

## 外源ABA对拟南芥根系皮层细胞水力学特征的影响

张静媛<sup>1,2</sup>, 慕自新<sup>2</sup>, 张岁岐<sup>1,2,\*</sup>

西北农林科技大学<sup>1</sup>黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室,<sup>2</sup>生命科学学院, 陕西杨凌712100

**摘要:** 在溶液培养条件下, 以拟南芥野生型哥伦比亚(Col)、兰兹伯格(Ler)和ABA胞质受体PYR/PYL/RCAR四突变体 *pyr1;pyl1;pyl2;pyl4* ( $Q_m$ )为试验材料, 利用细胞压力探针技术对不同浓度外源ABA和不同时间处理下的根系皮层细胞的细胞膨压( $P$ )、水分跨膜运输半时间( $T_{1/2}^w$ )、细胞壁弹性模量( $\epsilon$ )以及细胞水导( $Lp$ )进行测定, 从分子遗传学水平探讨ABA影响拟南芥根系水力学特性的早期信号。结果表明, 外源ABA处理使野生型Col和Ler根系皮层细胞的水力学性质产生不同的变化, 其中, 细胞膨压( $P$ )在处理前后无变化; 细胞壁弹性模量( $\epsilon$ )随ABA浓度及ABA处理时间变化而发生变化, 但变化趋势不明显; 而外源ABA处理使 $T_{1/2}^w$ 和 $Lp$ 发生明显变化, 即 $T_{1/2}^w$ 随ABA浓度升高而降低, 对于同一浓度处理而言,  $T_{1/2}^w$ 则随ABA处理时间的延长先降低后增加, 各浓度在处理60 min时均降到最低值, 即 $T_{1/2}^w$ 在1 000 nmol·L<sup>-1</sup>下处理60 min达到最低值, 而在处理120 min时 $T_{1/2}^w$ 又恢复, 趋近于对照的值; 相反 $Lp$ 在1 000 nmol·L<sup>-1</sup>下处理60 min时达到最大值, 处理120 min时恢复到对照水平, 即表现出瞬时效应。与野生型Col和Ler相比,  $Q_m$ 的 $T_{1/2}^w$ 及 $Lp$ 均对外源ABA不敏感。说明ABA提高了拟南芥根系皮层细胞的透水作用, 而且ABA受体PYR/PYL/RCAR介导的信号转导参与了ABA的水分调节效应。

**关键词:** 外源ABA; 拟南芥; 细胞压力探针; 根皮层细胞; 水力学参数

## Effects of Exogenous ABA on Root Cortex Cell Hydraulics of *Arabidopsis thaliana*

ZHANG Jing-Yuan<sup>1,2</sup>, MU Zi-Xin<sup>2</sup>, ZHANG Sui-Qi<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming of the Loess Plateau, <sup>2</sup>College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

**Abstract:** By using hydroponic culture, the plant materials in this research include two wild-type *Arabidopsis thaliana* (Col and Ler) and a mutant ( $Q_m$ ). In this research, we use cell-pressure probe to investigate the effects of ABA on different *Arabidopsis thaliana* hydraulic properties and explore the early signal about the influence of exogenous ABA on hydraulics of *Arabidopsis thaliana* root cortex cell in the level of molecular genetics. Hydraulic properties of roots were examined under different ABA concentrations and treatment periods. The results indicate that exogenous ABA treatments have different effects on hydraulics properties in root cortical cells of wild-type (Col) and (Ler). First, we found that,  $P$  remained the same as the exogenous ABA treatments went on. Meanwhile, the variation of  $\epsilon$  correlated with the changing of ABA concentration and treatment time, but there were not remarkable variation. However, exogenous ABA has significant effects on half-time of water exchange ( $T_{1/2}^w$ ) and hydraulic conductivity ( $Lp$ ). Specifically, half-time of water exchange ( $T_{1/2}^w$ ) of wild-type (Col) and (Ler) gradually decrease as ABA concentration and treatment period rise. Results show that  $T_{1/2}^w$  reaches the minimum when plants are treated for 60 min at concentration of 1 000 nmol·L<sup>-1</sup>, while  $Lp$  reached the maximum value, under the same condition, then the value of  $T_{1/2}^w$  and  $Lp$  recovered to the value of control after 2 h. It means that exogenous ABA has instantaneous effect on root cortex cells' hydraulics. Comparing with wild species, exogenous ABA do not have significant influence on  $T_{1/2}^w$  and  $Lp$  of  $Q_m$  which is a quadruple (*pyr1;pyl1;pyl2;pyl4*) mutant. The evidences reveal that ABA can improve the root cortex cells' hydraulic ability of *Arabidopsis thaliana* and the signal transduction pathway mediated by ABA receptor PYR/PYL/RCAR gets involved in the ABA-induced effects of water uptake.

**Key words:** exogenous ABA; *Arabidopsis thaliana*; cell-pressure probe; hydraulic properties

植物激素脱落酸(abscisic acid, ABA)普遍介导了植物的生长发育和对生物非生物逆境的应答(Pastor等1999; Finch-Savage和Leubner-Metzger 2006; Nambara等2010)。非生物逆境干旱、高盐

收稿 2013-01-17 修定 2013-01-29

资助 国家自然科学基金项目(30971714)和高等学校学科创新引智计划(B12007)。

\* 通讯作者(E-mail: sqzhang@ms.iswc.ac.cn; Tel: 029-87010897)。

和冷害的共同负作用是打破植物水分平衡, 导致逆境激素ABA的积累。已证明ABA在植物水分利用上具有“开源节流”的作用, 即水分胁迫下ABA一方面能够关闭气孔和降低茎的生长速率进而降低地上部蒸腾速率(Schroeder等2001; Zhang和Outlaw 2001; Raschke等2003); 另一方面ABA通过调节根系生长(Sharp 2002; De Smet等2003)和根系水导(Kaldenhoff等2008)来控制根系吸水, 具有维持植物整体水分平衡的作用。

