 后采样, 以同样条件下生长未经 PEG 处理的植株为对照。

1.2 扫描电镜测定气孔开度

在植株中部的叶上靠中脉的地方, 用锋利刀片切取 $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 的叶片小块, 并装入用铝网制成的封闭小盒中, 迅速投入用液氮冷却的异戊烷和丙烷混合液中(异戊烷与丙烷的体积比为 1:3)进行快速冷冻, 后转入冷冻干燥机中进行冷冻干燥。干燥好的叶片经过喷金处理后, 在扫描电镜下观察及测量叶片下表皮的气孔开度。从每个处理的 2 株杨树上共取 5 片叶小块, 每个叶片块取 2~3 个视野, 测 10 个气孔开度, 然后计算 50 个气孔开度的平均值。

1.3 扫描电镜 X-射线能谱显微分析样品的制备

叶片的切取、快速冷冻及冷冻干燥同上。干燥好的材料装入 T 型真空渗透管中, 将材料用乙醚在真空及 27°C 下进行渗透 24 h, 然后将材料用苯乙烯-甲基丙烯酸丁酯在常压下渗透后, 转入小胶囊在 60°C 下聚合 1 周。包埋后的材料用超薄切片机干刀切片, 制成厚度为 $1\ \mu\text{m}$ 的半薄切片(叶横切片), 喷碳后备用。

1.4 扫描电镜能谱分析的测定

将制备好的片子, 在配有 Link AN 10000 能谱仪的英国剑桥 S250MK 3 型扫描电镜下进行测定, 加速电压 20 kV, 工作距离 25 mm, 分析时间 100 s。测出的数值为每种离子的相对百分含量。检测时至少选取 20 个保卫细胞, 测量其细胞质中的离子含量, 并计算其平均值。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫下气孔开度的变化

从图 1 可以看出, 在轻度胁迫(- 0.4 MPa)下, 气孔开度与对照相比变化不大, 只比对照下降 13.8%; 在中度胁迫(- 1.0 MPa)下, 气孔开度比对照下降 51.7%; 而在严重胁迫(- 1.6 MPa)下, 气孔趋于关闭, 气孔开度比对照下降了 77.6%。可见, 水分胁迫导致了气孔关闭, 随着水分胁迫强度的增加, 气孔开度逐渐减小, 直至趋于完全关闭。

2.2 水分胁迫下保卫细胞中离子含量的变化

图 2 显示, 在水分胁迫下, 保卫细胞中的 K^+ 含量呈下降趋势, 在轻度、中度和严重水分胁迫下, K^+ 含量分别比对照下降 30.8%、72.3%、86.2%; 而 Ca^{2+} 含量则呈上升趋势, 在轻度、中

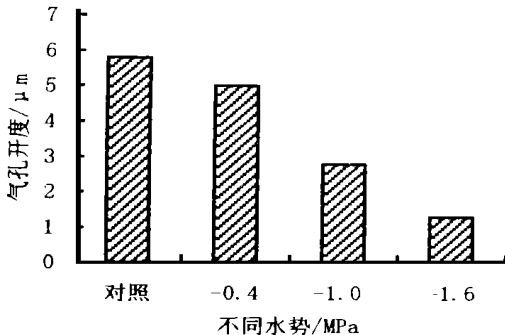


图 1 不同浓度 PEG 处理 24 h 后的气孔开度

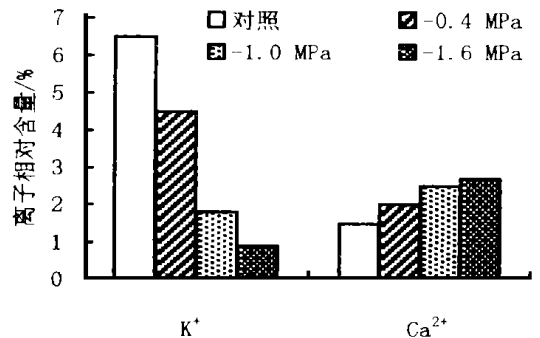


图 2 不同浓度 PEG 处理 24 h 后, 保卫细胞中的 K^+ 和 Ca^{2+} 含量变化

度和严重水分胁迫下, Ca^{2+} 含量分别比对照增加 33.3%、66.7%、80.0%。这表明在水分胁迫下, 随着气孔开度减小, 保卫细胞中的 K^+ 含量减少, 而 Ca^{2+} 含量则增加。

