

## 专题介绍 Special Topics

## 植物保卫细胞离子通道在气孔运动中的作用

薛绍武<sup>1</sup> 杨频<sup>1,\*</sup> 裴真明<sup>2</sup><sup>1</sup>山西大学分子科学研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006; <sup>2</sup>Department of Biology, Duke University, Durham, NC27708, USA

## The Role of Ion Channel of Plant Guard Cells in Stomatal Movements

XUE Shao-Wu<sup>1</sup>, YANG Pin<sup>1,\*</sup>, PEI Zhen-Ming<sup>2</sup><sup>1</sup>Chemical Biology and Molecular Engineering Laboratory of Education Ministry, Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006; <sup>2</sup>Department of Biology, Duke University, Durham, NC27708, USA**提要** 介绍保卫细胞质膜和液泡膜上的离子通道活性变化及其在气孔运动中的作用, 同时对各种刺激引发气孔运动过程中的信使Ca<sup>2+</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和pH等对离子通道的调节作用作了概述。**关键词** 保卫细胞; 离子通道; 气孔运动; 胞质钙; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

气孔由一对保卫细胞包围形成, 它是植物与外界环境进行气体交换的门户, 其开闭运动调控着光合作用和蒸腾作用, 植物散失的水分90%左右是经气孔排出的<sup>[1]</sup>。因此, 研究气孔的调控机制, 为解决水分缺失, 提高作物的耐旱性, 是很有意义的。

气孔运动由保卫细胞的膨压调节, 即膨压增大时气孔开放, 膨压减少时气孔关闭。气孔开放时, 保卫细胞积聚K<sup>+</sup>、阴离子和糖, 细胞渗透势增加, 吸收水分, 体积膨胀; 相反, K<sup>+</sup>、阴离子等从保卫细胞中流出, 细胞渗透势减小, 水分从细胞中排出, 细胞收缩, 气孔关闭<sup>[2]</sup>。研究已表明, 离子通道对保卫细胞膨压有调节作用。本文综述了各类离子通道在气孔运动中的作用以及一些调节因子(Ca<sup>2+</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、pH等)对离子通道的影响。

**1 质膜K<sup>+</sup>通道与气孔运动**

保卫细胞质膜上主要存在两种K<sup>+</sup>通道: 即内向整流K<sup>+</sup>通道(K<sup>+</sup><sub>in</sub>)和外向整流K<sup>+</sup>通道(K<sup>+</sup><sub>out</sub>)。这两种K<sup>+</sup>通道对气孔运动作用不同。

**1.1 内向整流K<sup>+</sup>通道(K<sup>+</sup><sub>in</sub>)** 保卫细胞质膜的超极化(膜电位低于-100 mV时)可激活此通道。Schroeder和Haggiwara<sup>[3]</sup>采用膜片钳技术研究大豆(*Vicia faba*)保卫细胞的结果表明, 胞质Ca<sup>2+</sup>浓度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>)升高可抑制K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道, K<sup>+</sup>内流受阻, K<sup>+</sup>吸收受

限, 结果抑制气孔开放。胞质Ca<sup>2+</sup>浓度较低时, 负电势增加, K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道开启的可能性增加。Wang等<sup>[4]</sup>研究大豆保卫细胞的结果表明, 远轴的(abaxial)保卫细胞K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道是受[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>和脱落酸(ABA)抑制的, 同时, 胞外的Ca<sup>2+</sup>和ABA能调节远轴气孔运动, 而近轴的(adaxial)保卫细胞K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道对[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>和胞外的ABA不敏感, 近轴气孔运动受胞外Ca<sup>2+</sup>、ABA的影响很小。这说明胞外Ca<sup>2+</sup>和ABA调节的气孔运动有K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道参与, 而远轴和近轴保卫细胞对Ca<sup>2+</sup>和ABA的不同反应机制仍需深入研究。Grabov和Blatt<sup>[5]</sup>结合电压钳和荧光测钙技术研究大豆保卫细胞, 发现超极化激活的K<sup>+</sup><sub>in</sub>电流对[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>有强烈的依赖性, 每个K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道与Ca<sup>2+</sup>有4个结合位点, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>较小的升高就可使K<sup>+</sup><sub>in</sub>通道失活。Romano等<sup>[6]</sup>结合膜片钳和共聚焦钙成像技术, 将保卫细胞胞内和胞外的Ca<sup>2+</sup>络合, 加入ABA后K<sup>+</sup><sub>in</sub>电流受到抑制。他们由此提出ABA抑制K<sup>+</sup><sub>in</sub>电流除存在依赖钙的信号途径外, 还存在不依赖钙的信号途径。

