



氧脂素信号调控气孔运动的研究进展

时免免¹, 赵艺², 常原恺^{3,*}, 江昆^{1,*}

¹浙江大学生命科学学院, 杭州310058

²陇东学院生命科学与技术学院, 甘肃庆阳745000

³河南大学生命科学学院, 河南开封475004

*共同通信作者: 江昆(jiangk@zju.edu.cn)、常原恺(cyuank@henu.edu.cn)。

摘要: 氧脂素是由多不饱和脂肪酸经酶促氧化衍生的脂肪酸次生代谢物, 作为广谱的信号分子参与调节植物的生长发育和逆境应答等多种重要生理过程。本文侧重梳理了茉莉酸和12-氧代植物二烯酸这两类重要氧脂素分子在植物体内的合成途径, 并对其在气孔运动中的信号转导模式进行了归纳。在此基础上, 本文进一步对陆生植物演化过程中氧脂素分子信号功能的起源和进化途径进行了探讨。

关键词: 氧脂素; 茉莉酸; 12-氧代植物二烯酸; 保卫细胞; 气孔运动

Advances in the understanding of stomatal regulation by oxylipin signals

SHI Mianmian¹, ZHAO Yi², CHANG Yuankai^{3,*}, JIANG Kun^{1,*}

¹College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

²College of Life Science and Technology, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China

³College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475004, China

*Co-corresponding authors: Jiang K (jiangk@zju.edu.cn), Chang YK (cyuank@henu.edu.cn)

Abstract: Oxylipins are a group of secondary metabolites derived from the oxidation of polyunsaturated fatty acids, functioning as versatile signaling molecules which regulate many aspects of plant growth and stress responses. This review emphasizes recent findings regarding the biosynthetic pathways of jasmonic acid and 12-oxophytodienoic acid, and provides an overview of the signal repertoire of these two representative oxylipins in stomatal regulation. Moreover, this paper gives a further discussion on the evolution of oxylipin function and signaling within the land plant lineage.

Key words: oxylipin; jasmonic acid; 12-oxo-phytodienoic acid; guard cell; stomatal movement

叶片表面的气孔由成对的保卫细胞首尾相接环绕而成, 其开闭过程直接调控植物与周围环境之间气态物质的交换, 因此成为对植物水分利用效率进行遗传改良的关键靶点。气孔的开闭运动受保卫细胞膨压变化调控, 多种外源刺激(如光照、干旱、病原激发子等)会触发保卫细胞内复杂的信号网络转导, 该过程会快速诱导细胞质膜与液泡膜上离子通道以及转运蛋白活性的变化, 经由这些

效应蛋白的离子跨膜流动引发保卫细胞渗透势的变化, 导致水分进入或者流出保卫细胞, 最终引起气孔开度的变化(陆雯芸等2016; 吴李红等2020)。

保卫细胞内的脂质代谢过程以及脂质衍生物

收稿 2023-01-09 修定 2023-06-15

资助 国家自然科学基金(32260077)和浙江省自然科学基金(LY23C020001)。

广泛参与气孔对外源信号的应答。已有的研究表明,不同类型的脂肪酶(lipase)参与介导环境信号触发的胞内膜系统重塑,从膜脂中释放的游离脂肪酸会通过下游酶促反应进一步衍生成为具有重要信号功能的亲脂小分子。在其长链碳骨架中含有2个以上碳-碳双键的脂肪酸被称为多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA), PUFA的代谢产物氧脂素已被证实在植物的生长发育和逆境应答过程中发挥重要作用,该类分子在细胞内的信号转导途径及其调控机制已经得到比较深入的研究(Howe等2018)。

1 植物体内氧脂素合成途径及其调控机制

1.1 氧脂素合成途径的关键酶类

植物体内的氧脂素合成主要通过脂氧合酶途径进行,胞内的脂质分子首先在不同类型脂肪酶的催化作用下水解释放出PUFA,随后在脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)、氧化丙二烯合酶(allene oxide synthase, AOS)、氧化丙二烯环化酶(allene oxide cyclase, AOC)等一系列酶的作用下依次生成13-氢过氧十八碳三烯酸[13(S)-hydroperoxyoctadecatrienoic acid, 13(S)-HPOT]、12,13-环氧十八碳三烯酸[12, 13(S)-epoxyoctadecatrienoic acid, 12, 13(S)-EOT]以及12-氧代植物二烯酸(12-oxo-phytodienoic acid, OPDA)。OPDA是在叶绿体内进行的氧脂素生物合成部分途径的终端产物,随后其通过定位于叶绿体外膜上的JASSY蛋白以及过氧化物酶体膜上的ABC转运子CTS (comatose)连续转运进入过氧化物酶体中,并在12-氧代植物二烯酸还原酶(12-oxo-phytodienoic acid reductase, OPR)、OPC-8:0 CoA连接酶1 (OPC-8:0 CoA ligase1, OPCL1)以及酰基CoA氧化酶(acyl-CoA oxidase, ACX)、多功能蛋白(multifunctional protein, MFP)和L-3-酮酰基CoA硫解酶(L-3-ketoacyl-CoA thiolase, KAT)等多种脂肪酸 β -氧化酶的催化作用下,最终生成茉莉酸(jasmonic acid, JA; Griffiths 2020)。在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,过氧化物酶体中生成的JA可以被转运至胞质并通过化学修饰形成茉莉酸衍生物。其中茉莉酰异亮氨酸合成酶(jasmonoyl-isoleucine synthetase, JAR1)负责将JA与氨基酸偶联