在气孔调节过程中, ABA不仅激活了保卫细胞中的S型阴离子通道, 还激活了R型阴离子通道; 又因为ABA抑制质膜 $H^+$ -ATPase, 使阴离子外流进而引起质膜去极化, 导致胞内 $K^+$ 外流, 细胞膨压降低, 最终引起气孔关闭(Raschke等2003; Schroeder等2001)。ABA在水分胁迫下通过调控基因表达对植物生长发育进行调节。De Smet等(2003)的研究表明ABA对植物侧根发育有抑制作用。他们通过研究发现, 外源ABA处理能够抑制拟南芥侧根根原基形成, 从而抑制了侧根的发育。研究表明, 植物根系中PIP的表达很高程度上受ABA合成的影响(Parent等2009)。ABA通过影响水通道蛋白活性, 进而对水导产生影响。ABA对植物根系水导的影响存在一定的争议。有研究表明, ABA在水分亏缺条件下, 使根系水导降低(North等2004; Vandeleur等2009); 但在大多数的研究中, ABA对根系水导有积极作用。这种积极作用不仅体现在细胞水平(Hose等2000), 还体现在整根水平(Hose等2000; Schraut等2005)。胞质ABA受体PYR/PYL/RCAR (pyrabactin resistant/pyrabactin resistant-like/regulatory component of ABA receptor)是最近发现的一类定位于细胞质和细胞核的START蛋白家族成员。拟南芥中PYR/PYL/RCAR蛋白家族共有14个成员, 分别命名为RCAR1~RCAR14或PYR1和PYL1~13, 且各成员的序列和结构具有高度保守性(Ma等2009; Park等2009)。已证实PYR/PYL/RCAR与蛋白磷酸酶2C (protein phosphatase 2C, PP2C)及SNF1-蛋白激酶(SNF1-related protein kinase, SnRK2)形成双负调节的信号核心元件而发挥作用(Cutler等2010)。此模型很好地解释了ABA对气孔关闭的调节和ABA应答基因表达的调节。关于ABA调节气孔关闭的信号转导的分子机制已

有大量的研究, 但ABA调节根系吸水的分子机制还知之甚少, 虽然有研究表明ABA通过调节水孔蛋白的含量或活性调节根系吸水, 但其中间信号成分仍未知。

由于PYR/PYL/RCAR蛋白家族成员基因间功能的高度冗余性, 单突变体几乎不表现出ABA表型, 而 $pyr1;pyl1;pyl2;pyl4$  ( $Q_m$ )四突变体已证明在种子萌发, 气孔运动和根系生长上具有显著的ABA表型(Park等2009; Nishimura等2010)。本研究利用细胞压力探针技术, 以野生型拟南芥Col和Ler为材料, 对外源ABA不同浓度和不同时间处理下的根系皮层细胞水力学特性进行测定, 从细胞水平探讨外源ABA对植物根系吸水的影响; 并以拟南芥PYR/PYL/RCAR四突变体 $Q_m$ 为材料, 从分子遗传学水平探讨ABA影响拟南芥根系皮层细胞的水力学特性的早期信号以及ABA受体PYR/PYL/RCAR信号转导在根系吸水中的作用。为ABA受体PYR/PYL/RCAR介导的信号转导参与了ABA的水分调节效应提供理论依据。

## 材料与方法

### 1 植物材料与培养方法

供试材料拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)分别为2种野生型哥伦比亚(Col)和兰兹伯格(Ler)以及 $pyr1;pyl1;pyl2;pyl4$ 四突变体( $Q_m$ ), 该突变体由单突变体 $pyr/pyl1/pyl2/pyl4$ 杂交而得。其背景是Col和Ler。材料由美国加州大学河滨分校植物学与植物科学系朱健康实验室提供。

将拟南芥种子放在离心管中, 用75%酒精消毒30 s后使用10%次氯酸钠消毒15 min, 无菌水冲洗5~6次后, 4 °C春化4 d。春化结束后使用灭菌牙签将种子点播在无菌的MS固体培养基(pH 5.8)上, 避光, 发芽后转到光照培养间, 温度23 °C, 16 h/8 h光周期。培养10 d后, 将幼苗移入1/4Hoagland营养液中, 光照培养, 温度为23 °C, 16 h/8 h光周期, 相对湿度60%~70%, 培养5 d后进行相关测定。

### 2 外源ABA处理方法

将水培的拟南芥在0 (对照)、10、100、500和1 000 nmol·L<sup>-1</sup>的ABA溶液中分别处理30 min、1 h和2 h。在每个时间梯度结束前5 min, 将幼苗离体根系迅速置于细胞压力探针上, 并对根系皮层

细胞迅速进行测定, 每个细胞在7 min内完成相关测定。对照组则在无ABA的营养液中培养1 h后进行测定。

### 3 根皮层细胞形态学参数测定

选取生长良好的各品种拟南芥主根, 用0.05% 甲苯胺蓝TBO水溶液染色1 min后立即通过光学显微镜(Olympus B×5', U-TV0.5×C-3 摄像系统, Image-Pro Express Chinese 6.0)观察, 用NIKON ACT-2U软件测得细胞直径 $d$  ( $\mu\text{m}$ )以及细胞长度 $l$  ( $\mu\text{m}$ )。

### 4 根皮层细胞水力学参数测定

首先将毛细管尖端磨为内径4~5.5  $\mu\text{m}$ 的斜口, 将充满硅油的毛细管垂直安装于压力探针上。然后取在营养液中生长5 d的拟南芥根段, 每个根段约60~70 mm, 将拟南芥根系固定于金属条表面。细胞压力探针的尖端扎入距拟南芥根尖约20~30 mm处的部位。由于细胞膨压的存在, 细胞液进入到毛细管中并与硅油形成弯月面。通过显微镜观察, 移动由微型马达驱动的螺旋测微器, 控制弯月面向前或向后移动一定距离后, 并使弯月面稳定于新位点。此过程中, 细胞内原有的水分平衡被打破, 而形成新的水分平衡, 细胞膨压恢复到原来状态。根据电脑记录的静水压驱动下的压力释放曲线可利用P-flock软件计算出静水压下水分跨膜运输半时间(half-time of water exchange,  $T_{1/2}^w$ ); 探针毛细管扎入细胞, 当膨压稳定后, 移动测微器使弯月面在毛细管中向前或向后移动一定距离, 并迅速回到先前的位置, 可得到相应的 $P-t$ 曲线, 使用