Zhang等<sup>[7]</sup>发现ABA诱导气孔关闭信号过程

收稿 2003-10-14 修定 2004-03-29

资助 国家自然科学基金重大项目(29890280)。

\* 通讯作者(E-mail: yangpin@sxu.edu.cn, Tel: 0351-7011022)。

中有  $H_2O_2$  产生,  $H_2O_2$  的清除剂过氧化氢酶 (CAT) 和 NADPH 氧化酶抑制剂 DPI (diphenylene iodonium) 可以部分消除 ABA 诱导的气孔关闭。Zhang 等<sup>[8]</sup>进一步研究表明, CAT 和 DPI 可减弱 ABA 对  $K^+_{in}$  通道电流的抑制作用,  $H_2O_2$  可抑制  $K^+_{in}$  通道电流, 从而提出  $H_2O_2$  是通过调节  $K^+$  电流而诱导气孔关闭的。弱碱苯甲基胺 (benzylamine) 可促进, 丁酸 (butyric acid) 则抑制  $H_2O_2$  引发的气孔关闭。共聚焦 pH 成像分析表明,  $H_2O_2$  可使保卫细胞胞质碱化和液泡内 pH 减小<sup>[9]</sup>。

Lee 等<sup>[10]</sup>实验结果表明, 亚麻酸和花生四烯酸可促进气孔开放和抑制气孔关闭是因为: 亚麻酸和花生四烯酸可激活  $K^+_{in}$  通道电流, 抑制  $K^+_{out}$  通道电流。它们是目前发现为数不多的  $K^+_{in}$  通道激活剂。Liu 等<sup>[11]</sup>研究多胺对大豆保卫细胞离子通道的作用时, 发现多胺可抑制  $K^+_{in}$  通道电流, 引发气孔关闭, 但对  $K^+_{out}$  通道和阴离子通道电流则没有作用, 说明多胺和 ABA 对气孔的调节途径不同。

总之,  $K^+_{in}$  通道开放有利于气孔开放而抑制气孔关闭;  $K^+_{in}$  通道受抑制后, 气孔开放即受到抑制。

**1.2 外向整流  $K^+$  通道 ( $K^+_{out}$ )** 保卫细胞质膜的去极化可激活外向整流  $K^+$  通道 ( $K^+_{out}$ )。Schroeder 和 Hagiwara<sup>[3]</sup>研究 ABA 信号时发现,  $K^+_{in}$  通道对  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  敏感, 而  $K^+_{out}$  通道对  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  则不敏感。Blatt 和 Armstrong<sup>[12]</sup>研究 ABA 对保卫细胞作用时也发现  $K^+_{out}$  通道电流增强,  $K^+_{in}$  通道电流减小。同时, ABA 可诱发胞内 pH 值升高, 胞内 pH 值升高后  $K^+_{out}$  通道电流即增强; 胞质酸化或缓冲胞内的 pH 值可抑制 ABA 引发的  $K^+_{out}$  通道电流。

安国勇等<sup>[13]</sup>研究  $H_2O_2$  对蚕豆气孔运动和质膜  $K^+$  通道影响时发现, 不同浓度 ( $10^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的  $H_2O_2$  可促使叶片气孔关闭, 抑制气孔张开, 且  $10^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $H_2O_2$  抑制气孔张开作用能被 EGTA 所消除, 表明  $Ca^{2+}$  参与低浓度  $H_2O_2$  使气孔关闭的过程。2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $H_2O_2$  可使质膜  $K^+_{in}$  通道电流明显减少,  $K^+_{out}$  通道电流显著增加, 进一步证明  $H_2O_2$  促使气孔关闭是通过抑制  $K^+$  流入保卫细胞质膜内或加强  $K^+$  外向流出实现的。而

Kohler 等<sup>[14]</sup>报道浓度为  $1 \sim 50^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $H_2O_2$  对  $K^+_{out}$  通道电流和  $K^+_{in}$  通道电流都有抑制作用, 这与 ABA 的作用不同, 而  $H_2O_2$  也可引发气孔关闭, 气孔关闭时会有  $K^+$  流出细胞, 他们推测质膜上还存在其它的  $K^+$  外流方式<sup>[15]</sup>。有关  $H_2O_2$  对  $K^+_{out}$  通道电流不同影响的报道可能和实验中使用  $H_2O_2$  浓度有关, 高浓度  $H_2O_2$  可能影响质膜的氧化还原状态或生物物理状态, 使胞内  $K^+$  大量外流。