产生茉莉酸异亮氨酸(JA-Ile) (图1),为JA的主要活性形式(Staswick和Tiryaki 2004);JA还可以通过茉莉酸甲基转移酶(jasmonate methyltransferase, JMT)进行甲基酯化产生茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)。

1.2 氧脂素合成酶与转运蛋白的调控机制

有研究表明,拟南芥LOX蛋白结构域中存在潜在的磷酸化调控位点,这些位点的磷酸化会通过影响脂氧合酶加氧活性进而调控胞内氧脂类代谢物的含量,以该模式介导植物的胁迫应答反应。拟南芥基因组含有一个单拷贝AOS基因,该基因的敲除会导致突变体内OPDA与JA的合成被抑制。与此不同的是,在拟南芥中氧化丙二烯环化酶与12-氧代植物二烯酸还原酶均为多基因家族编码。AOC基因家族含有4个成员,其中AOC1、AOC2、AOC3在所有被检测组织中均有表达,而AOC4被发现只在维管束和根中特异性表达。OPR基因家族包含OPR1、OPR2、OPR3 3个成员,其中OPR3在由OPDA向JA的代谢转变过程中起主要作用,而当OPR3功能缺失时,植物会启动由OPR2介导的替代途径:过氧化物酶体中的OPDA经过 β 氧化形成二氧-12-氧代植物二烯酸(dinor-12-oxo-phytodienoic acid, dn-OPDA),并释放进入胞质后被OPR2还原为JA (Chini等2018)。位于叶绿体外膜上的JASSY蛋白发挥类似通道蛋白的功能,当其与OPDA结合后可促进OPDA从叶绿体向过氧化物酶体的转运。

2 植物体内氧脂素信号转导途径

2.1 茉莉素信号转导途径

JA及其衍生物JA-Ile、MeJA等被统称为茉莉素(JAs),在植物体内广泛参与调控根系伸长、气孔运动、种子萌发、叶片衰老、逆境应答等多种重要生理过程。与此同时,茉莉素还会与其他植物激素发生交叉互作,共同调控胁迫应答反应中的基因表达(Griffiths 2020)。大量的研究表明,COI1 (coronatine insensitive 1)、MYC和JAZ (jasmonatezimid domain)三类蛋白是JA信号途径的核心元件,其中COI1是JA的受体,作为SCF (Skp/Cullin/F-box) E3泛素连接酶复合物的一部分介导JA信号。拟南芥、烟草(*Nicotiana tabacum*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)



Fig. 1 Biosynthetic pathways of plant oxylipins

和大豆(*Glycine max*)的SCF^{COI1}蛋白靶向结合JA信号转导的阻遏蛋白并将其降解,从而在转录水平上激活JA反应。bHLH (basic helix- loop-helix)转录因子MYC2是拟南芥JA信号通路中最具特征、功能最多样的转录因子。MYC2调控包括转录因子在内的大量JA响应基因的表达。JAZ蛋白属于植物特异性TIFY蛋白家族,作为转录抑制因子,抑制JA相关基因表达(Thireault等2015)。在正常情况下,内源性JA-Ile的含量较低,JAZ与MYC2直接互作,抑制JA响应基因的转录。在特定的刺激条件下JA-Ile可迅速升高,JA-Ile含量的升高被JA受体COI1感知后,形成SCF^{COI1}复合物。SCF^{COI1}泛素连接酶与JAZ蛋白相互作用,诱导JAZ被26S蛋白酶体降解,随后MYC2与转录激活子MED25 (mediator subunit 25)互作,激活JA信号。JAZ通过与多种转录因子的相互作用,特异性介导某些生理反应(An等2017)。总之,植物体通过COI1/JAZ/MYC等蛋白功能模块,增强了对内源或外源刺激信号的响应。

JA和其他激素存在相互作用, 其中MeJA在气孔关闭过程的调控与ABA类似, 都受保卫细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)和一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)的合成以及Ca²⁺影响, 这些信号通过调节阴离子通道和胞内K⁺从而诱导气孔关闭。乙烯(ethylene, ET)介导的细胞分裂过程中, MYCs-JAZs和乙烯信号元件ERF (ethylene response transcription factor)相互作用, 调控植物的生长发育。赤霉素(gibberellins, GA)和JA在植物发育中具有拮抗作用。JA和生长素(auxins, IAA)相互作用控制植物生理和发育过程, 如根的伸长、花器官发育和叶片衰老。JA和水杨酸(salicylic acid, SA)可以提高植物的抗寒性, 增强植物对干旱及盐胁迫的耐受性(Ghorbel等2021)。

