

植物异形叶研究进展

李高洁^{1,2}, 胡诗琦^{1,2}, 杨晶晶^{1,2}, 侯宏伟^{1,2,*}

¹中国科学院水生生物研究所, 武汉430072

²中国科学院大学, 北京100049

摘要: 植物叶形受环境调控产生显著差异的现象称为“异形叶(heterophylly)”, 它是研究植物环境适应性的理想模型。异形叶植物能够通过表型、结构和生理变化来适应不同环境, 具有独特的研究价值。研究表明, 异形叶与环境因子和植物激素密切相关, 这一事件可能经过多次独立演化, 其调控机制也各有不同。本文将对现有的异形叶研究进行系统综述, 为阐明植物的环境适应机制提供参考。

关键词: 异形叶; 环境适应; 形态发生; 表型可塑性; 分子机制

近年来, 随着全球性的气候变化加剧, 极端灾害天气频繁发生。环境变化对生物的生长发育和生态功能有着深远影响, 对植物、特别是农作物产量和粮食安全也带来了潜在的危險。叶是植物生长发育的重要器官, 叶形对其光合作用、蒸腾作用和气体交换等生理活动有着重要影响(Sack和Scoffoni 2013; Tsukaya 2014)。研究叶形的环境调控规律不仅对深刻认识植物的适应环境性具有明确的理论意义, 在作物改良和农业生产等领域也具有重要的实践价值。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等模式植物难以适应水淹、干旱等环境, 利用其研究植物的环境适应机制具有一定的局限性; 而一些植物能够通过改变自身形态来适应环境变化, 这种叶形随环境变化呈现显著差异的现象称为异形叶(heterophylly), 它为我们研究植物适应环境的机理提供了一个理想模型(Zotz等2011)。

异形叶最初定义为植株生活史中的各种叶形变异, 并不特指环境对植物叶形的影响。最近的研究将其限定为特指环境造成的植物表型差异, heterophylly的相近名词如heteroblasty指同一植株不同发育阶段的叶形差异, 而anisophylly则指同一植株背腹面的叶形差异, 二者并不强调叶形变化与环境改变的联系(Dengler 1999; Nakayama等2012; Li等2019)。

异形叶现象多发现于水生植物中, 在生活在陆水交替带的水生植物中尤为常见。这些植物为适应水位升降造成的水生、陆生两种生境, 逐渐

演化出表型可塑的特征: 沉水叶常为深裂、丝状或线形, 叶片较薄且缺少气孔结构, 维管束退化而通气组织增加; 陆生叶则简单、完整, 气孔和维管束较发达(Li等2017)。这种可塑性的外形和结构能够使植物有效调节水可用性、采光面积、气体交换和营养吸收, 保证生长发育的顺利进行(Nakayama等2014; Kim等2018)。不同的异形叶植物中可能存在多种调控机制, 环境因子、植物激素和调控基因之间形成了复杂的调节网络, 在异形叶形态建成过程中发挥着重要作用。

1 异形叶的环境调控

异形叶研究始于20世纪初, McCallum (1902)开创了研究环境因子调控异形叶植物表型的先河。此后, 人们对环境与叶形的对应关系进行了大量研究, 发现光照、温度、湿度、空气组成和水文条件等环境因子均能调控异形叶植物的叶形变化(图1)。

除陆生/水生环境调控异形叶植物的叶形之外, 环境因子也显著调控异形叶植物的叶形变化。高光强、远红光、蓝光、高温、低湿度、长日照、低浓度CO₂和浅水等促进陆生叶的形成; 低

收稿 2020-07-22 修定 2020-08-15

资助 国家自然科学基金(31870384)、中国博士后科学基金资助项目(2020M672444)和国家重点研发计划(2017YFE-0128800和2018YFD0900801)。