Ilan 等<sup>[16]</sup>发现保卫细胞  $K^+_{out}$  通道受环境温度的调控。在适当温度 ( $13 \sim 20^\circ\text{C}$ ) 下,  $K^+_{out}$  和  $K^+_{in}$  通道中电流随着温度升高而增加; 在  $20 \sim 28^\circ\text{C}$  下,  $K^+_{out}$  电流随着温度的升高而降低, 但  $K^+_{in}$  电流依然增加。  $K^+_{out}$  和  $K^+_{in}$  通道对于较高温度的不同反应, 会导致  $K^+$  内流, 于是气孔张开, 这样可以提高蒸腾效率而降低叶面温度。Evans<sup>[17]</sup>研究发现, 茉莉酮酸甲酯可调节保卫细胞质膜钾电流,  $0.1^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  茉莉酮酸甲酯增强  $K^+_{out}$  通道电流, 抑制  $K^+_{in}$  通道电流。茉莉酮酸酯能够引发气孔关闭, 并且使胞质碱化, 胞质经酸化处理后, 反应即消失。Liu 和 Luan<sup>[18]</sup>发现有两种拉伸激活的通道 (stretch-activated channel, SAC): 保卫细胞跨膜的渗透势激活的  $K^+_{in}$  和  $K^+_{out}$  通道。高渗透势能激活  $K^+_{in}$  通道, 抑制  $K^+_{out}$  通道, 使细胞充涨, 促使气孔开放; 而低渗透势则抑制  $K^+_{in}$  通道, 激活  $K^+_{out}$  通道, 使细胞收缩, 促使气孔关闭。

最近, 有人采用基因技术证明保卫细胞  $K^+_{out}$  通道在叶片气孔关闭中有作用<sup>[19,20]</sup>。Hosy 等<sup>[19]</sup>从拟南芥保卫细胞中鉴别了  $K^+_{out}$  通道基因 *GORK*。表皮生物分析的结果表明, *GORK* 基因活性受抑的植物对 ABA 和黑暗诱导的气孔关闭减缓; 分析植物气体交换和水分流失的结果表明, *GORK* 基因活性受抑的植物气孔关闭减缓后, 水分流失即加快。由上可知,  $K^+_{out}$  通道对气孔的作用和  $K^+_{in}$  通道作用相反,  $K^+_{out}$  通道开放有利于气孔关闭,  $K^+_{out}$  通道受抑制则有利于气孔开放。

除了上述慢激活的  $K^+_{out}$  通道外, 在拟南芥保卫细胞中还发现了一种快速激活的瞬时外向  $K^+$  电流 ( $I_{AP}$ )<sup>[15]</sup>。  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的升高能够抑制  $I_{AP}$ , 而  $K^+_{out}$  电流不受  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  浓度的较小变化影响。  $I_{AP}$  通道可为胞内 pH 碱化抑制, 而  $K^+_{out}$  通道则受胞内 pH 碱

化激发。 $I_{AP}$  通道对  $Ca^{2+}$  有较大的通透性。 $I_{AP}$  的生理意义还不清楚, 它可能对气孔运动有短期的调节作用。

## 2 质膜 $Ca^{2+}$ 通道与气孔运动

以前, 人们只能通过检测  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化间接推测质膜  $Ca^{2+}$  通道的变化。后来, 随着膜片钳技术在植物细胞学研究中的广泛应用及相关技术的改进, 人们已经能直接检测到植物细胞质膜  $Ca^{2+}$  通道的活性变化。