P-flock软件计算出细胞壁体积弹性模量(volumetric elastic modulus of the cell wall,  $\epsilon$ ) (Azaizeh等1992; Steudle 1993)。使用细胞压力探针时, 需在每株根系离体后的40 min内进行测定, 并且每个细胞的测定时间不超过7 min (Javot等2003)。在细胞吸水表面积以及细胞体积的计算中, 野生型和突变体的细胞直径和细胞长度均取平均值, 之后可根据下列公式(Azaizeh等1992)计算得到根系皮层细胞水导(hydraulic conductivity,  $L_p$ )。

$$L_p = \frac{V \times \ln 2}{A \times T_{1/2}^w \times (\epsilon + \pi^i)}$$

式中 $L_p$ 为根系皮层细胞水导,  $A$ 为细胞吸水表面积,  $V$ 为细胞体积,  $T_{1/2}^w$ 为水分跨膜运输半时间,  $\epsilon$ 为细胞壁弹性模量,  $\pi^i$ 为细胞渗透势。

### 5 数据处理

采用SPSS17.0统计软件进行数据处理, 根据Duncan's multiple range test检验差异显著性, 用sigmaplot 12.0软件作图。

## 实验结果

### 1 正常条件下拟南芥根系皮层细胞长度和直径的基因型差异

图1显示了不同基因型拟南芥根系细胞长度和直径。野生型Col的根系皮层细胞平均长度为(172±10)  $\mu\text{m}$ , 平均直径为(21±1)  $\mu\text{m}$  ( $n=22$ ); 野生型Ler的根系皮层细胞平均长度为(161±12)  $\mu\text{m}$ , 平均直径为(23±1)  $\mu\text{m}$  ( $n=20$ ); 突变体 $Q_m$ 的根系皮层

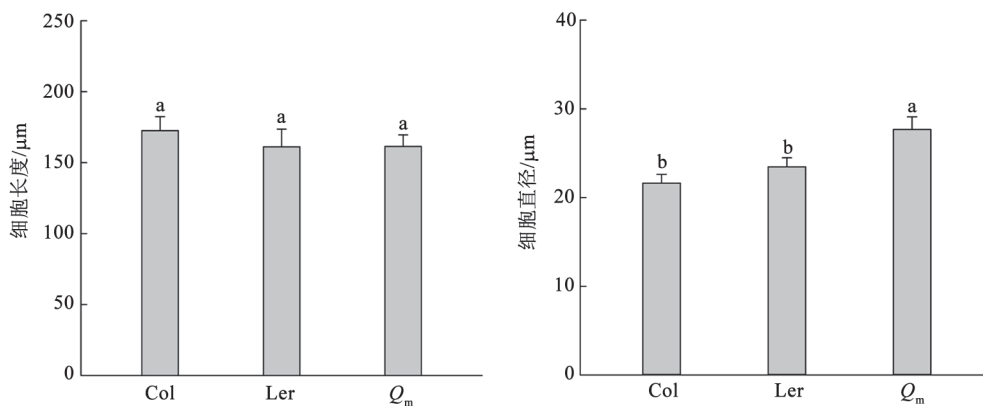


图1 不同品种拟南芥根系皮层细胞长度和细胞直径的差别

Fig.1 Differences in length and diameter of root cortex cells among three *Arabidopsis thaliana* genotypes

Col: 拟南芥野生型哥伦比亚; Ler: 拟南芥野生型兰兹伯格;  $Q_m$ : 拟南芥四突变体 $pyr1;pyl1;pyl2;pyl4$ 。图中不同小写字母表示不同品种间在0.05水平上差异显著。

细胞平均长度为 $(161\pm 8)$   $\mu\text{m}$ , 平均直径为 $(27\pm 1)$   $\mu\text{m}$  ( $n=26$ )。不同基因型拟南芥根系皮层细胞长度无显著差异( $P>0.05$ ), 而突变体 $Q_m$ 根系皮层细胞直径与野生型Col和Ler均有显著差异( $P<0.05$ )。

## 2 外源ABA处理下不同基因型拟南芥静水压下水分跨膜运输半时间( $T_{1/2}^w$ )的变化

图2-A和B分别表明了拟南芥野生型Col和Ler的 $T_{1/2}^w$ 对不同ABA浓度及处理时间的响应。从图中可观察到, 在持续2 h的处理中, ABA对2种拟南芥野生型 $T_{1/2}^w$ 的影响是相似的, 即野生型的 $T_{1/2}^w$ 随ABA浓度升高而呈降低趋势。而对于同一浓度处理而言,  $T_{1/2}^w$ 则随ABA处理时间的延长先降低后增加, 在60 min时达到最小值, 而在120 min时 $T_{1/2}^w$ 又恢复, 趋近于对照的 $T_{1/2}^w$ 。可见, 2种拟南芥野生型Col和Ler的 $T_{1/2}^w$ 均在浓度为 $1\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理60 min时达到最低值, 前者 $T_{1/2}^w$ 从2.69 s减少到0.58 s, 后者 $T_{1/2}^w$ 从2.84 s减少到0.65 s, 差异显著

( $P<0.05$ )。而突变体 $Q_m$ 的 $T_{1/2}^w$ 对ABA浓度和处理时间均不敏感(图2-C)。

## 3 外源ABA处理下不同基因型拟南芥细胞壁弹性模量( $\epsilon$ )的变化

外源ABA处理下, 2种拟南芥野生型的细胞壁弹性模量 $\epsilon$ 均随ABA浓度及ABA处理时间变化而变化, 且在 $1\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理60 min时达到最低值。Col的 $\epsilon$ 从2.2 MPa降低至1.89 MPa (图3-A), 且变化差异显著( $P<0.05$ ); Ler的 $\epsilon$ 从2.05 MPa降低至1.61 MPa (图3-B), 差异显著( $P<0.05$ ), 而突变体 $Q_m$ 的 $\epsilon$ 对ABA浓度和处理时间均不敏感(图3-C)。