* 通讯作者(houhw@ihb.ac.cn)。

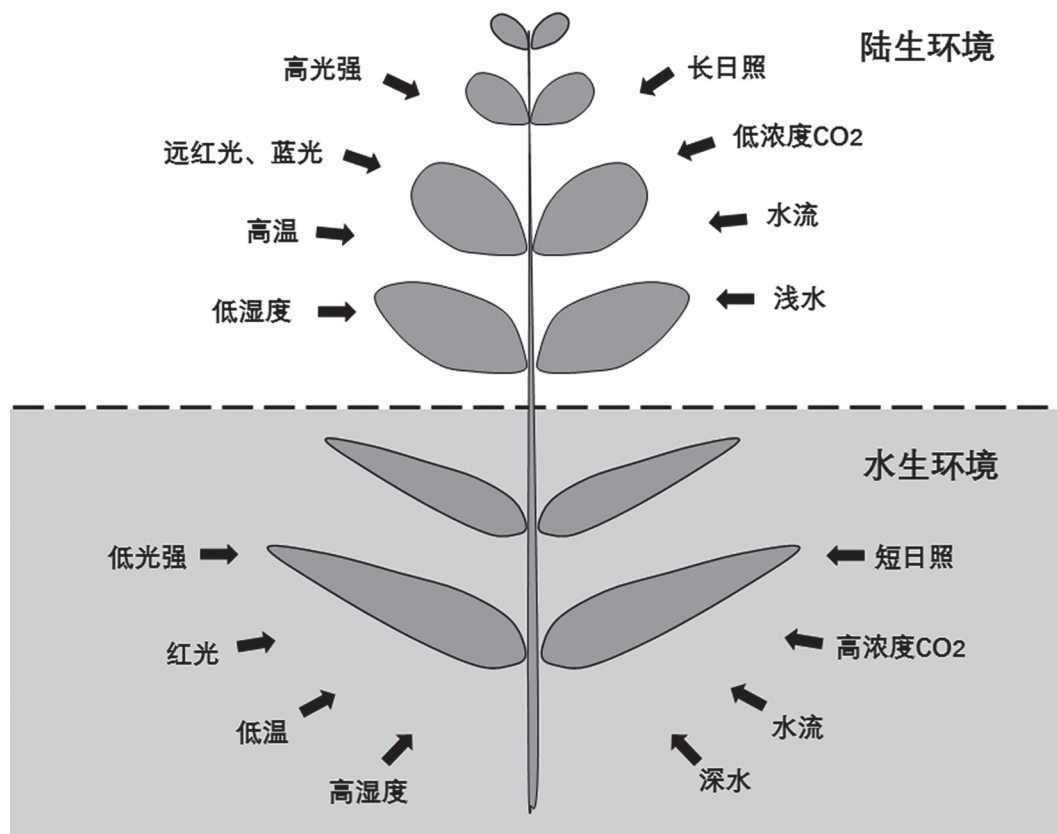


图1 异形叶植物的环境调控

Fig.1 Environmental regulation in heterophyllous plants

光强、红光、低温、高湿度、短日照、高浓度 CO_2 和深水等促进沉水叶的形成。此外,水流同时促进漂浮叶和沉水叶的形成。陆生叶叶缘完整、叶形简单;沉水叶细长或叶缘深裂,二者渐次变化。

1.1 光照

光照对异形叶植物的调控主要包括光强(light intensity)、光质(light quality)和光周期(light photoperiod)等方面。McCallum (1902)首先对红雨伞草(*Proserpinaca palustris*)进行了不同的光照处理,发现光强对叶形无显著影响,其叶形特征主要取决于水陆环境。随后,McCully和Dale (1961)研究了杉叶藻属(*Hippuris*)植物叶形与光强的关系,发现高光强($194 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)能显著诱导该属植物长出宽圆形的陆生叶;若将光强降低一半,则诱导其产生细长的沉水叶。光强还显著调节慈菇(*Sagittaria*

sagittifolia)和水生蔊菜(*Rorippa aquatica*)等的叶形,高光强($90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)诱导水生蔊菜陆生植株产生叶形复杂的深裂叶,而低光强($15 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)使其产生叶缘较完整的简单叶(Nakayama等2014; Li等2019)。此外,高光强能够提高叶片的气孔密度,并通过促进栅栏组织的发育来增加叶片厚度(Fritz等2018)。

光周期调控植物的许多发育过程。虽然光强不影响红雨伞草的叶形,但光周期却显著调节其形态变化:短日照诱导其产生类似水生叶的羽状深裂叶,而长日照则使其产生叶形简单、叶缘浅锯齿的陆生叶(Wallenstein和Albert 1963)。水毛茛(*Ranunculus aquatilis*)的表型也受光周期的调控,短日照(光照10 h及以下)时陆生叶和水生叶均为羽状深裂;而长日照(光照16 h及以上)时,水毛茛具有不同的表型调控策略:陆生叶的叶裂变浅、形成

扇状简单叶, 水生叶则同时发育出深裂叶和完整叶两种叶形(Cook 1969)。

光质也是影响异形叶植物表型的重要因素。持续的远红光处理能促进田字草(*Marsilea vestita*)在水生条件下产生陆生叶(Gaudet 1963), 而蓝光也能诱导沉水状态的苹(*Marsilea quadrifolia*)产生陆生叶(Lin和Yang 1999)。改变光质组成同样可以起到调控杉叶藻(*Hippuris vulgaris*)叶形的目的: 较低的红光/远红光比例低诱导其产生陆生叶, 而当比值较高时则会抑制陆生叶形成, 并使其产生气孔减少、角质层退化等水生特征(Bodkin和Spence 1980)。Etnier等(2011)研究了光强和光质对睡莲(*Nymphaea odorata*)的影响: 通过改变光强和光质(红光/远红光比例)发现, 光强不影响其沉水叶形的变化, 而增加植物密度能够降低水体的红光/远红光比例, 进而诱导其沉水植株产生气生叶表型。

1.2 温度

在过去的几十年内, 研究人员对温度是否调控异形叶的发育过程进行了大量研究。研究表明, 温度改变(6~20°C)不能引起水毛茛叶形的明显变化(Cook 1969)。然而, 大多数异形叶植物的叶形受温度的显著调节: 低温能够诱导黄花水毛茛(*Ranunculus flabellaris*)、毛柄水毛茛(*Ranunculus trichophyllus*)、中型水马齿(*Callitriche intermedia*)、异叶水马齿(*Callitriche heterophylla*)和杉叶藻等多种异形叶植物产生线状、深裂等沉水叶, 而高温则促进它们产生卵状、掌状等陆生叶形(Jones 1955; Johnson 1967; Bodkin和Spence 1980; Deschamp和Cook 1984; Kim等2018)。Sato等(2008)研究了温度对小红莓(*Ludwigia arcuata*)表型的调控, 发现低温能诱导其表皮细胞的伸长, 进而产生类似水生叶的丝状叶形。Nakayama等人则通过实验证明, 异形叶植物水生蕹菜的叶片起温度感受器的作用, 改变单一叶片的温度会影响整株植物的表型变化, 而这一变化可能是通过调节叶片内的细胞大小来实现(Amano等2015; Nakayama和Kimura 2015)。此外, 高温也能够提高叶片的气孔密度, 并使叶片厚度降低和叶裂增多以增加散热(Fritz等2018)。

1.3 湿度

湿度变化显著影响异形叶植物的叶形。研究表明, 较高的湿度可促进红雨伞草、水毛茛和异叶水蓼衣(*Hygrophila difformis*)等多种异形叶植物的陆生植株产生深裂的水生叶(McCallum 1902; Cook 1969; Li等2017)。Nicotra等(2011)指出, 高湿度环境下气体扩散速度减慢, 深裂叶除有助于提高气体交换效率外, 还能起到增加散热的功能。气孔密度也与湿度密切相关, 高湿度环境下生长的植物往往产生气孔形变、气孔密度增加等表型变异(Fanourakis等2016)。