Hamilton等<sup>[21]</sup>和Pei等<sup>[22]</sup>分别用膜片钳技术检测到了  $Ca^{2+}$  通道活性。Hamilton等<sup>[21]</sup>在大豆保卫细胞质膜上检测到通透  $Ca^{2+}$  的单通道电流。ABA可增加  $Ca^{2+}$  电流, 而  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  则抑制  $Ca^{2+}$  电流。Hamilton等<sup>[23]</sup>还发现, 胞外  $Ba^{2+}$  能使  $Ca^{2+}$  通道更容易激活, 并且增加  $Ca^{2+}$  通道对超极化电压的敏感性。Pei等<sup>[22]</sup>在拟南芥保卫细胞质膜上检测到了  $Ca^{2+}$  通透的通道电流。此种电流能为 ABA 和  $H_2O_2$  激活。ABA 可诱发  $H_2O_2$  的产生, 如果用抑制剂抑制  $H_2O_2$  的产生, ABA 激活的  $Ca^{2+}$  通道电流也会受抑制。这表明  $H_2O_2$  是 ABA 和  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高的中间信使。 $H_2O_2$  激发的  $Ca^{2+}$  通道介导  $Ca^{2+}$  跨膜内流, 并且使  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高, 这可能是气孔关闭的重要原因。Kohler等<sup>[14]</sup>认为 Pei 等记录的全细胞  $Ca^{2+}$  电流和 Hamilton 等记录的单通道  $Ca^{2+}$  电流具有相似的特征, 这两种  $Ca^{2+}$  通道都有较强的电压依赖性, 电位低于  $-100$  mV 时激活, 并且都通透  $Ba^{2+}$  和  $Ca^{2+}$ 。Kohler等<sup>[14]</sup>还研究了  $H_2O_2$  和 ABA 对保卫细胞离子通道作用时的异同之处。 $H_2O_2$  和 ABA 都激活相同的  $Ca^{2+}$  通道, 作用方式也相似; 但  $H_2O_2$  和 ABA 对  $K^+$  通道作用也有不同。由此他们提出,  $Ca^{2+}$  通道是  $H_2O_2$  和 ABA 作用的焦点 (focal point), 而  $H_2O_2$  和 ABA 的信号途径不同, 但最终都调节气孔运动。最近 Kwak 等<sup>[24]</sup>报道, 对 NADPH 氧化酶缺失的突变体保卫细胞, ABA 诱导的气孔关闭受到减弱, 外源  $H_2O_2$  能够激活 NADPH 氧化酶缺失的突变体保卫细胞的  $Ca^{2+}$  通道, 引发气孔关闭, 从而进一步表明活性氧在 ABA 诱发气孔关闭中是有作用的。

除了  $H_2O_2$  和 ABA 可激发质膜  $Ca^{2+}$  电流外, 病原激发子也可激发  $Ca^{2+}$  电流, 而且还会引起

$[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高, 引发气孔关闭<sup>[25]</sup>。在胞外  $Ca^{2+}$  的参与下, 病原激发子可引起胞质  $Ca^{2+}$  振荡。加入 ABA 可阻止病原激发子引起的胞质  $Ca^{2+}$  振荡, 这与 ABA 引发的  $Ca^{2+}$  振荡不同。Klusener 等<sup>[25]</sup>据此认为, 病原激发子和 ABA 都能激发  $Ca^{2+}$  内流, 引起气孔关闭, 但两者的  $Ca^{2+}$  信号途径不同。

Allen 等<sup>[26]</sup>和 Evans 等<sup>[27]</sup>用  $Ca^{2+}$  指示剂 *cameleon* 研究拟南芥保卫细胞胞内  $Ca^{2+}$  震荡 (calcium oscillation) 信号时发现, 胞外  $Ca^{2+}$  可引发胞内  $Ca^{2+}$  振荡, 导致气孔关闭; 对于突变体 *det3* 的保卫细胞, 胞外  $Ca^{2+}$  可引起  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高, 但不能促使气孔关闭。Allen 等<sup>[28]</sup>进一步研究  $Ca^{2+}$  震荡和气孔关闭的关系时, 提出  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  引发气孔关闭有两种机制: 一种是当  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高时, 短期的“钙反应活性”(calcium reactive) 很快发生而引起气孔关闭; 另一种长期稳态的关闭则认为是由一定频率、间期、大小、波峰数的  $Ca^{2+}$  振荡形成的“钙编程”(calcium programmed)。

总之, 各种刺激会引发质膜  $Ca^{2+}$  通道开放, 从而引起  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  振荡, 进一步调节胞内反应, 引发气孔运动。

## 3 质膜阴离子通道与气孔运动

在保卫细胞质膜上主要存在两种类型的阴离子通道, 即慢型 (S) 阴离子通道和快型 (R) 阴离子通道。阴离子通道主要通透  $Cl^-$  和苹果酸根离子。

**3.1 慢型阴离子通道** 此通道可被 ABA 激活, 其激活所需膜电位范围较宽 ( $-200 \sim +60$  mV), 在  $0$  mV 出现最大电流。另外, 此种通道激活和失活都很慢<sup>[29]</sup>。Schroeder 等<sup>[30]</sup>发现, 快型和慢型阴离子通道抑制剂 NPPB (5-nitro-2, 3-phynpropyl-aminobenzoic acid) 可以完全抑制 ABA 和苹果酸诱导的气孔关闭, 而快型阴离子通道抑制剂 DIDS (4, 4'-disothiocyanatos-tilbene-2, 2'-disulfonic acid) 不能抑制慢型阴离子通道, 对 ABA 和苹果酸诱导的气孔关闭也没有明显的作用。