## 4 外源ABA处理下不同基因型拟南芥细胞膨压( $P$ )的变化

图4显示了不同基因型拟南芥的 $P$ 对外源ABA处理的反应。正常条件下, 3种不同基因型拟南芥的 $P$ 均为0.25 MPa左右, 基因型间无显著差异。外源ABA处理后, 各基因型的 $P$ 差异不显著, 即外源

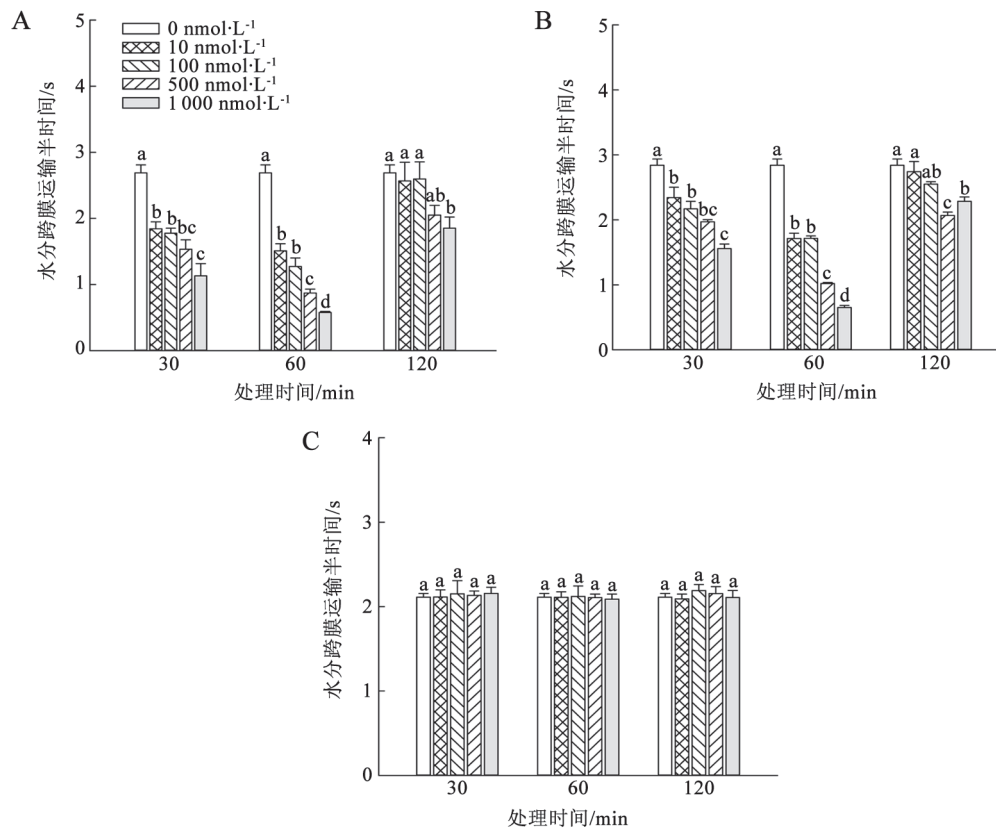


图2 外源ABA不同处理下拟南芥的水分跨膜运输半时间的变化

Fig.2 Differences of half time of water exchange of root cortex cells on *Arabidopsis thaliana* in different concentrations and treatment periods of ABA

A: Col; B: Ler; C:  $Q_m$ . 图中不同小写字母表示在同一处理时间下不同ABA浓度处理之间在0.05水平上差异显著。图3~5同。



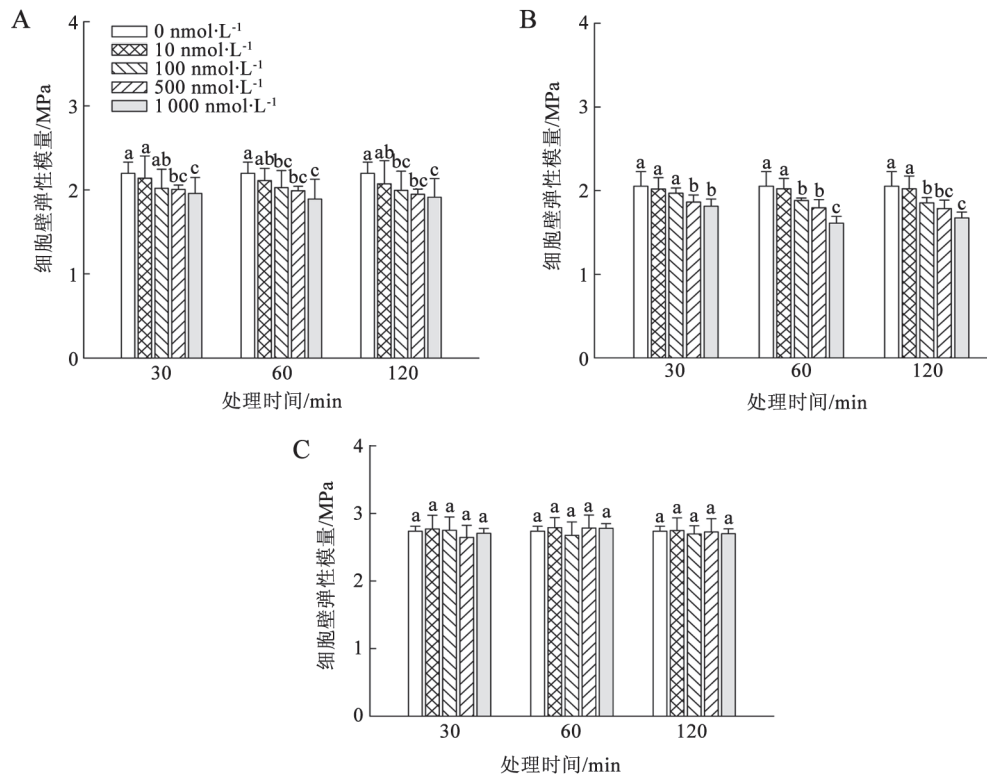


图3 外源ABA不同处理下拟南芥的细胞壁弹性模量的变化

Fig.3 Differences of volumetric elastic modulus of root cortex cells on *Arabidopsis thaliana* in different concentrations and treatment periods of ABA