1.4 空气成分

空气中的CO₂浓度显著调节异形叶植物的气孔、叶形等表型变化: 随着空气中CO₂浓度的升高, 田字草的陆生植株逐渐产生节间伸长、叶柄缩短和气孔减少等水生特征(Bristow和Looi 1968); 同样, 高浓度CO₂ (5%)能够促进黄花水毛茛和巴西狐尾藻(*Myriophyllum brasiliense*)产生沉水叶, 而低浓度CO₂ (0.03%)则能有效刺激斑叶萍蓬草(*Nuphar variegata*)漂浮叶的发育(Bristow 1969; Titus和Sullivan 2001)。此外, 有报道指出, O₂含量也能够调节异形叶植物毛柄水毛茛的叶形, 低氧状态会促进其沉水叶的发育(Kim等2018)。

1.5 水文条件

水文条件是一个较为复杂的调控因子, 包括水质、水深、流速以及底质类型等都有可能调控水生植物的叶形发育。Jones (1955)发现中型水马齿的叶形受水质调控, 浸没在浓度为30%的海水溶液中生长的植株会长出卵状叶, 其叶形和表皮细胞形态都接近于漂浮叶。然而海水诱导出的卵状叶的叶脉式样却接近于沉水叶, 仅具有简单的一级叶脉, 这表明叶片形态和叶脉形成可能是2个独立调控的过程。McCully和Dale (1961)对杉叶藻的研究结果与之相似, 30%的人工海水也能够诱导杉叶藻长出陆生叶形; 同时, 较浅的水深也会促进其陆生叶的形成。研究表明, 浅水以及较丰富的沉积物都会刺激斑叶萍蓬草漂浮叶的发育(Titus和Sullivan 2001), 而不同的水深也能引起钝脊眼子菜

(*Potamogeton octandrus*)的叶形变化(He等2018)。以上现象符合经典的水生植物分布规律,即具有漂浮叶的水生植物在浅水中占优势,而沉水植物则在深水中占优势。此外,水体流速也参与叶形调控过程:水流湍急时高山眼子菜(*Potamogeton alpinus*)能够发育出漂浮叶以稳定水上花序,同时形成更长的沉水叶以减少水流冲击;静水中的同一物种则缺少这些特征,这也说明异形叶是植物为适应环境而产生的表型可塑性策略(Robionek等2015)。

2 异形叶的激素调控

植物激素是协调植物生长和适应外界环境的化学信使,在其生长发育过程中起着重要的调控作用。从20世纪70年代开始,陆续有一些报道植物激素与异形叶性状的联系,脱落酸、乙烯和赤霉素等植物激素被证明与异形叶调控密切相关,在这一过程中起着举足轻重的调节作用(Nakayama等2017)。

2.1 脱落酸(abscisic acid, ABA)

脱落酸是一种倍半萜植物激素,在种子休眠/萌发、叶片衰老和气孔发育等植物生长发育过程中具重要作用,并参与调控了植物的环境胁迫响应。研究表明,ABA在进化上功能高度保守,是诱导水生植物产生陆生叶的开关(Takezawa等2011; Iida等2016)。在沉水条件下,ABA能诱导苹、杉叶藻、小红莓、红雨伞草、竹叶眼子菜(*Potamogeton wrightii*)和粉绿狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)等多种水生植物产生陆生叶;去除ABA则会恢复其沉水叶表型(Kane和Albert 1989; Hsu等2001; Kuwabara等2003; Iida等2016)。ABA处理能够使这些植物产生叶片缩短、叶宽增加、表皮角质化和气孔发育等陆生表型,表明ABA主要参与异形叶植物陆生形态特征的建立和维持(Wanke 2011)。

2.2 乙烯(ethylene)

乙烯是一种被人们熟知且已被广泛应用的小分子气体植物激素,广泛参与调控植物的根毛形成、顶端弯钩发育、促进果实成熟与叶片衰老等多个生物学过程。此外,乙烯还调节植物对水淹、干旱、高盐等多种环境胁迫的抗性反应。在小红

莓中,乙烯被认为是调控其叶形的关键因子,施加外源乙烯能有效促进其沉水叶的形成(Kuwabara等2003)。研究表明,这一现象可能是由于乙烯能够有效调节其细胞分裂方向的和频率,促使其表皮细胞伸长以形成细长的沉水叶形(Kuwabara和Nagata 2006)。此外, Kuwabara等(2003)指出沉水状态下植物体内的乙烯不溶于水,不易从植物体表面蒸发,因而内源乙烯的含量会急剧升高,进而抑制ABA的合成,陆生叶发育受阻并最终产生沉水叶。与此对应,当杉叶藻的沉水叶伸出水面时,乙烯释放到空气中,植物体内的乙烯含量降低,内源ABA由于乙烯的拮抗减弱而升高,由此诱导产生陆生叶表型(Goliber和Feldman 1989)。

2.3 赤霉素(gibberellin, GA)

赤霉素是一类二萜化合物,起调控植物生长、种子萌发和果实发育等功能,在作物改良的“绿色革命”中发挥着巨大作用。自20世纪30年代科研工作者首次从藤仓赤霉(*Gibberella fujikuroi*)中发现赤霉素至今,已有130多种赤霉素从细菌、真菌和植物中分离和鉴定出来(Yamaguchi 2008)。McComb (1965)研究水马齿(*Callitriche stagnalis*)时发现,赤霉素能够促进水马齿形成沉水叶; Deschamp和Cooke (1984)对异叶水马齿的研究同样证明了赤霉素促进沉水叶发育这一特点。实验表明,赤霉素的含量受光周期的调节,短日照下红雨伞草中的赤霉素含量增加,进而诱导沉水叶形成(Kane和Albert 1987)。水生和陆生环境下叶原基中赤霉素的含量差异也决定了水生蔊菜等植物的叶形变化,然而,赤霉素促进该物种的陆生叶形成,这与大多数异形叶植物对赤霉素的相应具有显著区别(Nakayama等2014)。此外,赤霉素能够有效促进水淹胁迫下深水稻(*Oryza sativa*)的节间伸长,乙烯能够刺激赤霉素合成,二者协同调节深水稻对沉水环境的适应(Hoffmann-Benning和Kende 1992; Kuroha等2018)。