在大豆保卫细胞中, 胞内  $Ca^{2+}$  和膜的去极化可激活慢型阴离子通道<sup>[31]</sup>。Allen 等<sup>[32]</sup>发现拟南芥保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  也能激活慢型阴离子通道。在相同电压刺激下, 大豆保卫细胞中慢型阴离子电流可被激活, 而在拟南芥保卫细胞中此种电流却无

法激活。拟南芥保卫细胞的胞外和胞内以 ABA 处理时都可以激活慢型阴离子电流<sup>[33]</sup>。阴离子跨膜外流, 使膜去极化, 激活外向钾电流, 引发气孔关闭。在拟南芥突变体 *abi1* 和 *abi2* 的保卫细胞中, ABA 不能激活慢型阴离子电流。在大豆保卫细胞中, 蛋白激酶抑制剂 K-252a 完全抑制阴离子通道的活性和 ABA 诱导的气孔关闭, 而蛋白磷酸酶抑制剂冈田酸(okadaic acid, OA) 增强这两种效应。与此不同的是, 在拟南芥保卫细胞中 OA 可抑制 ABA 激活的阴离子电流和 ABA 诱导的气孔关闭。对突变体 *abi1* 的保卫细胞来说, K-252a 可部分恢复 ABA 激活的阴离子电流和 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[33]</sup>。大豆和拟南芥的保卫细胞对 ABA 呈现不同甚至相反信号反应的机制还需进一步研究。

Pei 等<sup>[34]</sup>研究了蛋白质法尼化(farnesylation)在 ABA 调节拟南芥保卫细胞慢型阴离子通道中的作用, 认为法尼基转移酶抑制剂 H F P A (□-hydroxyfarnesylphosphonic acid) 可使 ABA 激活的阴离子电流增大; 而在无 ABA 时, H F P A 则不能增大阴离子电流。H F P A 可促进 ABA 诱导的气孔关闭。他们还研究了法尼基转移酶基因 *ERAI* 缺失的拟南芥突变体 *eral-2* 应答 ABA 的反应, 发现 ABA 能够增大 *eral-2* 阴离子电流, 促使气孔关闭, 而 *eral-2* 植株在干旱时蒸腾效率降低。在相同的干旱处理条件下, 野生型出现严重的枯萎, 而 *eral-2* 植物叶中却水分饱满, 呈现绿色。说明法尼基转移酶是 ABA 调节阴离子通道活性的负调节者。

另外, 保卫细胞蛋白激酶 A A P K 参与调节阴离子通道活性和 ABA 诱发的气孔关闭, A A P K 基因缺失的突变体中 ABA 不能调节阴离子通道和诱发气孔关闭<sup>[35]</sup>。

这些都提示慢型阴离子通道在 ABA 诱导的气孔关闭中起主要调节作用。

**3.2 快型阴离子通道** 此通道在膜去极化时可迅速被激活, 膜超极化时又可迅速失活, 膜电位  $-100 \sim +30$  mV 范围内, 此通道仍处于活性状态, 在  $-50 \sim -30$  mV 处有最大电流<sup>[29]</sup>。Hedrich 等<sup>[36]</sup>发现胞外  $[Ca^{2+}]$  的升高能够激活 R 型阴离子通道。有关 R 型阴离子通道在气孔运动中的作用还不很清楚。

#### 4 液泡膜的离子通道与气孔运动

保卫细胞的液泡是溶质的贮存器官, 在气孔运动中对调节渗透势有作用。液泡占到保卫细胞 90% 以上的体积, 在气孔关闭时释放到胞外的  $K^+$ 、阴离子等首先须由液泡释放到胞质中。

**4.1  $K^+$ 通道(VK channel)** Ward 和 Schroeder<sup>[37]</sup>发现液泡膜上存在高选择性的  $K^+$  通道(VK channel), 负责液泡  $K^+$  释放。 $[Ca^{2+}]_{cyt}$  较低时, 检测不到 VK 活性; 当  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  上升到生理浓度至  $1.00 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  之间时, VK 通道可迅速被激活。VK 通道电流受胞质酸性的促进<sup>[38]</sup>。

**4.2 快液泡离子通道(FV channel)** 液泡膜上还存在快速激活的阳离子通道(FV channel), FV 通道不同于 VK 通道, 它可能被胞质升高的  $Ca^{2+}$  抑制, 对  $K^+$  和阴离子都能通透<sup>[37]</sup>; FV 通道电流受胞质碱性 pH 促进<sup>[38]</sup>。FV 通道能通透内向和外向的离子流, 生理浓度的  $Ca^{2+}$  不抑制 FV 电流, 而生理浓度的  $Mg^{2+}$  则能增强  $Ca^{2+}$  对此通道的抑制作用。由此推测, 在气孔开放时  $Mg^{2+}$  对 FV 通道的抑制调节有作用<sup>[39]</sup>。