2.2 OPDA信号转导途径

OPDA作为JA合成的前体,在植物种子萌发、损伤响应、衰老过程以及气孔运动调控中发挥着重要的作用,OPDA还可以独立于JA信号通路参与

植物的胁迫应答反应,其介导的植物生理响应过程会与植物激素ABA、SA和一氧化氮(NO)通路存在交互(Maynard等2018)。早期的研究主要集中于OPDA在局部防御中的作用。外源添加OPDA处理会增加种子内ABI5 (abscisic acid insensitive 5)蛋白的积累,进而以通过ABA信号途径抑制种子的萌发。Buseman等发现机械损伤是拟南芥中OPDA累积的最有效刺激。在番茄、玉米(*Zea mays*)和水稻(*Oryza sativa*)等作物中,OPDA信号在病虫害的基础防御应答反应中的作用至关重要。在JA合成缺失突变体*opr3*中,真菌的侵染可诱导JA相关防御基因的表达,这一过程依赖于COI1受体,后续的药理学实验也证明这种诱导效应与胞内OPDA的功能相关(Stintzi等2001)。OPDA还会以不依赖于COI1的模式激活下游特定基因的转录。Taki等(2005)鉴定了一类特异响应OPDA (不响应JAs)的基因,命名为ORGs (OPDA-specific response genes)。ORGs的表达独立于依赖COI1的JA信号通路。研究者在花期拟南芥的受伤叶片中检测到一种与异亮氨酸Ile缀合、并具有生物活性的OPDA化合物(OPDA-Ile),它独立于JA/JA-Ile发挥作用(Floková等2016)。除了参与局部防御外,OPDA还是诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)的远距离信号。玉米中OPDA和 α -醇酮十八烷二烯酸(α -ketol of octadecadienoic acid, KODA)与ISR的激活有关。外源加入OPDA和KODA导致玉米幼苗以剂量依赖的方式对炭疽菌(*Collectrichium graminicola*)产生系统抗性,表明12-OPDA和KODA是重要的ISR移动信号。需要注意的是,OPDA的含量在病原体攻击下几乎没有积累,意味着OPDA的ISR受体可能存在于木质部,或者OPDA在到达全身组织后迅速转化并激活JA/JA-Ile信号,以启动系统防御。OPDA可以在防御基因表达的局部诱导中替代JA/JA-Ile的功能,但JA/JA-Ile的产生是系统信号反应所必需的(Liu和Park 2021)。

植物体中有2种可以与OPDA相互作用的蛋白,分别是GSTU19 [τ (U) class glutathione transferase 19]和CYP20-3 (cyclophilin 20-3)。GSTU19正调控OPDA偶联物的形成,并在调节OPDA从叶绿体到过氧化物酶体转运过程中发挥着重要的作用

(Dixon和Edward 2009)。CYP20-3是一种关键的OPDA结合蛋白,被认为是控制OPDA与光依赖性氧化还原信号之间的关键调节器。OPDA通过CYP20-3响应热胁迫信号,从而迅速触发ROS信号以增强植物的耐热性。在拟南芥响应热胁迫反应时,OPDA (而不是JA/JA-Ile)会在叶片中积累,并以不依赖COI1方式显著诱导热胁迫蛋白(heat stress proteins, HSPs)的表达(Barbosa Dos Santos和Park 2019)。

OPDA介导的生理反应过程会与一些激素信号途径发生交互。例如,ABA和OPDA都参与病原菌的防御反应;OPDA响应干旱胁迫时与ABA协同调控气孔的关闭过程,影响植物体内代谢过程和氧化还原内稳态。此外,ABA可调控OPDA的浓度(Wang等2018)。OPDA和SA信号之间存在拮抗作用。SA通过影响植物OPDA合成相关的限速酶调控OPDA的生物合成途径。在大豆和豌豆(*Pisum sativum*)中,外源SA的添加同样会抑制LOX的活性,进而影响到AOS的活性(Leon-Reyes等2018)。NO会形成硝化的 α -亚麻酸(nitrated α -LeA, NO_2 -LeA)从而影响12-OPDA合成所需的前体物质 α -亚麻酸(α -linolenic acid, α -LeA)。NO₂-LeA具有信号转导的功能,胁迫条件下,NO₂-LeA和OPDA都可以诱导HSPs基因的表达。外源NO的处理会降低AOC基因的转录水平,增加LOX3、OPR1、OPR2和OPR3基因的转录水平。而外源OPDA处理会引起胞内NO的含量降低,这表明NO与OPDA之间存在着一定的拮抗作用(Maynard等2018)。

3 氧脂素在气孔运动调控中的作用

3.1 JA在气孔调控中的作用

3.1.1 JA介导气孔对非生物胁迫信号的响应

非生物胁迫会诱导气孔关闭。其中JA诱导的气孔关闭机制与ABA信号途径相似,也与保卫细胞质膜Ca²⁺通道活化、胞质碱化以及活性氧迸发有关(Munemasa等2011b)。早期的研究发现,MeJA通过诱导保卫细胞中ROS的产生引起气孔关闭。保卫细胞内MeJA信号的主要ROS来源是NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)氧化酶RBOHD (respiratory burst oxidase homolog protein