2.4 其他激素

生长素(auxin)作为最早发现的植物激素之一,其合成代谢、极性运输和信号传导等过程已得到

较为详细的研究, 被证明参与植物生长发育的许多过程。研究表明, 生长素的含量和分布调节拟南芥、碎米荠(*Cardamine hirsuta*)和番茄(*Solanum lycopersicum*)等多种陆生植物的叶形变化, 生长素浓度最大点的离散分布决定了单叶植物的叶缘锯齿和复叶植物小叶的发育(Barkoulas等2008; Bengera等2012)。尽管有证据表明生长素合成和信号传导受环境因子如温度、蓝光等调控(Kao和Lin 2010; Franklin等2011; Kim等2020), 但生长素是否调控水生植物异形叶的发育目前仍缺少直接证据。

Nakayama等(2014)研究水生蕹菜的叶形调控时发现, 内源细胞分裂素(cytokinin, CK)的含量与温度和叶形复杂程度相关: 低温下的复杂叶中CK含量高, 高温下的简单叶中CK含量低, GA与CK拮抗调节水生蕹菜的叶形。Li等(2020)在异叶水蓼的研究中也证明了温度对CK含量的调控, 但CK促进其简单叶的形成, 因而水生蕹菜可能具有不同的调控机制。此外, 植物激素如茉莉酸(jasmonate, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、油菜素内脂(brassinosteroids, BRs)、独脚金内酯(strigolactones, SLs)及多肽类激素调控植物的叶脉、气孔发育及环境适应等诸多过程, 但是否参与异形叶调控目前仍不清楚。

3 异形叶的调控机制

异形叶的早期研究多中于描述环境和植物激素对不同水生植物叶形的影响, 主要从形态和生理方面进行研究。随着分子生物学的发展, 人们开始从分子水平揭示异形叶的调控机制, 并提出了许多模型和理论以解释这一现象。

3.1 渗透压-细胞膨压假说

Deschamp和Cook (1984)在研究异叶水马齿异形叶发育机制时提出, 不同环境下渗透压和细胞膨压的改变引起了植物表型的变异: 在漂浮叶中渗透压与水压近于平衡, 细胞膨压低, 细胞较圆, 整个叶片呈阔圆形; 水下的高细胞膨压使细胞延伸, 因而异叶水马齿的沉水叶片变细长。植物激素对叶形的调控也是基于这种变化: 赤霉素可使

陆生植株长出水生叶; 而脱落酸、高温处理或在水中加入甘露醇, 均能使其沉水植株长出漂浮叶。赤霉素、ABA、高温及甘露醇处理的共同点在于改变了叶芽周围的渗透压平衡, 从而影响叶片发育。赤霉素能提高细胞膨压、促进水分的吸收, 使叶片细胞延长, 进而长出狭长的沉水叶; 而甘露醇等促使叶片的渗透压与水压近于平衡, 进而产生漂浮叶(Deschamp和Cooke 1983, 1984)。McCully和Dale (1961)也提出, 低温的水生环境在生理上可能与海水一样能产生高渗效果, 导致沉水植株的水可利用性下降。这种渗透压的升高使杉叶藻叶片缩短, 叶脉和表皮细胞形态等也接近陆生叶表型。

3.2 KNOX-GA途径

在高等植物中, *KNOX1* (*Class I KNOTTED-like homeobox*)基因具有高度保守的调控叶原基中的GA水平以维持植物茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)稳定的功能, 并在植物叶片发育过程中起着关键作用(Kierzkowski等2019)。水生蕹菜是一种水陆两栖的水生植物, 具有典型的异形叶性状。研究表明, 在水生蕹菜中*KNOX1*基因同样调节GA的含量变化。在低温、高光强或沉水条件下*KNOX1*的表达升高, 进而抑制赤霉素合成关键酶*GA20ox1* (*GIBBERELLIN 20-OXIDASE1*)和*GA3ox1*基因的表达以降低叶原基中的GA含量。GA诱导水生蕹菜简单叶的形成, GA水平下降则使叶复杂程度增加; 因而, 环境调控的水生蕹菜异形叶可能依赖于*KNOX-GA*途径(Nakayama等2014)。此外, *KNOX1*基因调控内源CK的含量, 但由于施加外源CK不能显著调节水生蕹菜的叶形, CK是否调节其异形叶发育过程目前仍不清楚。

3.3 ABA/乙烯途径

植物激素乙烯和ABA能够通过分别上调近/远轴面分化基因来调节异形叶植物的叶形变化。研究表明, 毛茛水毛茛的水生叶中存在高水平乙烯, 而陆生叶中ABA水平较高。水生环境下较高含量的乙烯能够通过*ETHYLENE INSENSITIVE3* (*EIN3*)促进远轴面基因*KANADI* (*KAN*)的表达, 进而抑制

气孔发育基因*STOMAGEN (STO)*和维管束发育基因*VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7 (VDN7)*的表达,导致气孔和维管束减少,叶片远轴化,产生丝状沉水叶。与之对应,陆生叶片的ABA含量较高,通过*ABSCISIC ACID INSENSITIVE3 (ABI3)*促进近轴面基因ClassIII *Homeodomain-leucine Zipper (HD-ZIPIII)*以及*STO*和*VDN7*的表达,气孔数目和维管束增加,叶片近轴化,形成扁平的陆生叶表型(Kim等2018)。

3.4 其他途径

武汉大学郭友好课题组对异形叶植物钝脊眼子菜在不同水深和不同发育时期的漂浮叶和沉水叶进行了转录组测序分析,筛选到许多乙烯、GA和ABA等激素信号传导以及调控维管束发育、气孔形态、叶极性和表皮细胞分化等的基因家族(He等2018)。此外,北京林业大学的王华芳课题组分析了异形叶植物胡杨(*Populus euphratica*)的转录组,筛选到一些参与环境胁迫的基因,并在烟草等模式植物中进行了功能验证(Iqbal等2017)。塔

里木大学的李志军课题组也对胡杨的异形叶形态解剖特征、内源激素以及差异基因表达谱等进行了系统分析,为异形叶调控的分子机制研究提供了必要的数据库(Zhang等2019)。