ABA在短时间内对拟南芥根系皮层细胞的 $P$ 无显著性作用。

### 5 外源ABA处理下不同基因型拟南芥根皮层细胞水导( $L_p$ )的变化

对照中的拟南芥野生型Col的 $L_p=(1.03\pm 0.06)\times 10^{-6}\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$ 。不同浓度ABA处理后,  $L_p$ 随ABA浓度升高而升高, 在 $1\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理达到最大值。同一ABA浓度下不同处理时间的 $L_p$ 随处理时间的增长呈现出先升高后降低的趋势, 处理1 h时达到峰值, 2 h后 $L_p$ 降低到对照水平。 $1\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理1 h时的 $L_p=(5.51\pm 0.60)\times 10^{-6}\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$ , 是对照的5.3倍(图5-A)。拟南芥野生型Ler的 $L_p$ 与Col呈相同变化趋势, 在 $1\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA处理1 h时 $L_p$ 达到最大值, 从 $(1.09\pm 0.3)\times 10^{-6}\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$ 升高到 $(5.60\pm 1.22)\times 10^{-6}\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$ , 升高了5.05倍(图5-B)。与拟南芥野生型不同, 突变体 $Q_m$ 的 $L_p$ 在外源ABA处理前后无明显差异( $P>0.05$ , 图5-C), 即突变体 $Q_m$ 的 $L_p$ 对ABA无响应。

## 讨 论

植物细胞的正常生理功能, 包括气孔的开放以及细胞生长等都依赖于细胞膨压的大小(荆家海和肖庆德1988)。早期的相关研究表明, 无论是正常供水还是水分胁迫条件下, 膨压在调节根系延伸方面有重要作用(李连朝和王学臣1998)。Wan (2010)在玉米的研究中发现, 外源ABA处理在短时间内不能引起细胞膨压的变化, 而在长期的处理中则使降低的膨压得以恢复, 这可能是由于驱动力的不同所引起的。在本研究中, 对于供试的野生型拟南芥而言, 外源ABA处理前后的细胞膨压均无显著变化( $P>0.05$ )。Jones等(1987)在小麦的研究中表明, 外源ABA对细胞膨压的影响可能因细胞类型、距根尖的位点、ABA处理时间以及处理浓度的不同而不同。

细胞壁体积弹性模量表征细胞刚性, 即细胞壁弹性。表示细胞体积的相对变化所引起的细胞膨压的变化量。弹性模量越大说明细胞刚性越强,

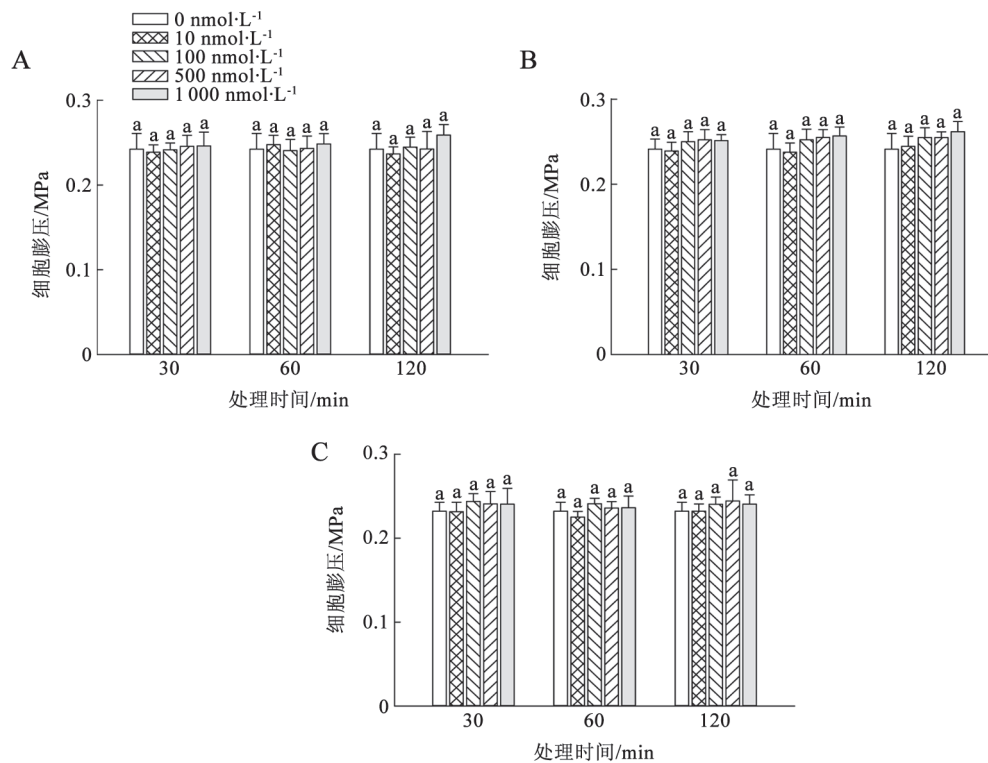


图4 外源ABA不同处理下拟南芥的细胞膨压的变化

Fig.4 Differences of turgor pressure of root cortex cells on *Arabidopsis thaliana* in different concentrations and treatment periods of ABA