D)和RBOHF, RBOHD和RBOHDF的功能缺失会抑制MeJA诱导的气孔关闭和ROS生成(Suhita等2004)。马铃薯中NADPH氧化酶的活性受钙依赖蛋白激酶CDPK5 (calcium-dependent protein kinases 5)和CDPK6磷酸化的调控。然而,在拟南芥*cpk6*和*cpk3 cpk6*突变体中,ABA和MeJA诱导的保卫细胞内ROS的产生并没有减少(Kobayashi等2007)。甘蓝型油菜(*Brassica napus*)中JA信号参与高浓度CO₂诱导的气孔关闭过程,且位于CO₂信号下游。MeJA还通过诱导NO的产生而引起气孔关闭(Geng等2016)。植物细胞中NO是由硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)、NO合成酶(nitric oxide synthase, NOS)和非酶促系统产生的。在蚕豆保卫细胞中,JA诱导的NO合成和气孔关闭会被NOS抑制剂L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester)抑制,而对非NR抑制剂无反应,这表明NOS类酶是保卫细胞JA信号传导所必需的。拟南芥LOX2介导保卫细胞NO诱导的气孔关闭过程,这一过程是通过对保卫细胞内源钙离子的精细调控完成的。甜瓜(*Cucumis melo*)中CmLOX10通过促进JA积累和气孔关闭来增强植株抗旱性(Xing等2020)。Suhita等(2004)认为MeJA引起的保卫细胞胞质碱化是MeJA诱导保卫细胞内产生ROS和NO所必需的。因此保卫细胞中胞质pH的改变也被认为是MeJA诱导气孔关闭的重要因素。RCN1编码2A型蛋白磷酸酶(protein phosphatase 2As, PP2As)的调节A亚基,拟南芥*rcn1*突变体不能在MeJA诱导下产生ROS和NO。这一现象表明在保卫细胞MeJA信号通路中,RCN1位于ROS和NO信号的上游(Saito等2008)。细胞质中Ca²⁺的变化在气孔关闭过程中发挥着重要作用。与ABA类似,MeJA激活保卫细胞膜上的Ca²⁺通道,引起胞内Ca²⁺的升高。当质膜Ca²⁺通道被抑制或细胞外的Ca²⁺被螯合时,MeJA不能诱导气孔关闭,这表明质膜Ca²⁺内流引起的胞质Ca²⁺浓度升高是MeJA诱导的气孔关闭所必需的。拟南芥钙依赖性蛋白激酶CPK6是保卫细胞MeJA信号的正向调节因子,CPK6功能的缺失导致MeJA不能激活Ca²⁺通道及诱导保卫细胞胞质Ca²⁺的升高。CPK6也是MeJA激活S型阴离子通道所必需的。电生理实验指出,MeJA可激活质膜H⁺-ATP酶导致质膜去极化,

引起Ca²⁺的内流和H⁺的外流。MeJA同样可以引起质膜上的K⁺外排,促进气孔关闭(Munemasa等2011b)。

在保卫细胞中JA和其他激素的信号途径之间存在交叉互作。JA-ABA信号通路中,RCN1在ROS和NO上游发挥作用,而黑芥子酶(β -thioglucoside-glucosylhydrolase, TGG) TGG1和TGG2在ROS的下游发挥作用。CPK6作为MeJA和ABA信号的中央调节器负责激活Ca²⁺通道和S型阴离子通道(Munemasa等2011a)。2C型蛋白磷酸酶(protein phosphatase 2Cs, PP2Cs) ABI2 (abscisic acid insensitive 2)和蛋白激酶OST1 (open stomata 1)是ABA信号转导中的核心组分。MeJA和ABA通过影响OST1调控气孔关闭过程。MeJA不能引起*abi2-1*突变体气孔关闭,但能诱导*abi2-1*体内ROS和NO的产生(Murata等2001)。在干旱胁迫下,番茄中的MYC2通过抑制*SIPP2C1*和*SIRR26* (type-B response regulator 26)的转录参与JA信号诱导的气孔关闭。Nazareno和Hernandez (2017)利用新的数学模型建立了ABA、ET和MeJA在植物气孔关闭中的相互作用。其中MeJA促进ABA和ET诱导的气孔关闭,而3种激素共同作用时气孔关闭程度显著降低。

3.1.2 JA介导气孔对生物胁迫信号的响应

定位于保卫细胞表面的模式识别受体能够感应叶际细菌携带的病原相关模式分子,并触发下游信号途径关闭气孔。作为反制策略,病原菌通过分泌细菌毒素和特定的三型效应蛋白,能够有效抑制气孔关闭进而协助病原拮抗气孔免疫。冠毒素(coronatine, COR)是丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)分泌的一种毒性因子,可以通过COI1的方式对抗植物防御(Melotto等2006)。拟南芥和番茄的*coil*突变体对丁香假单胞菌番茄致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pst*) DC3000具有较高的抗性。COR通过MYC2激活3个NAC转录因子ANAC019、ANAC055和ANAC072,这些转录因子通过抑制SA的积累,介导气孔重新打开和增进细菌繁殖(Zhu等2015)。番茄NAC转录因子JA2L (jasmonic acid2-like)受JA和COR调控,JA2L通过调节SA代谢相关基因的表达促进JA/COR介导的气孔重新开放。JAZ2是保卫细胞中COR的主