4 异形叶与植物进化

异形叶现象广泛存在于各种植物中(表1),这一现象可能经过了多次进化演变(Pfennig等2010; Wanke 2011)。根据被子植物种系发生学组(angiosperm phylogeny group, APG) 2016年提出的被子植物新分类系统IV,从维管植物中的蕨类,到被子植物基部类群中的睡莲目、单子叶植物中的毛茛目,以及双子叶植物中的桃金娘目、十字花目和唇形目等均报道有异形叶植物。异形叶植物的沉水叶片进化出更加柔软灵活的形态,并伴随细胞形状的变化和木质部等组织结构的退化:叶片变薄、角质层退化利于沉水植株进行物质交换和营养吸收,叶脉减少能够有效抵御水流冲击(Rascio等1999)。异形叶植物从陆生叶到沉水叶的形态结

表1 代表性异形叶植物及其异形叶响应因子
Table 1 Representative heterophyllous plants and factors that can induce heterophylly

科	属	种	响应因子	参考文献
苹科	苹属	苹	ABA、光照、CO ₂	Lin和Yang 1999
苹科	苹属	田字草	光照、CO ₂	Bristow和Looi 1968
睡莲科	萍蓬草属	斑叶萍蓬草	水深、沉积物、CO ₂	Titus和Sullivan 2001
泽泻科	慈姑属	慈姑	光照	Li等2019
眼子菜科	眼子菜属	竹叶眼子菜	ABA	Iida等2016
眼子菜科	眼子菜属	高山眼子菜	水流	Robionek等2015
眼子菜科	眼子菜属	钝脊眼子菜	ABA、GA、水深	He等2018
毛茛科	水毛茛属	水毛茛	光照	Cook 1969
毛茛科	水毛茛属	黄花水毛茛	ABA、温度、CO ₂	Bristow 1969
毛茛科	水毛茛属	毛柄水毛茛	ABA、乙烯、温度、O ₂	Kim等2018
杉叶藻科	杉叶藻属	杉叶藻	ABA、温度、光照、渗透压	McCully和Dale 1961
柳叶菜科	丁香蓼属	小红莓	ABA、乙烯、温度	Sato等2008
小二仙草科	雨傘草属	红雨傘草	ABA、GA、光照、湿度、渗透压	Kane和Albert 1987
小二仙草科	狐尾藻属	巴西狐尾藻	CO ₂	Bristow 1969
十字花科	蔊菜属	水生蔊菜	GA、温度、光照	Nakayama等2014
车前科	水马齿属	水马齿	GA	McComb 1965
车前科	水马齿属	中型水马齿	渗透压、温度	Jones 1955
车前科	水马齿属	异叶水马齿	ABA、GA、温度、渗透压	Deschamp和Cook 1984
爵床科	水蓑衣属	异叶水蓑衣	ABA、乙烯、GA、温度、湿度	Li等2017

构变化,反映出叶在生长发育过程中表型、结构与生态条件相适应的规律,也一定程度上重现了水生植物从陆地返回水体这一事件的进化历程。这种进化产生的生态多样性有助于将植物的栖息地从陆地扩展到淡水甚至海洋环境(Wanke 2011; Iida等2016)。

研究表明,叶形变化与植物进化密切相关。德国马克斯-普朗克植物育种研究所的Miltos Tsiantis团队(2014)发现近缘物种拟南芥与碎米荠(*Cardamine hirsuta*)的叶形存在单叶和复叶差异,通过遗传筛选,研究人员在碎米荠中鉴定到一个影响单叶与复叶形态发育差异的关键基因*RCO* (*REDUCED COMPLEXITY*)。该基因是在十字花科植物中通过基因复制进化而产生的,拟南芥因该基因的丢失而产生单叶叶形。该基因的鉴定揭示了植物进化过程中基因的复制和丢失对叶形多样性的调节(Vlad等2014)。此外,丝叶狸藻(*Utricularia gibba*)中背腹轴基因(如*PHV/PHB*、*FIL*和*KAN*)的表达模式决定了丝状叶和捕虫囊两种叶形的转换,改变其表达模式能引起其叶片结构和功能的变化。Whitewoods等(2019)据此指出,食肉植物的复杂叶形是可能是由简单叶形的物种演化而来,叶芽中基因表达模式的变化决定了不同物种的叶形差异。Nakayama等(2018)研究了来自不同地理分布的2个水生蔊菜亚种,通过生理学实验和转录组数据的自组织映射分析,发现异形叶性与地理适应密切相关,不具有异形叶性的植物更适应气候稳定的地理环境。

此外,植物的叶形变化还具有其独特功能。如香茶菜属植物的叶形变异能对食草昆虫产生物理威慑,进而影响其取食选择性(Higuchi和Kawakita 2019);生菜(*Lactuca sativa*)叶缘形状的差异决定其高温抗逆性,与品种选育密切相关(Seki等2020)。

5 异叶水蓼衣是研究水生植物异形叶的理想模型

目前环境因子调控异形叶的研究已从最初的生态表型描述,逐步深入到激素生理和分子水

平。但先前的相关研究由于植物材料的限制和转化体系不成熟,无法采用反向遗传学方法准确验证基因的功能,制约了该领域的研究。为此,中国科学院水生生物研究所侯宏伟课题组在筛选和分析多种水生植物基础上,提出了一种适于异形叶研究的植物模型——异叶水蓼衣,该植物大小适中,叶形对环境因子敏感,水陆生境、湿度、温度、光照和CO₂等环境因子能显著影响其叶形,对植物激素的响应也具有广泛代表性,易进行组织培养和遗传转化,是异形叶研究的理想材料(Li等2017)。该团队近日进一步优化了异叶水蓼衣的遗传转化体系,将其稳定遗传转化效率提高到14%以上,为异形叶分子机制研究提供了极大便利(Li等2020)。此外,研究表明异叶水蓼衣在水陆环境下的光合作用具有显著差异,也可作为研究植物光合适应性的理想材料(Horiguchi等2019)。