从图 3 可知, 在轻度、中度和严重水分胁迫下, Cl^- 含量分别比对照下降 47.6%、62.2%、85.4%, 而 Mg^{2+} 含量与对照相比相差不大, 分别比对照下降 12.5%、2.5%、10.0%。此结果表明, 在水分胁迫下随着气孔的关闭, 保卫细胞中的 Cl^- 含量明显减少, 而 Mg^{2+} 含量几乎没有变化。

在水分胁迫下, 保卫细胞中的 S^{6+} 和 P^{5+} 变化见图 4, 由图 4 可知, 在轻度和严重水分胁迫下, 保卫细胞中 S^{6+} 含量分别比对照下降 12.5% 和 21.9%, 但在中度胁迫时, S^{6+} 含量却比对照上升了 11.9%; 3 种水分胁迫下的 P^{5+} 含量分别比对照增加 17.4%、34.5%、8.7% (图 4)。这表明在水分胁迫诱导气孔关闭的过程中, 保卫细胞中的 S^{6+} 、 P^{5+} 含量虽有一些变化, 但与气孔开闭无相关性。

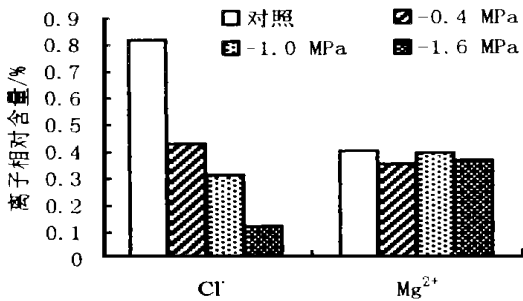


图 3 不同浓度 PEG 处理 24 h 后, 保卫细胞中的 Cl^- 和 Mg^{2+} 含量变化

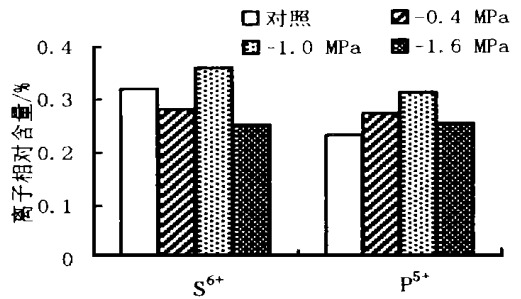


图 4 不同浓度 PEG 处理 24 h 后, 保卫细胞中的 S^{6+} 和 P^{5+} 含量变化

在实验中, 还分析了其它离子的含量变化, 如 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 等。结果表明, 在不同水分胁迫强度下, 这些离子含量与对照相比, 虽有一些变化, 但不明显。

综上所述, 在水分胁迫下, 当气孔开度减小, 气孔趋于关闭时, 一个显著的变化就是保卫细胞中 K^+ 和 Cl^- 含量的下降, 以及 Ca^{2+} 含量的升高。除此之外, 其它离子, 如 Mg^{2+} 、 S^{6+} 、 P^{5+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 等, 这部分离子虽有变化, 但变化不明显, 或变化与气孔的开闭无直接的相关性, 表明这部分离子对气孔运动没有很大影响。