要受体, JAZ2中的一个显性突变完全抑制了由COR引起的气孔重新开放, 增强了植物体对病原菌的抗性。番茄中*SIJAZ2*基因的功能缺失通过抑制COR介导的气孔重新打开增强了植物对*Pst* DC3000的抗性。COR通过COI1-JAZ-MYC-ANAC组成的信号级联反应调节气孔开度(Gimenez-Ibanez等2017)。丁香假单胞菌III型效应蛋白AvrB通过RIN4 (rpm1-interacting 4)正调控拟南芥质膜H⁺-ATP酶1 (H⁺-ATPase 1, AHA1)的功能引起气孔开放。AHA1促进COI1和JAZ蛋白之间的相互作用增强JA信号, 有利于病原菌的侵染(Zhou等2015)。COR还可以通过不依赖于COI1的方式对抗植物防御。丁香假单胞菌的效应子HopX1和HopZ1a以不依赖COI1的方式清除JAZ蛋白, 维持气孔开度以促进感染(Gimenez-Ibanez等2014)。在拟南芥中, LOX1独立于ABA信号通路介导保卫细胞中病原相关分子模式flg22触发的气孔免疫, 同时该信号功能位于MPK3 (mitogen-activated protein kinase 3)/MPK6 的下游(Montillet等2013)。MeJA会下调拟南芥*BIG*基因的表达, *BIG*基因功能缺失增强了JA信号, 抑制病原菌和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的气孔关闭(Zhang等2019)。机械损伤诱导的JA信号通过磷酸化Ca²⁺传感器激酶CBL1-CIPK5复合体激活钾离子外流通道GORK (gated outwardly-rectifying K⁺ channel), 从而引起气孔关闭, 这种形式的GORK激活被ABA信号元件ABI2抑制(Förster等2019)。

3.2 OPDA在气孔调控中的作用

3.2.1 OPDA介导气孔对干旱信号的响应

干旱胁迫会改变植物体内激素的含量及其相互作用, 最终引起气孔关闭从而限制水分流失。Savchenko等(2014)发现机械损伤和干旱胁迫对植物体内OPDA和JA的诱导程度不同, 但对ABA的诱导程度相似。机械损伤诱导产生JA及其前体OPDA, 而干旱胁迫仅诱导前体OPDA的产生。进一步对OPDA含量突变体进行研究, 研究者发现具有较高浓度OPDA的植物表现出更强的耐旱性和更小的气孔开度。在外源单独或共同施加ABA和OPDA均能促进*aba2-1*和*aos*突变体的气孔关闭, 但共同施加时气孔关闭最为明显。与此同时, 对番茄和油菜共同施加ABA和OPDA, 同样检测出更明显的气

孔关闭效应。有报道称在植物响应干旱胁迫时, LOX6在叶片和根中产生本底水平的OPDA, 这进一步支持了科学界关于OPDA在抗旱中发挥作用的观点。在番茄中OPDA可以作为蒸腾作用抑制剂, 参与植物应答土壤水分胁迫过程。外源施加ABA可以显著降低草莓(*Fragaria × ananassa*)的气孔导度, 其中OPDA抑制Flair草莓气孔对ABA的响应, 而Figaro草莓的气孔对OPDA不敏感(Merlaen等2020)。Simeoni等(2022)的研究指出, 干旱胁迫诱导ABA的累积抑制了转录因子MYB60 (MYB domain protein 60)的表达, 由于MYB60负调控*13-LOX*基因的转录, 增加了OPDA的累积, 最终ABA和OPDA协同介导气孔关闭过程。俯仰马唐(*Digitaria eriantha*)的气孔对干旱胁迫敏感, 不过通过接种丛枝菌(*Rhizophagus irregularis*)可以改变俯仰马唐的气孔导度, 增加地上部干物质的含量, 显著提高了OPDA水平(Pedranzani等2016)。总之, OPDA是干旱响应调节因子, 通过与ABA协同作用抵御干旱胁迫。

3.2.2 OPDA介导气孔对光信号的响应

MYB60转录因子被认为与光诱导的气孔开放过程相关, Cominelli等(2005)对拟南芥*myb60-1*突变体进行研究, 发现野生型和*myb60-1*突变体在黑暗中的气孔关闭程度相同, 而在见光时, *myb60-1*突变体气孔开放明显小于野生型, 表明MYB60正调控气孔开放这一过程。最新的研究发现MYB60转录因子通过调节保卫细胞中的氧脂素合成从而控制气孔开放过程, 与野生型相比, 在*myb60-1*突变体保卫细胞中OPDA、dn-OPDA、JA和JA-Ile的水平明显升高。与此同时, *13-LOXs*基因*LOX2*、*LOX4*和*LOX6*的表达在*myb60-1*突变体保卫细胞中上调, 表明MYB60负调控保卫细胞中JAs和OPDA的生物合成和累积。研究还通过遗传上位性分析发现*myb60-1*突变体的气孔表型与保卫细胞中OPDA的累积有关(Simeoni等2022)。拟南芥RNA-seq数据显示OPDA影响质膜质子泵基因的表达, 暗示OPDA调控的气孔运动可能和质子泵的活性相关(Taki等2005)。最新的研究发现, 依赖蓝光受体PHOT (phototropin)的3个同亚族叶绿体磷脂酶编码基因*PLIP1/2/3* (phospholipase1/2/3)的表达水平在光下快速升高, 相应的突变体在光下呈现气孔加速开

放表型。该组磷脂酶介导保卫细胞叶绿体膜脂水解, 释放出的游离PUFAs参与脂氧合酶LOX启动的叶绿体氧脂素合成途径。其中, 氧脂素合成中间物OPDA而非终产物JA的累积抑制了质膜质子泵活性以及钾离子的内流, 对光诱导的气孔开放进行负调控。有趣的是, *lox6-1*突变体中OPDA的缺失加快了气孔的开放速率, 提高了植物的水分利用效率和生长合适度(Chang等2023)。除此之外, Ohashi等(2005)在三色牵牛(*Ipomoea tricolor*)中提取的某种OPDA类似物($C_{27}H_{44}O_{10}$)在黑暗条件下可以显著诱导气孔开放, 而OPDA在较低的浓度下促进气孔开放(图2)。