6 研究展望

异形叶调控机制是一个涉及到多基因、多信号途径的复杂调控过程。在环境调控的异叶水蓼衣及水生蔊菜叶形变化中,*KNOX*转录因子及叶缘发育相关基因*CUC3* (*CUP-SHAPED COTYLEDON3*)可能发挥着重要的调控作用(Nakayama等2014; Li等2017);而在茅属植物中,*RCO*基因不仅是调节该属物种进化的核心基因,还参与了温度对叶形的调控(Sicard等2014)。*PIFs* (*PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS*)转录因子主要通过调节激素途径来调控环境介导的植物发育:*PIF4/5*能够结合在下游基因启动子上,通过上调生长素的信号传导和生物合成来参与光照和温度介导的叶形发育(Franklin等2011; Hornitschek等2012)。*PIF4*还能通过抑制气孔分化基因*SPCH* (*SPEECHLESS*)的表达来调节高温介导的气孔发育过程(Lau等2018)。研究表明,MicroRNA319 (miRNA319)等miRNA受低温、干旱等环境因子和植物激素的调节,在水稻等植物的环境适应过程中发挥着重要作用,但在异形叶调控中的功能目前仍不清楚(Yang等2013; Curaba等2014; Liu等2019)。

近年来,植物叶形发育的调控机制已取得了较大进展。经典的叶发育模式主要包括叶原基的起始、叶极性的建立和叶片发育等过程。简言之,*KNOX1*在SAM中高表达以维持其未分化状态,叶原基起始点的生长素积累抑制了*KNOX1*表达,进而促进叶原基起始(Blein等2010)。*HD-ZIPIII*在叶原基近轴面表达而*KAN*在叶原基远轴面表达,二者共同促进了近-远轴的发育(Moon和Hake 2011);*BOP1* (*BLADE ON PETIOLE1*)和*BOP2*等基因在叶原基的基部表达以促进基-顶轴发育,*AN* (*ANGUSTIFOLIA*)等基因则促进中-边轴的建立(Bai等2010; Du等2018)。*GRF* (*GROWTH-REGULATING FACTOR*)和*TCP* (*TEOSINTE BRANCHED1/CYCLOIDEA/PROLIFERATING CELL FACTOR*)转录因子调节叶片细胞增殖和分化,进而促进叶片伸展(Rodriguez等2010; Schommer等2014);*CUC*基因的表达和分布决定了叶缘裂刻的形成和叶形多样性(Blein等2008)。值得一提的是,*KNOX1*、*HD-ZIPIII*和*KAN*、*CUC*等叶形发育调控基因在异形叶发生过程中也发挥着重要作用,表明这些基因可能具有保守的叶形调控功能。然而,为什么这些基因能够调控某些物种的异形叶发育而在其他具有同源基因的物种不能发育出异形叶?是否表观遗传调控对调控异形叶发育起决定性作用?这些问题仍需进一步实验进行探索。

目前来说,异形叶研究仅发现了一些叶形调控相关的转录因子和激素代谢基因,参与这一过程的信号传导、基因表达和转录修饰等研究仍极度匮乏。相关学者虽然对异形叶现象进行了大量的研究和探讨,并分别从各自的研究领域出发提出了各种理论,但由于研究人员使用的材料不同和侧重点差异,造成研究体系缺乏系统性和整体性,异形叶机制研究仍存在较大空白。未来的异形叶研究应选择代表性模式植物,在基因功能验证的基础上结合高通量测序技术,综合基因组、转录组、代谢组和降解组等研究,深入阐明异形叶调控的分子机制,从而为植物保护和农业生产等领域提供指导。

参考文献(References)

- Amano R, Nakayama H, Morohoshi Y, et al (2015). A decrease in ambient temperature induces post-mitotic enlargement of palisade cells in North American Lake Cress. *PLOS One*, 10: e0141247
- Bai Y, Falk S, Schnittger A, et al (2009). Tissue layer specific regulation of leaf length and width in *Arabidopsis* as revealed by the cell autonomous action of *ANGUSTIFOLIA*. *Plant J*, 61: 191–199
- Barkoulas M, Hay A, Kougioumoutzi E, et al (2008). A developmental framework for dissected leaf formation in the *Arabidopsis* relative *Cardamine hirsuta*. *Nat Genet*, 40: 1136–1141
- Bengera H, Shwartz I, Shao M, et al (2012). *ENTIRE* and *GOBLET* promote leaflet development in tomato by modulating auxin response. *Plant J*, 70: 903–915
- Blein T, Hasson A, Laufs P, et al (2010). Leaf development: what it needs to be complex. *Curr Opin Plant Biol*, 13: 75–82
- Blein T, Pulido A, Vialetteguiraud AC, et al (2008). A conserved molecular framework for compound leaf development. *Science*, 322: 1835–1839
- Bodkin BC, Spence D (1980). Photoreversible control of heterophylly in *Hippuris vulgaris* L. *New Phytol*, 84: 533–542
- Bristow JM (1969). The effects of carbon dioxide on the growth and development of amphibious plants. *Can J Bot*, 47: 1803–1807
- Bristow JM, Looi A (1968). Effects of carbon dioxide on the growth and morphogenesis of *Marsilea*. *Am J Bot*, 55: 884–889
- Cook CD (1969). On the determination of leaf form in *Ranunculus aquatilis*. *New Phytol*, 68: 469–480
- Curaba J, Singh M, Bhalla PL, et al (2014). miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *J Exp Bot*, 65: 1425–1438
- Dengler NG (1999). Anisophylly and dorsiventral shoot symmetry. *Int J Plant Sci*, 160: 67–80
- Deschamp PA, Cooke TJ (1983). Leaf dimorphism in aquatic angiosperms: significance of turgor pressure and cell expansion. *Science*, 219: 505–507