**4.3 慢液泡离子通道(SV channel)** 液泡 VK 通道选择性地释放  $K^+$  会使液泡膜电位向正电位方向移动, 从而会激发另一个广泛存在的慢液泡离子通道(SV channel)。SV 通道与 VK 通道不同, 它是高度电压依赖性的, 是非选择性阳离子通道。与 VK 通道相同的是, SV 通道也受胞质  $Ca^{2+}$  激活。Ward 和 Schroeder<sup>[37]</sup>发现 SV 通道对  $Ca^{2+}$  也有选择性(通透比率  $Ca^{2+} : K^+ = 3 : 1$ )。SV 通道在  $K^+$  溶液中单通道的电导是 70 pS, 只含有  $Ca^{2+}$  的溶液中单通道的电导降到 16 pS 左右, 表明此种通道存在一较强的  $Ca^{2+}$  结合位点。这些结果表明, 经过 SV 通道从液泡释放的  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  在气孔关闭过程中具有一定的贡献。

**4.4  $Ca^{2+}$ 通道** Allen 和 Sanders<sup>[40]</sup>在保卫细胞液泡膜上发现  $Ca^{2+}$  通道。这种  $Ca^{2+}$  通道与 SV 不同, 它对胞质的  $Ca^{2+}$  不敏感。保卫细胞中液泡腔内 pH 值的碱化能够激发这一通道, 表明气孔运动中有一个特定部位能使液泡 pH 值碱化从而引发  $Ca^{2+}$  释放。另外, 保卫细胞中液泡膜上还存在  $IP_3$  和 cADPR 门控的  $Ca^{2+}$  通道,  $IP_3$  和 cADPR 升高可激活

这两种通道,引起胞质  $\text{Ca}^{2+}$  增加,诱导气孔关闭<sup>[41]</sup>。

**4.5 阴离子通道** 在大豆保卫细胞中液泡膜上存在对钙依赖的蛋白激酶(CDPK)激活的阴离子通道,它通透  $\text{Cl}^-$  和苹果酸,为  $\text{Ca}^{2+}$  和 ATP 激活。在生理膜电势下它可以通透阴离子进入液泡内,可能对气孔开放时阴离子的运动有作用<sup>[42]</sup>。总的来说,这些液泡离子通道的确切作用仍不清楚。

## 5 结束语

综上所述,保卫细胞中的离子通道在气孔运动过程中发挥不同作用。以 ABA 调节气孔运动<sup>[2, 43, 44]</sup>为例,ABA 诱导  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  升高,激活质膜  $\text{Ca}^{2+}$  通道和胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  库(液泡等),抑制质膜  $\text{H}^+$  泵和  $\text{K}^+_{\text{in}}$  通道,同时激发快型和慢型阴离子通道,向胞外释放阴离子使膜去极化,质膜去极化又进一步抑制  $\text{K}^+_{\text{in}}$  通道,激活  $\text{K}^+_{\text{out}}$  通道,向胞外释放  $\text{K}^+$ ;大量阴离子和  $\text{K}^+$  释放到胞外使保卫细胞膨压降低,诱导气孔关闭。ABA 还可通过不依赖  $\text{Ca}^{2+}$  的途径,即通过提高胞质 pH,激活  $\text{K}^+_{\text{out}}$  通道和阴离子通道而诱导气孔关闭。

近来很多研究表明,气孔保卫细胞的信号转导中存在广泛的“对话”(cross talk),如气孔运动过程中  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 NO 的信号交叉<sup>[45]</sup>,  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 NO 参与 ABA 诱导的气孔关闭过程<sup>[14, 46~48]</sup>,以及气孔运动过程中 NO 和  $\text{Ca}^{2+}$  的信号交叉<sup>[49]</sup>等。但信使之间(如  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和 NO)在信号转导中的地位、关系如何,各信使在气孔运动过程中是如何协同调节各种离子通道活性的,仍需要深入研究。保卫细胞的  $\text{Ca}^{2+}$  通道基因和  $\text{Ca}^{2+}$  信号特异性<sup>[50]</sup>等都还不十分清楚。结合分子基因工程<sup>[51]</sup>,深入研究气孔运动的分子机制,在理论和实践上都有现实意义。