4 氧脂素信号的起源与进化

氧脂素的生理作用和信号转导机制在拟南芥

中已经得到比较深入的研究, 现有证据表明OPDA和JA在调控植物生长发育以及逆境应答方面具有显著的异同点。与此同时, 人们也发现氧脂素在拟南芥中发挥的作用不能完全代表该类信号物质在其他植物谱系中的功能, 有关氧脂素在低等植物中功能的起源与信号通路的建立图式是近年来该领域的研究热点。处于植物演化早期的代表性物种如软克里藻(*Klebsormidium flaccidum*)、小立碗藓(*Physcomitrella patens*)、地钱(*Marchantia polymorpha*)和红珊瑚卷柏(*Selaginella martensii*)等, 具有OPDA生物合成相关的主要酶类, 通过高效液相色谱的方法能够在这些物种中检测到OPDA的存在, 这些线索暗示OPDA及其类似物可能起源于至少4.5亿年前的物种。生理实验证据进一步表明OPDA可能参与调节低等植物的防御、育性、孢

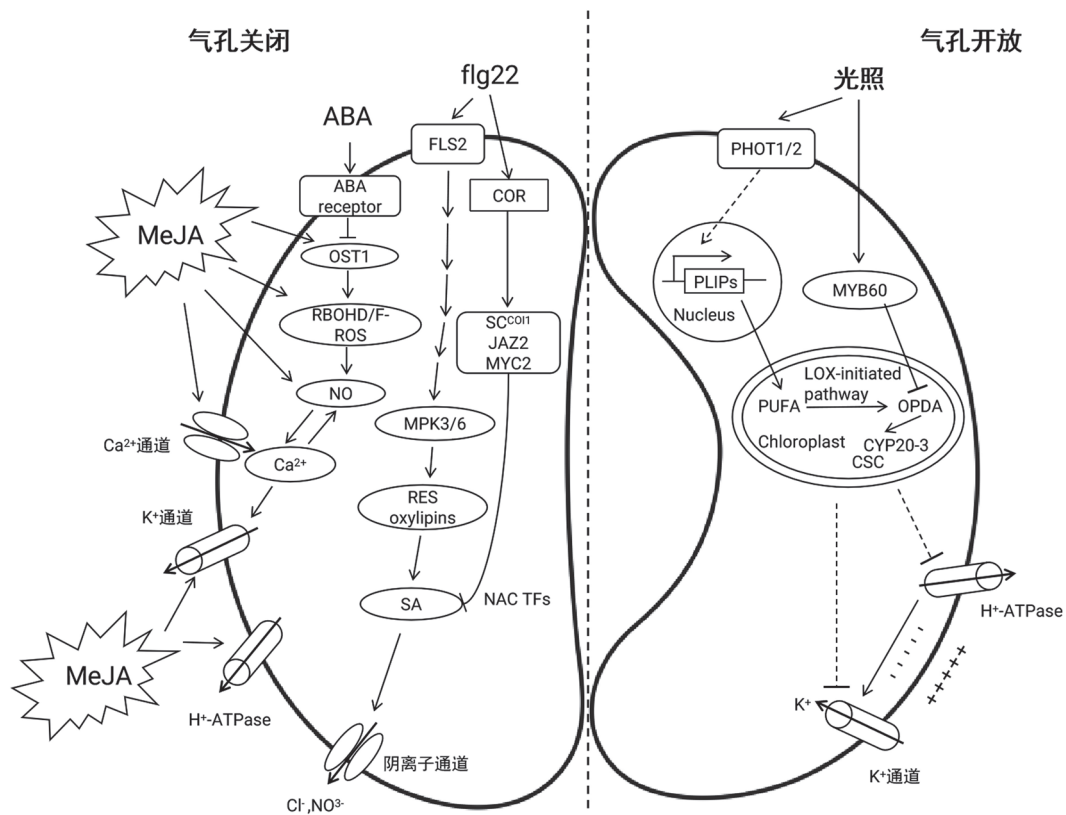


图2 保卫细胞内氧脂素信号转导图示

Fig. 2 Signaling repertoire of oxylipins in guard cells

→ (黑色实线箭头)表示已被证实的信号通路, —|表示负调控作用, --- (黑色虚线)表示未知的信号通路, --- (中央虚线)左边表示气孔关闭过程, 右边表示气孔开放过程。

子体形态建成以及损伤应激反应等生理过程(Ma-ynard等2018)。值得注意的是,虽然在苔藓类植物(*Bryophyta*)中能检测到JA及其活性衍生物JA-Ile,但目前缺乏足够的证据表明这些物质广泛存在于低等植物,而且尚未发现这些物种的基因组编码OPR3以及JAR1等参与JA合成的下游关键酶。人们通过比较基因组学的研究还发现,拟南芥氧脂素信号转导关键元件COI1的同源物广泛存在于陆生及轮藻类植物中,包括水稻、巨云杉(*Picea sitchensis*)、江南卷柏(*Selaginella moellendorffii*)、小立碗藓、地钱、软克里藻等(Han 2017)。有研究表明地钱中的COI1的同源基因MpCOI1对外源添加的JA-Ile不产生应答,但其表达水平受到dn-OPDA的强烈诱导。考虑到JA-Ile是通过维管系统在植物体内进行分布,推测非极性的dn-OPDA可能作为前体形式,对极性JA-Ile的形成产生进化压力,在植物氧化过程中,OPDA可能是比JA更加古老的功能氧脂素分子(Monte等2018)。