- Deschamp PA, Cooke TJ (1984). Causal mechanisms of leaf dimorphism in the aquatic angiosperm *Callitriche heterophylla*. *Am J Bot*, 71: 319–329
- Du F, Guan C, Jiao Y, et al (2018). Molecular mechanisms of leaf morphogenesis. *Mol Plant*, 11: 1117–1134
- Etnier SA, Villani PJ, Ryan TJ (2017). Influence of light quality and quantity on heterophylly in the aquatic plant *Nymphaea odorata* subsp. *tuberosa* (Nymphaeaceae). *Northeast Nat*, 24: 152–164
- Fanourakis D, Bouranis D, Giday H, et al (2016). Improving stomatal functioning at elevated growth air humidity: a review. *J Plant Physiol*, 207: 51–60
- Franklin KA, Lee SH, Patel D, et al (2011). *Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4)* regulates auxin biosynthesis at high temperature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 20231–20235
- Fritz MA, Rosa S, Sicard A (2018). Mechanisms underlying the environmentally induced plasticity of leaf morphology. *Front Genet*, 9: 478
- Gaudet JJ (1965). The effect of various environmental factors on the leaf form of the aquatic fern *Marsilea vestita*. *Physiol Plant*, 18: 674–686
- Goliber TE, Feldman LJ (1989). Osmotic stress, endogenous abscisic acid and the control of leaf morphology in *Hippuris vulgaris*. *Plant Cell Environ*, 12: 163–171
- He D, Guo P, Gugger PF, et al (2018). Investigating the molecular basis for heterophylly in the aquatic plant *Potamogeton octandrus* (Potamogetonaceae) with comparative transcriptomics. *PeerJ*, 6: e4448
- Higuchi Y, Kawakita A (2019). Leaf shape deters plant processing by an herbivorous weevil. *Nat Plants*, 5: 959–964
- Hoffmann-Benning S, Kende H (1992). On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice. *Plant Physiol*, 99: 1156–1161
- Horiguchi G, Nemoto K, Yokoyama T, et al (2019). Photosynthetic acclimation of terrestrial and submerged leaves in the amphibious plant *Hygrophila difformis*. *Aob Plants*, 11: plz009
- Hornitschek P, Kohnen MV, Lorrain S, et al (2012). Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *Plant J*, 71: 699–711
- Hsu T, Liu H, Wang J, et al (2001). Early genes responsive to abscisic acid during heterophyllous induction in *Marsilea quadrifolia*. *Plant Mol Biol*, 47: 703–715
- Iida S, Ikeda M, Amano M, et al (2016). Loss of heterophylly in aquatic plants: not ABA-mediated stress but exogenous ABA treatment induces stomatal leaves in *Potamogeton perfoliatus*. *J Plant Res*, 129: 853–862
- Iqbal A, Wang T, Wu G, et al (2017). Physiological and transcriptome analysis of heteromorphic leaves and hydrophilic roots in response to soil drying in desert *Populus euphratica*. *Sci Rep*, 7: 1–15
- Johnson MP (1967). Temperature dependent leaf morphogenesis in *Ranunculus flabellaris*. *Nature*, 214: 1354–1355
- Jones H (1955). Heterophylly in some species of *Callitriche*, with especial reference to *Callitriche intermedia*. *Ann Bot*, 19: 226–245
- Kane ME, Albert LS (1987). Integrative regulation of leaf morphogenesis by gibberellic and abscisic acids in the aquatic angiosperm *Proserpinaca palustris* L. *Aquat Bot*, 28: 89–96
- Kao WY, Lin BL (2010). Phototropic leaf movements and photosynthetic performance in an amphibious fern, *Marsilea quadrifolia*. *J Plant Res*, 123: 645–653
- Kierzkowski D, Runions A, Vuolo F, et al (2019). A growth-based framework for leaf shape development and diversity. *Cell*, 177: 1405–1418
- Kim J, Joo Y, Kyung J, et al (2018). A molecular basis behind heterophylly in an amphibious plant, *Ranunculus trichophyllus*. *PLOS Genet*, 14: e1007208
- Kim S, Hwang G, Kim S, et al (2020). The epidermis coordinates thermoresponsive growth through the phyB-PIF4-auxin pathway. *Nat Commun*, 11: 1053
- Kuroha T, Nagai K, Gamuyao R, et al (2018). Ethylene-gibberellin signaling underlies adaptation of rice to periodic flooding. *Science*, 361: 181–186
- Kuwabara A, Ikegami K, Nagata TK (2003). Effects of ethylene and abscisic acid upon heterophylly in *Ludwigia arcuata* (Onagraceae). *Planta*, 217: 880–887
- Kuwabara A, Nagata T (2006). Cellular basis of developmental plasticity observed in heterophyllous leaf formation of *Ludwigia arcuata* (Onagraceae). *Planta*, 224: 761–770
- Lau OS, Song Z, Zhou Z, et al (2018). Direct control of