细胞弹性越差, 细胞的延展性越差。细胞弹性模量的大小与细胞膨压高低、细胞体积大小以及细胞厚度和成分有关(Zimmermann和Hüsken 1979)。本研究中, 拟南芥野生型Col和Ler在外源ABA处理后, 细胞壁体积弹性模量随ABA浓度以及处理时间的呈下降趋势, 表明根皮层细胞水导与细胞壁体积弹性模量呈负相关关系(Javot等2003)。

有研究表明, ABA对植物细胞水力学特性的影响不尽相同。Eamu和Tomos (1983)的研究表明 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ABA对细胞膨压和弹性模量均无影响, 但却随ABA处理时间的延长使水分跨膜运输半时间逐渐升高, 相应的细胞水导逐渐降低。在本研究中, 外源ABA处理前后,  $P$ 无明显变化;  $\varepsilon$ 则在外源ABA处理后降低, 但降低幅度较小;  $T_{1/2}^w$ 以及 $L_p$ 在不同ABA浓度和时间处理前后呈现出明显的变化趋势, 即 $T_{1/2}^w$ 以及 $L_p$ 对ABA具有浓度(Beaudette等2007; Jones等1987)和时间(Hose等2000; Wan 2010)的依赖性。本研究中, 2种拟南芥野生型Col和Ler, 在1 000  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以内, 随浓度增大,  $T_{1/2}^w$

减小,  $L_p$ 增大; 对于同一浓度而言, 处理1 h达到峰值, 2 h又回到对照水平, 即在时间上具有瞬时效应(Hose等2000)。从细胞水平证明了外源ABA对植物根系吸水具有促进作用。

本研究中外源ABA对野生型拟南芥根系皮层细胞水导的这种促进作用在Hose等(2000)和Lee等(2005)的研究中也得到体现。由于植物水分的跨膜运输主要是通过质膜上的水蛋白进行的(Tyerman等1999), 所以ABA在细胞水平上对水分运输的影响可认为是改变了植物水通道蛋白的密度和活性的(Parent等2009)。外源ABA对植物根系的水分调节不仅在细胞水平表现出来, 还在整根水平得到体现。在不同物种中, 例如向日葵(Quintero等1999)、烟草(Mahdih和Mostajeran 2009)和玉米(Hose等2000)的研究中均发现外源ABA提高了根系水导。另外ABA对根系水通道蛋白基因表达的短期效应在不同物种中也得到证实, 包括水稻、烟草和拟南芥等(Weig等1997; Kaldenhoff等1993)。譬如Mahdih和Mostajeran (2009)在烟草中发现,

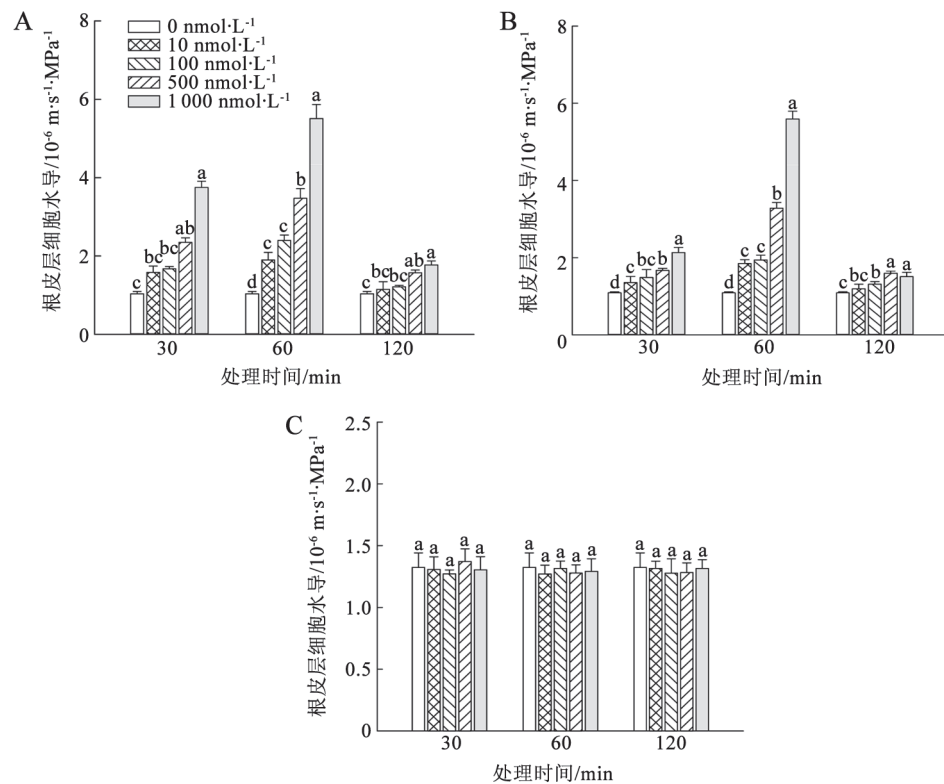


图5 外源ABA不同处理下拟南芥的根皮层细胞水导的变化

Fig.5 Differences of hydraulic conductivity of root cortex cells on *Arabidopsis thaliana* in different concentrations and treatment periods of ABA

1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的ABA使根系水导升高, 并且促进了水通道蛋白相关基因的转录。

但无论是对ABA处理时间还是ABA的浓度变化而言, 本研究中突变体 $Q_m$ 均呈现相同的结果, 即外源ABA处理前后, 突变体 $Q_m$ 的 $P$ 、 $\varepsilon$ 、 $T_{1/2}^w$ 以及 $L_p$ 均无显著性差异( $P>0.05$ )。换言之, 突变体 $Q_m$ 对ABA不敏感。突变体 $Q_m$ 对外源ABA处理的不敏感可以表明水通道蛋白的功能与ABA信号有相关性 (Morillon和Chrispeels 2001), 即ABA胞质受体PYR/PYL/RCAR介导的信号转导可能通过影响水通道蛋白的表达和活性进而参与了 $L_p$ 的调节。