## 参考文献

- 1 李合生编. 现代植物生理学. 北京:高等教育出版社, 2002. 164~174
- 2 Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V et al. Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 627~658
- 3 Schroeder JI, Hggawara S. Cytosolic calcium regulation ion channels in the plasma membrane of *Vicia faba* guard cells. *Nature*, 1989, 338:427~430
- 4 Wang XQ, Wu WH, Assmann SM. Differential responses of abaxial and adaxial guard cells of broad bean to abscisic acid and calcium. *Plant Physiol*, 1998, 118:1421~1429
- 5 Grobov A, Blatt MR. A steep dependence of inward-rectifying  $\text{K}^+$  channels on cytosolic free calcium concentration increase evoked by hyperpolarization in guard cells. *Plant Physiol*, 1999, 119:277~287
- 6 Romano LA, Jacob T, Gilroy S et al. Increase in cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  are not required for abscisic acid-inhibition of inward  $\text{K}^+$  currents in guard cells of *Vicia faba* L. *Planta*, 2000, 211:209~217
- 7 Zhang X, Zhang L, Dong FC et al. Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Physiol*, 2001, 126:1438~1448
- 8 Zhang X, Miao YC, An GY et al.  $\text{K}^+$  channels inhibited by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in *Vicia* guard cells. *Cell Res*, 2001, 11(3):195~202
- 9 Zhang X, Dong FC, Gao JF et al. Hydrogen peroxide-induced changes in intracellular pH of guard cells precede stomatal closure. *Cell Res*, 2001, 11(1): 37~43
- 10 Lee Y, Lee HJ, Crain RC et al. Polyunsaturated fatty acids modulate stomatal aperture and two distinct  $\text{K}^+$  channel currents in guard cells. *Cell Signal*, 1994, 6:181~186
- 11 Liu K, Fu HH, Bei QX et al. Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. *Plant Physiol*, 2000, 124: 1315~1325
- 12 Blatt MR, Armstrong F.  $\text{K}^+$  channels of stomatal guard cells: abscisic acid-evoked control of the outward-rectifier mediated by cytoplasmic pH. *Planta*, 1993, 191: 330~341
- 13 安国勇, 宋纯鹏, 张骁等. 过氧化氢对蚕豆气孔运动和质膜  $\text{K}^+$  通道的影响. *植物生理学报*, 2000, 26(5): 458~464
- 14 Kohler B, Hills A, Blatt MR. Control of guard cell ion channels by hydrogen peroxide and abscisic acid indicates their action through alternate signaling pathways. *Plant Physiol*, 2003, 131: 385~388
- 15 Pei ZM, Baizabal-Aguirre VM, Allen GJ et al. A transient outward-rectifying  $\text{K}^+$  channel current down-regulated by cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  in *Arabidopsis thaliana* guard cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6548~6553
- 16 Ilan N, Moran N, Schwartz A. The role of potassium channels in the temperature control of stomatal aperture. *Plant Physiol*, 1995, 108:1161~1170
- 17 Evans NH. Modulation of guard cell plasma membrane potassium current by methyl jasmonate. *Plant Physiol*, 2003, 131: 8~11
- 18 Liu K, Luan S. Voltage-dependent  $\text{K}^+$  channels as targets of osmosensing in guard cells. *Plant Cell*, 1998, 10: 1957~1970
- 19 Hosi E, Vavasseur A, Mouline K et al. The *Arabidopsis* outward  $\text{K}^+$  channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,