- SPEECHLESS* by *PIF4* in the high-temperature response of stomatal development. *Curr Biol*, 28: 1273–1280
- Li G, Hu S, Hou H, et al (2019). Heterophylly: phenotypic plasticity of leaf shape in aquatic and amphibious plants. *Plants (Basel)*, 8: 420
- Li G, Hu S, Yang J, et al (2017). Water-Wisteria as an ideal plant to study heterophylly in higher aquatic plants. *Plant Cell Rep*, 36: 1225–1236
- Li G, Hu S, Yang J, et al (2020). Establishment of an *Agrobacterium* mediated transformation protocol for the detection of cytokinin in the heterophyllous plant *Hygrophila difformis* (Acanthaceae). *Plant Cell Rep*, 39: 737–750
- Lin B, Yang W (1999). Blue light and abscisic acid independently induce heterophyllous switch in *Marsilea quadrifolia*. *Plant Physiol*, 119: 429–434
- Liu Y, Li D, Yan J, et al (2019). *MiR319* mediated salt tolerance by ethylene. *Plant Biotechnol J*, 17: 2370–2383
- McCallum WB (1902). On the nature of the stimulus causing the change of form and structure in *Proserpinaca palustris*. *Bot Gaz*, 34: 93–108
- McComb AJ (1965). The control of elongation in callitriche shoots by environment and gibberellic acid. *Ann Bot*, 29: 445–458
- McCully ME, Dale HM (1961). Heterophylly in *Hippuris*, a problem in identification. *Botany*, 39: 1099–1116
- Moon J, Hake S (2011). How a leaf gets its shape. *Curr Opin Plant Biol*, 14: 24–30
- Nakayama H, Kimura S (2015). Leaves may function as temperature sensors in the heterophylly of *Rorippa aquatica* (Brassicaceae). *Plant Signal Behav*, 10: e1091909
- Nakayama H, Nakayama N, Nakamasu A, et al (2012). Toward elucidating the mechanisms that regulate heterophylly. *Plant Morphol*, 24: 57–63
- Nakayama H, Nakayama N, Seiki S, et al (2014). Regulation of the KNOX-GA gene module induces heterophyllic alteration in North American Lake Cress. *Plant Cell*, 26: 4733–4748
- Nakayama H, Sakamoto T, Okegawa Y, et al (2018). Comparative transcriptomics with self-organizing map reveals cryptic photosynthetic differences between two accessions of North American Lake Cress. *Sci Rep*, 8: 3302–3302
- Nakayama H, Sinha NR, Kimura S (2017). How do plants and phytohormones accomplish heterophylly, leaf phenotypic plasticity, in response to environmental cues. *Front Plant Sci*, 8: 1717
- Nicotra AB, Leigh A, Boyce KC, et al (2011). The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Funct Plant Biol*, 38: 535–552
- Pfennig DW, Wund MA, Snell-Rood EC, et al (2010). Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends Ecol Evol*, 25: 459–467
- Rascio N, Cuccato F, Vecchia FD, et al (1999). Structural and functional features of the leaves of *Ranunculus trichophyllus* Chaix., a freshwater submerged macrophyte. *Plant Cell Environ*, 22: 205–212
- Robionek A, Banaś K, Chmara R, et al (2015). The avoidance strategy of environmental constraints by an aquatic plant *Potamogeton alpinus* in running waters. *Ecol Evol*, 5: 3327–3337
- Rodriguez RE, Mecchia MA, Debernardi JM, et al (2010). Control of cell proliferation in *Arabidopsis thaliana* by microRNA *miR396*. *Development*, 137: 103–112
- Sack L, Scoffoni C (2013). Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytol*, 198: 983–1000
- Sato M, Tsutsumi M, Ohtsubo A, et al (2008). Temperature-dependent changes of cell shape during heterophyllous leaf formation in *Ludwigia arcuata* (Onagraceae). *Planta*, 228: 27–36
- Schommer C, Debernardi JM, Bresso EG, et al (2014). Repression of cell proliferation by *miR319*-regulated TCP4. *Mol Plant*, 7: 1533–1544
- Seki K, Komatsu K, Tanaka K, et al (2020). A CIN-like TCP transcription factor (*LsTCP4*) having retrotransposon insertion associates with a shift from salinas type to empire type in crisphead lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Hortic Res*, 7: 15
- Sicard A, Thamm A, Marona C, et al (2014). Repeated evolutionary changes of leaf morphology caused by mutations to a homeobox gene. *Curr Biol*, 24: 1880–1886
- Takezawa D, Komatsu K, Sakata Y (2011). ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone? *J Plant Res*, 124: 437–453

- Titus JE, Sullivan PG (2001). Heterophylly in the yellow waterlily, *Nuphar variegata* (Nymphaeaceae): effects of CO₂, natural sediment type, and water depth. *Am J Bot*, 88: 1469–1478
- Tsukaya H (2014). Comparative leaf development in angiosperms. *Curr Opin Plant Biol*, 103–109
- Vlad D, Kierzkowski D, Rast MI, et al (2014). Leaf shape evolution through duplication, regulatory diversification, and loss of a homeobox gene. *Science*, 343: 780–783
- Wallenstein A, Albert LS (1963). Plant morphology: Its control in *Proserpinaca* by photoperiod, temperature, and gibberellic acid. *Science*, 140: 998–1000
- Wanke D (2011). The ABA-mediated switch between submersed and emerged lifestyles in aquatic macrophytes. *J Plant Res*, 124: 467–475
- Whitewoods CD, Gonçalves B, Cheng J, et al (2019). Evolution of carnivorous traps from planar leaves through simple shifts in gene expression. *Science*, 367: 91–96
- Yamaguchi S (2008). Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 225–251
- Yang C, Li D, Mao D, et al (2013). Overexpression of *microRNA319* impacts leaf morphogenesis and leads to enhanced cold tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ*, 36: 2207–2218
- Zhang C, Luo W, Li Y, et al (2019). Transcriptomic analysis of seed germination under salt stress in two desert sister species (*Populus euphratica* and *P. pruinosa*). *Front Genet*, 10: 231
- Zotz G, Wilhelm K, Becker A (2011). Heteroblasty-a review. *Bot Rev*, 77: 109–151

Advances of heterophylly studies in plants

LI Gaojie^{1,2}, HU Shiqi^{1,2}, YANG Jingjing^{1,2}, HOU Hongwei^{1,2,*}

¹*Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China*

²*University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*

Abstract: Plants show amazing morphological differences in leaf form in response to changes in the surrounding environment, which is a phenomenon called heterophylly. Heterophylly provides an ideal process to understand mechanisms by which plants adapt their growth to withstand environmental changes. Heterophyllous plants can adapt to different environments through phenotypic, structural and physiological changes, which have unique research value. Studies show that heterophylly are correlated with environmental changes as well as phytohormones. Heterophylly has evolved multiple times independently during plant evolution and the mechanism of each seems to be different. This event may have undergone several independent evolutions, and its regulatory mechanisms are different. In this paper, we systematically reviewed previous studies on heterophylly and provided a reference for the mechanism of environmental adaptation in plants.

Key words: heterophylly; environmental adaption; morphogenesis; morphological plasticity; molecular mechanism

Received 2020-07-22 Accepted 2020-08-15

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31870384), China Postdoctoral Science Foundation Funded Project (2020M672444) and National Key Research and Development Program of China (2017YFE0128800 and 2018YFD0900801).

*Corresponding author (houhw@ihb.ac.cn).