3 讨 论

水分胁迫引起气孔关闭的过程是一个信号转导过程^[6]。在水分胁迫引起气孔关闭过程中, 是由 ABA 来传递逆境信息, ABA 在胁迫信号传递中充当了胞间信号的作用^[7]。当 ABA 到达保卫细胞作用位点后, 通过膜上的信号转换系统, 即可与胞内信号联系起来, 引起保卫细胞内部产生各种反应, 从而调节气孔的运动。ABA 可诱导保卫细胞 Ca^{2+} 的增加, 通过实验手段提高保卫细胞的 Ca^{2+} 浓度, 可抑制气孔开放和促进气孔关闭^[8]。最近, 利用膜片钳等电生理学技术的研究结果进一步揭示了 Ca^{2+} 浓度增加所产生的几种效应^[8,9]: 胞内 Ca^{2+} 浓度的提高激活了阴离子通道, 从而促进阴离子的流出, 并使膜电势向负值小的方向偏移, 这种膜的去极化形成一个有利于 K^+ 通过一种外向的 K^+ 通道而被动外流的电化学梯度, 从而促进气孔关闭。膜

的去极化也可阻止 K^+ 通过内向的 K^+ 通道的被动吸收, 从而抑制气孔的开放, 这些结果表明 Ca^{2+} 浓度的提高导致 K^+ 从保卫细胞的净流出, 从而降低保卫细胞的膨压, 引起气孔关闭。可见在水分胁迫下胞间信号 ABA 诱导气孔关闭的过程中, Ca^{2+} 充当了胞内信使的作用, ABA 对气孔的调节作用是通过 Ca^{2+} 来实现的。

本文所采用的电镜能谱方法, 给出了各种离子在保卫细胞中的含量, 直接得到了细胞中离子的增加或减小的证据, 结果更直接明了。在水分胁迫下, 保卫细胞中最明显的变化就是 K^+ 、 Cl^- 含量下降和 Ca^{2+} 含量的上升, 这个结果提示着 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子参与了气孔运动, K^+ 、 Ca^{2+} 的移动在保卫细胞膨压运动中及气孔开闭现象中起着十分重要的作用。在水分胁迫前, K^+ 大量存在于保卫细胞中, 以 K^+ 为主的渗透调节物质引起的膨压变化是气孔运动的动力, 此时气孔是开放的, 随着水分胁迫, 保卫细胞内 Ca^{2+} 浓度上升, 抑制 K^+ 的吸收, 使 K^+ 外流, 从而使保卫细胞渗透势明显下降, 导致气孔关闭。

参考文献:

- [1] 汤章城. 植物对环境的适应和环境资源的利用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(6): 401~405.
- [2] 向明惠, 余叔文. 以保卫细胞原生质体为实验系统的气孔生理研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(1): 1~6.
- [3] Parvathi K, Raghavendra K. Bioenergetic processes in guard cells related to stomatal function [J]. Physiol Plant, 1995, 93: 146~154.
- [4] Fritz E. X-ray microanalysis of diffusible elements in plant cells after freeze-drying pressure infiltration with ether and embedding in plastic [J]. Scanning Microsc, 1989, 3: 517~526.
- [5] Li Qi, Fritz E. X-ray microanalysis of ion contents in roots of *Populus maximowiczii* grown under potassium and phosphorus deficiency [J]. J Plant Physiol, 1991, 138: 180~185.
- [6] 孙大业. 植物细胞信号转导研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 81~91.
- [7] Davis W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in dry soil[J]. Ann Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol, 1991, 42: 55~76.
- [8] McAinsh M R, Brownie C. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction [J]. Physiol Plant, 1997, 100: 16~25.
- [9] Assmann S M. Signal transduction in guard cells[J]. Ann Rev Cell Biol, 1993, 9: 345~375.

Relation of Stomatal Movement and Ion Content Change of Guard Cells in *Populus berolinensis* under Water Stress

ZHOU Xiao-yang, ZHAO Nan, ZHANG Hui

(College of Biological Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Cuttings of *Populus berolinensis* were treated by water stress. The changes of stomatal aperture were observed by scanning electron microscope (SEM). Ion contents in guard cells were analysed by SEM X-ray microanalysis. The results indicated that stomata almost closed by strong water stress. When stomatal closure, K^+ content decreased and Ca^{2+} content increased obviously in guard cells. It suggests that K^+ and Ca^{2+} might regulate the stomatal movement. The flux of K^+ and Ca^{2+} might play an important role in stomatal opening and closing.

Key words: *Populus berolinensis*; water stress; guard cell; SEM; X-ray microanalysis