化石证据表明气孔最早在约4.2亿年前志留纪晚期的裸蕨(*Psilophyton*)中出现,它是伴随着植物由水生向陆生演化过程中出现的具有水、气交换功能重要器官,也是研究植物系统分类和种间亲缘关系的重要依据。有关气孔的进化起源规律存在单起源和多起源两种学说:单起源学说认为所有物种的气孔都起源于裸蕨,而苔藓植物是由裸蕨类植物退化形成;多起源学说则认为苔藓类植物与维管植物的气孔具有不同的起源(Clark等2022)。目前的研究表明,种子植物保卫细胞内ABA信号转导包含胞内活性氧水平升高、NO产生、Ca²⁺浓度动态变化等重要事件,这些信号事件是否在蕨类植物气孔运动中发生作用尚存争议。有报道称荚果蕨(*Matteuccia struthiopteris*)与种子植物在ABA信号途径上存在差异,导致这类低等植物气孔对ABA处理不敏感(Gong等2021)。其他研究则发现,水蕨(*Ceratopteris richardii*)气孔的主动关闭与环境湿度降低有关,且ABA对该过程具有一定的促进作用;进一步通过通过转录组测序的手段发现,水蕨气孔的关闭过程可能涉及Ca²⁺、ROS等保守的ABA信号转导元件,据此推测在蕨类与种子植物的共同祖先中,处于进化系统末端的物

种开始出现典型的气孔信号调控网络(Plackett等2021)。种子植物、早期蕨类和石松类植物的气孔还能够对蓝光信号产生应答,表明这种气孔应激反应可能存在于石松类分化之前(Sussmilch等2019)。如前所述,JA和OPDA在拟南芥气孔的运动调控中发挥重要作用,那么作为在陆生植物演化早期就存在的信号分子(图3),它们是否参与调控低等植物气孔对外源刺激的应答呢?研究表明MeJA处理会诱导红珊瑚卷柏中OPDA和JA浓度的升高以及气孔导度的降低,暗示氧脂素在蕨类气孔运动中已经发挥调节功能(Wu等2022)。

5 展望

随着模式植物功能基因组学研究的飞速发展,氧脂素类化合物的生物合成途径以及信号转导元件的研究已取得可喜的进展。深入了解环境胁迫条件下的氧脂素作用的分子机制,对于提高植物抗逆能力和保障农业生产安全具有重要意义。目前人们对OPDA在植物体内的信号途径仍知之甚少,尤其是能与OPDA发生结合的受体蛋白鲜有报道(Ma-ynard等2018)。有关人类cyPGylated蛋白的鉴定工作可能为植物OPDA受体的研究提供线索;最近开发的OPDA合成策略也有利于在OPDA效应蛋白鉴定、下游信号转导机制解析等方面进行深入研究。此外,有关OPDA在植物生长发育过程中的分布与运输机制也是当下的研究热点。质谱成像技术已被用来检测种子特定细胞层中OPDA的分布情况,高灵敏度的靶向分析策略也可用于检测OPDA缀合物的产生条件,以及鉴定OPDA效应蛋白的生物学功能。有关茉莉素的研究将来则聚焦于逆境中的植物如何区分不同的胁迫信号并激活特定的信号通路,以及深入解析JAs、JAs转录因子与JAZs抑制子的相互作用模式,进一步的研究还有望阐明JAs与其转运蛋白相互作用的分子机制,了解其如何影响JAs在植物体内的分布。

氧脂素生物学在模式植物拟南芥中已得到广泛的研究和很好的表征,然而,很少有人尝试在低等植物中研究氧脂素的生物合成和信号机制。因此,氧脂素生物合成和信号机制进化的许多方面仍然不清楚。我们相信低等植物是理解氧脂素信