ABA受体是ABA信号通路中最上游的信号调节因子, 发挥着识别ABA信号并启动信号转导原初过程的功能(张大鹏2011)。研究表明PYR/PYL/RCAR蛋白能直接与ABA结合, 发挥ABA受体的功能(Yuan等2010), 但是各个成员与ABA结合的能力存在差异(Szostkiewicz等2009)。在Park等(2009)的研究中, 发现在ABA存在时, *pyr1;pyll;pyl2;pyl4*四突

变体与*pyr1;pyll;pyl4*三突变体表型明显, 而单突变体*pyr1*则与野生型Col和Ler无明显差别, 即ABA对单突变体*pyr1*和野生型Col和Ler的萌发产生明显的抑制作用, 而突变体 $Q_m$ 在ABA存在时的表型与拟南芥突变体*abil*一致, 表现出对ABA的极不敏感。这表明PYR/PYL/RCAR蛋白在ABA信号转导中起着至关重要的作用,  $Q_m$ 由于其ABA受体突变而无法感知和识别ABA, 使得ABA信号转导通路阻断, 进而表现出对ABA的超不敏感(Park等2009)。本研究中, 突变体 $Q_m$ 也表现出对ABA的超不敏感。

Melcher等(2009)的研究中通过结构比较和生化分析, 确认了PYL2-ABA-PP2C复合物的晶体结构, 以及分析了该复合物对ABA信号通路的启动和关闭的分子结构机制(Melcher等2009)。Fujii等(2009)首次在体外通过重新构建PYL2-ABA-PP2C复合物, 建造了体外的ABA信号通路, 研究结果表明, SnRK2激酶在ABA信号通路中具有重要的调

节作用。PYR/PYL/RCAR受体蛋白能阻断SnRK2s与PP2Cs间的相互作用。

在正常的生长条件下, PP2C通过去磷酸化作用使SnRK2失活, ABA信号保持沉默, 但当ABA存在时, ABA与PYR/PYL/RCAR蛋白结合, 形成ABA-PYR/PYL/RCAR复合结构, 从而抑制蛋白磷酸酶PP2C-ABA信号转导的负调控因子的活性, 解除PP2C对蛋白激酶SnRK2-ABA信号转导的正调控因子的抑制, 被活化的SnRK2使下游的转录因子磷酸化(Hubbard等2010; Kline等2010; Klingler等2010), 进而调控ABA诱导的基因表达(Yoshida等2010)或离子通道等的活性(Geiger等2009; Lee等2009), 从而表现出相应的生理功能。

目前已有大量的研究明确了ABA调节气孔关闭的信号转导的分子机制, 但关于ABA调节根系吸水的分子机制的研究还不详尽。未来研究工作的重点在于利用基因组学和分子生物学方法推测ABA介导的信号转导是否参与植物根系水分平衡的调节以及如何参与植物根系水分平衡的调节, 其次探索是否存在其他信号转导途径参与调节植物根系的水分平衡。

### 参考文献

- 荆家海, 肖庆德(1988). 玉米叶片生长部位渗透调节和生长的生物物理参数变化. 植物生理学报, 14 (4): 385~390
- 李连朝, 王学臣(1998). 水分亏缺下细胞延伸生长与细胞膨压和细胞壁特性的关系. 植物生理学通讯, 34 (3): 161~167
- 张大鹏(2011). 始于质体/叶绿体的 ABA 信号通路. 植物学报, 46 (4): 361~369
- Azaizeh H, Gunse B, Steudle E (1992). Effects of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on water transport across root cells of maize (*Zea mays* L.) seedlings. Plant Physiol, 99 (3): 886~894
- Beaudette PC, Chlup M, Yee J, Emery RJ (2007). Relationships of root conductivity and aquaporin gene expression in *Pisum sativum*: diurnal patterns and the response to HgCl<sub>2</sub> and ABA. J Exp Bot, 58 (6): 1291~1300
- Cutler SR, Rodriguez PL, Finkelstein RR, Abrams SR (2010). Abscisic acid: emergence of a core signaling network. Annu Rev Plant Biol, 61: 651~679
- De Smet I, Signora L, Beeckman T, Inzé D, Foyer CH, Zhang H (2003). An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*. Plant J, 33 (3): 543~555
- Eamus D, Tomos AD (1983). The influence of abscisic acid on the water relations of leaf epidermal cells of *Rhoeo discolor*. Plant Sci Lett, 31 (2): 253~259
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G (2006). Seed dormancy and the control of germination. New Phytol, 171 (3): 501~523
- Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, Rubio S, Antoni R, Park SY, Cutler SR, Sheen J, Rodriguez PL, Zhu JK et al (2009). *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. Nature, 462 (7273): 660~664
- Geiger D, Scherzer S, Mumm P, Stange A, Marten I, Bauer H, Ache P, Matschi S, Liese A, Tina R et al (2009). Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. Proc Natl Acad Sci USA, 106 (50): 21425~21430
- Hose E, Steudle E, Hartung W (2000). Abscisic acid and hydraulic conductivity of maize roots: a study using cell-and root-pressure probes. Planta, 211 (6): 874~882
- Hubbard KE, Nishimura N, Hitomi K, Getzoff ED, Schroeder JI (2010). Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions. Gene Dev, 24 (16): 1695~1708
- Javot H, Lauvergeat V, Santoni V, Martin-Laurent F, Güçlü J, Vinh J, Heyes J, Franck KI, Schäffner AR, Bouchez D (2003). Role of a single aquaporin isoform in root water uptake. Plant Cell, 15 (2): 509~522
- Jones H, Leigh RA, Tomos AD, Jones RGW (1987). The effect of abscisic acid on cell turgor pressures, solute content and growth of wheat roots. Planta, 170 (2): 257~262
- Kaldenhoff R, Kölling A, Richter G (1993). A novel blue light-and abscisic acid-inducible gene of *Arabidopsis thaliana* encoding an intrinsic membrane protein. Plant Mol Biol, 23 (6): 1187~1198
- Kaldenhoff R, Ribas-Carbo M, Flexas J, Lovisolo C, Heckwolf M, Uehlein N (2008). Aquaporins and plant water balance. Plant Cell Environ, 31 (5): 658~666
- Kline KG, Sussman MR, Jones AM (2010). Abscisic acid receptors. Plant Physiol, 154 (2): 479~482
- Klingler JP, Batelli G, Zhu JK (2010). ABA receptors: the START of a new paradigm in phytohormone signalling. J Exp Bot, 61 (12): 3199~3210
- Lee SC, Lan W, Buchanan BB, Luan S (2009). A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. Proc Natl Acad Sci USA, 106 (50): 21419~21424
- Lee SH, Chung GC, Steudle E (2005). Low temperature and mechanical stresses differently gate aquaporins of root cortical cells of chilling-sensitive cucumber and-resistant figleaf gourd. Plant Cell Environ, 28 (9): 1191~1202
- Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E (2009). Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. Science, 324 (5930): 1064~1068
- Mahdieh M, Mostajeran A (2009). Abscisic acid regulates root hydraulic conductance via aquaporin expression modulation in *Nicotiana tabacum*. J Plant Physiol, 166 (18): 1993~2003
- Melcher K, Ng LM, Zhou XE, Soon FF, Xu Y, Suino-Powell KM, Park SY, Weiner JJ, Fujii H, Chinnusamy V et al (2009). A gate-latch-lock mechanism for hormone signalling by abscisic acid receptors. Nature, 462 (7273): 602~608
- Morillon R, Chrispeels MJ (2001). The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells. Proc Natl Acad Sci USA, 98 (24): 14138~14143
- Nambara E, Okamoto M, Tatematsu K, Yano R, Seo M, Kamiya Y