- 100:5549~5554
- 20 Schroeder JI. Knockout of the guard cell K<sup>+</sup> out channel and stomatal movements. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4976~4977
- 21 Hamilton DWA, Hills A, Kohler B et al. Ca<sup>2+</sup> channels at the plasma membrane of stomatal guard are activated by hyperpolarization and abscisic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 4967~4972
- 22 Pei ZM, Murata Y, Benning G et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide abscisic acid signaling in guard cells. *Nature*, 2000, 406:731~734
- 23 Hamilton DWA, Hills A, Blatt MR. Extracellular Ba<sup>2+</sup> and voltage interact to gate Ca<sup>2+</sup> channels at the plasma membrane of stomatal guard cells. *FEBS Lett*, 2001, 491:99~103
- 24 Kwak JM, Mori IC, Pei ZM et al. NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 2003, 22(11):2623~2633
- 25 Klusener B, Young JJ, Murata Y et al. Convergence of calcium signaling pathways of pathogenic elicitors and abscisic acid in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiol*, 2002, 130:2152~2163
- 26 Allen GJ, Kwak JM, Chu Sp et al. Cameleon calcium indicator reports cytoplasmic calcium dynamics in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J*, 1999, 19: 735~738
- 27 Evans NH, Hetherington AM. Plant physiology: The ups and downs of guard cell signalling. *Curr Biol*, 2001, 11: R92~R94
- 28 Allen GJ, Chu SP, Harrington CL et al. A defined range of guard cell calcium oscillation parameters encodes stomatal movements. *Nature*, 2001, 411: 1053~1057
- 29 Schroeder JI, Keller BU. Two types of anion channel currents in guard cells with distinct voltage regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89:5025~5029
- 30 Schroeder JI, Schmidt C, Sheaffer J. Identification of high-affinity slow anion channel blockers and evidence for stomatal regulation by slow anion channels in guard cells. *Plant Cell*, 1993, 5: 183~184
- 31 Schmidt C, Schelle I, Liao XJ et al. Strong regulation of slow anion channels and abscisic acid signaling in guard cells by phosphorylation and dephosphorylation events. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92:9535~9539
- 32 Allen GJ, Chu SP, Kuchitsu K et al. Alteration of stimulus-specific guard cell calcium oscillations and stomatal closing in *Arabidopsis det3* mutant. *Science*, 2000, 289:2338~2342
- 33 Pei ZM, Kuchitsuk, Ward JM et al. Differential abscisic acid regulation of guard cell slow anion channels in *Arabidopsis* wild type and *abil* and *abi2* mutants. *Plant Cell*, 1997, 9:409~423
- 34 Pei ZM, Ghassemian M, Kwak CM et al. Role of farnesyltransferase in ABA regulation of guard cell anion channels and plant water loss. *Science*, 1998, 282:287~290
- 35 Li JX, Wang XQ, Watson MB et al. Regulation of abscisic acid induced stomatal closure and anion channels by guard cell AAPK kinase. *Science*, 2000, 287:300~303
- 36 Hedrich R, Busch H, Raschke K. Ca<sup>2+</sup> and nucleotide dependent regulation of voltage dependent anion channels in the plasma membrane of guard cells. *EMBO J*, 1990, 9:3889~3892
- 37 Ward JM, Schroeder JI. Calcium-activated K<sup>+</sup> channels and calcium-induced release by slow vacuolar ion channels in guard cell vacuoles implicated in the control of stomatal closure. *Plant Cell*, 1994, 6:669~683
- 38 Allen GJ, Amtmann A, Sanders D. Calcium-dependent and calcium-independent K<sup>+</sup> mobilization channels in *Vicia faba* guard cell vacuoles. *J Exp Bot*, 1998, 49:305~318
- 39 Pei ZM, Ward JM, Schroeder JI. Magnesium sensitizes slow vacuolar channels to physiological cytosolic calcium and inhibits fast vacuolar channels in faba bean guard cell vacuoles. *Plant Physiol*, 1999, 121:977~986
- 40 Allen GJ, Sanders D. Two voltage-gated, calcium release channels coreside in the vacuolar membrane of broad bean guard cells. *Plant Cell*, 1994, 6:685~694
- 41 Leckie CP, McAinsh MR, Montgomery L et al. Second messengers in guard cells. *J Exp Bot*, 1998, 49: 339~349
- 42 Pei ZM, Ward JM, Harper JF et al. A novel chloride channel in *Vicia faba* guard cell vacuoles activated by the serine/threonine kinase, CDPK. *EMBO J*, 1996, 15:6564~6574
- 43 Schroeder JI, Kwak JM, Allen GJ. Guard cell abscisic acid signaling and engineering drought hardness in plants. *Nature*, 2001, 410(15): 327~330
- 44 匡逢春, 萧浪涛, 夏石头. 脱落酸对植物气孔运动的调控作用. *植物生理学通讯*, 2003, 39 (3):262~266
- 45 刘新, 张蜀秋, 娄成后. 气孔运动调控中过氧化氢和一氧化氮信号途径的交叉作用. *自然科学进展*, 2003, 13(4):355~358
- 46 García-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cell. *Plant Physiol*, 2002, 128: 790~792
- 47 Neil SJ, Desikan R, Clarke A et al. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol*, 2002, 128:13~16
- 48 García-Mata C, Gay R, Sokolovski S et al. Nitric oxide regulates K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> channels in guard cells through a subset of abscisic acid-evoked signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(19): 11116~11121
- 49 刘新, 张蜀秋, 娄成后. Ca<sup>2+</sup>参与NO对蚕豆气孔运动的调控. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(4): 342~346
- 50 尚忠林, 毛国红, 孙大业. 植物细胞内钙信号的特异性. *植物生理学通讯*, 2003, 39(2):93~100
- 51 Webb AR, Baker AJ. Stomatal biology: new techniques, new challenges. *New Phytol*, 2002, 153: 365~370