- (2010). Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. *Seed Sci Res*, 20 (2): 55~67
- Nishimura N, Sarkeshik A, Nito K, Park SY, Wang A, Carvalho PC, Lee S, Caddell DF, Cutler SR, Chory J et al (2010). PYR/PYL/RCAR family members are major *in-vivo* ABI1 protein phosphatase 2C-interacting proteins in *Arabidopsis*. *Plant J*, 61: 290~299
- North GB, Martre P, Nobel PS (2004). Aquaporins account for variations in hydraulic conductance for metabolically active root regions of *Agave deserti* in wet, dry, and rewetted soil. *Plant Cell Environ*, 27 (2): 219~228
- Parent B, Hachez C, Redondo E, Simonneau T, Chaumont F, Tardieu F (2009). Drought and abscisic acid effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate: a trans-scale approach. *Plant Physiol*, 149 (4): 2000~2012
- Park SY, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, Lumba S, Santiago J, Rodrigues A, Chow TF (2009). Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 324 (5930): 1068~1071
- Pastor A, Lopez-Carbonell M, Alegre L (1999). Abscisic acid immunolocalization and ultrastructural changes in water-stressed lavender (*Lavandula stoechas* L.) plants. *Physiol Plant*, 105 (2): 272~279
- Quintero JM, Fournier JM, Benlloch M (1999). Water transport in sunflower root systems: effects of ABA, Ca<sup>2+</sup> status and HgCl<sub>2</sub>. *J Exp Bot*, 50 (339): 1607~1612
- Raschke K, Shabahang M, Wolf R (2003). The slow and the quick anion conductance in whole guard cells: their voltage-dependent alternation, and the modulation of their activities by abscisic acid and CO<sub>2</sub>. *Planta*, 217 (4): 639~650
- Schraut D, Heilmeier H, Hartung W (2005). Radial transport of water and abscisic acid (ABA) in roots of *Zea mays* under conditions of nutrient deficiency. *J Exp Bot*, 56 (413): 879~886
- Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D (2001). Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 52 (1): 627~658
- Sharp RE (2002). Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. *Plant Cell Environ*, 25 (2): 211~222
- Steudle E (1993). Pressure probe techniques: basic principles and application to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level. In: Smith JAC, Griffiths H, eds. *Water Deficits: Plant Responses from Cell to Community*. Oxford: Bios, 5~36
- Szostkiewicz I, Richter K, Kepka M, Demmel S, Ma Y, Korte A, Assaad FF, Christmann A, Grill E (2009). Closely related receptor complexes differ in their ABA selectivity and sensitivity. *Plant J*, 61 (1): 25~35
- Tyerman SD, Bohnert HJ, Maurel C, Steudle E, Smith JAC (1999). Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *J Exp Bot*, 50: 1055~1071
- Tyerman SD, Niemietz CM, Bramley H (2002). Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environ*, 25 (2): 173~194
- Wan XC (2010). Osmotic effects of NaCl on cell hydraulic conductivity of corn roots. *Acta Biochim Biophys Sin*, 42 (5): 351~357
- Weig A, Deswarte C, Chrispeels MJ (1997). The major intrinsic protein family of *Arabidopsis* has 23 members that form three distinct groups with functional aquaporins in each group. *Plant Physiol*, 114 (4): 1347~1357
- Vandeleur RK, Mayo G, Sheldon MC, Gilliam M, Kaiser BN, Tyerman SD (2009). The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiol*, 149 (1): 445~460
- Yoshida T, Fujita Y, Sayama H, Kidokoro S, Maruyama K, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2010). AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *Plant J*, 61 (4): 672~685
- Yuan X, Yin P, Hao Q, Yan C, Wang J, Yan N (2010). Single amino acid alteration between valine and isoleucine determines the distinct pyrabactin selectivity by PYL1 and PYL2. *J Biol Chem*, 285 (37): 28953~28958
- Zhang SQ, Outlaw WH (2001). Abscisic acid introduced into the transpiration stream accumulates in the guard-cell apoplast and causes stomatal closure. *Plant Cell Environ*, 24 (10): 1045~1054
- Zimmermann U, Hüskens D (1979). Theoretical and experimental exclusion of errors in the determination of the elasticity and water transport parameters of plant cells by the pressure probe technique. *Plant Physiol*, 64 (1): 18~24