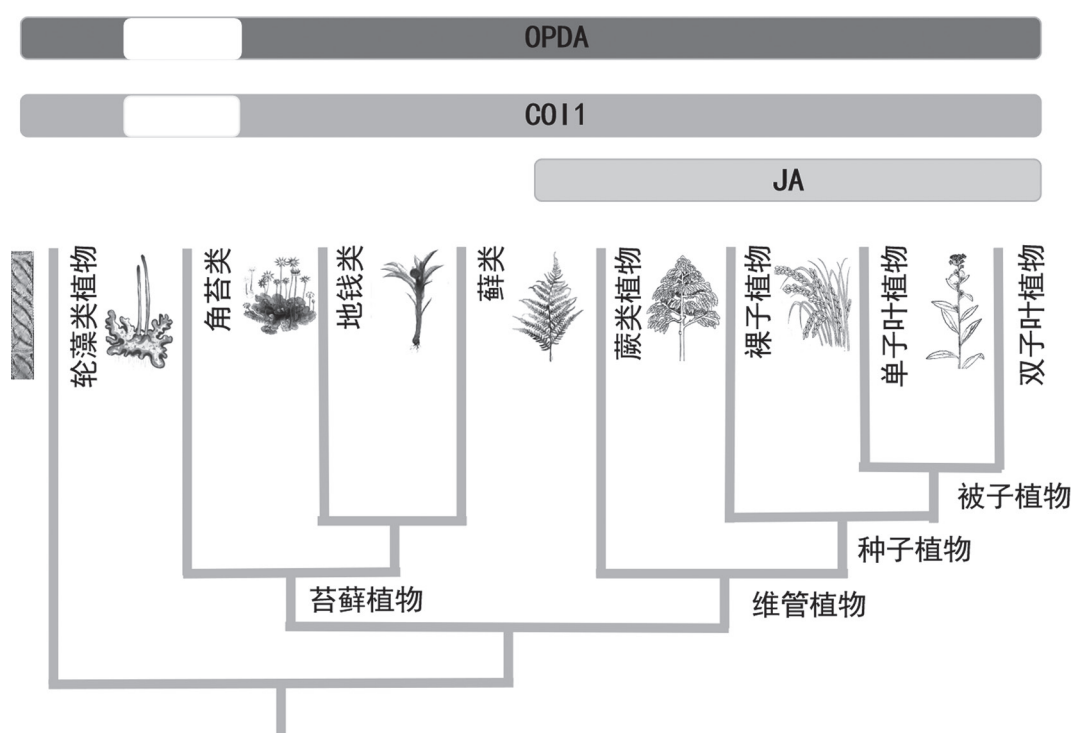


图3 氧脂素信号功能的进化

Fig. 3 Evolution of oxylipins function and signaling

空白部分表示角苔类植物中不存在OPDA和COI1。

号的起源和进化, 以及其他植物激素信号的的关键。未来的研究需要集中于氧脂素及其衍生物在低等植物中的分布。目前在多种苔藓植物中检测到了JA及其衍生物的存在, 但在小叶碗藓、红珊瑚卷柏、地钱中却没有类似的发现(Han2017)。在低等植物和蓝藻中存在或不存在相关物质的证据通常是单一的, 因此需要进一步的研究来确认。在有确凿的证据的前提下, 我们才能获得氧脂素生物合成和信号机制演变的总体情况。此外, 还需要剖析低等植物JA信号同源体的功能。JA信号成分的同源物存在于小叶碗藓和地钱的基因组中, 但是需要进一步的实验来验证这些同源物是否在低等植物中形成功能性JA信号通路的一部分。只有深入研究氧脂素信号的进化, 我们才能明确氧脂素生物合成和信号机制的起源和演化。

参考文献(References)

An C, Li L, Zhai Q, et al (2017). Mediator subunit MED25

links the jasmonate receptor to transcriptionally active chromatin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114 (42): E8930–E8939

Barbosa Dos Santos I, Park SW (2019). Versatility of cyclophilins in plant growth and survival: a case study in *Arabidopsis*. *Biomolecules*, 9 (1): 20–33

Buseman CM, Tamura P, Sparks AA, et al (2006). Wounding stimulates the accumulation of glycerolipids containing oxophytodienoic acid and dinor-oxophytodienoic acid in *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiol*, 142 (1): 28–39

Chang Y, Shi M, Sun Y, et al (2023). Light-induced stomatal opening in *Arabidopsis* is negatively regulated by chloroplast-originated OPDA signaling. *Curr Biol*, 33 (6): 1071–1081

Chini A, Monte I, Zamarreño AM, et al (2018). An OPR3-independent pathway uses 4,5-didehydrojasmonate for jasmonate synthesis. *Nat Chem Biol*, 14 (2): 171–178

Clark JW, Harris BJ, Hetherington AJ, et al (2022). The origin and evolution of stomata. *Curr Biol*, 32 (11): R539–R553

Cominelli E, Galbiati M, Vavasseur A, et al (2005). A guard-cell-specific MYB transcription factor regulates stomatal movements and plant drought tolerance. *Curr*

- Biol, 15 (13): 1196–1200
- Dixon DP, Edwards R (2009). Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases. *J Biol Chem*, 284 (32): 21249–21256
- Floková K, Feussner K, Herrfurth C, et al (2016). A previously undescribed jasmonate compound in flowering *Arabidopsis thaliana*—the identification of cis-(+)-OPDA-Ile. *Phytochemistry*, 122: 230–237
- Förster S, Schmidt LK, Kopic E, et al (2019). Wounding-induced stomatal closure requires jasmonate-mediated activation of GORK K^+ channels by a Ca^{2+} sensor-kinase CBL1-CIPK5 complex. *Dev Cell*, 48 (1): 87–99
- Geng S, Misra BB, de Armas E, et al (2016). Jasmonate-mediated stomatal closure under elevated CO_2 revealed by time-resolved metabolomics. *Plant J*, 88 (6): 947–962
- Ghorbel M, Brini F, Sharma A, et al (2021). Role of jasmonic acid in plants: the molecular point of view. *Plant Cell Rep*, 40 (8): 1471–1494
- Gimenez-Ibanez S, Boter M, Fernández-Barbero G, et al (2014). The bacterial effector HopX1 targets JAZ transcriptional repressors to activate jasmonate signaling and promote infection in *Arabidopsis*. *PLOS Biol*, 12 (2): e1001792
- Gimenez-Ibanez S, Boter M, Ortigosa A, et al (2017). JAZ2 controls stomata dynamics during bacterial invasion. *New Phytol*, 213 (3): 1378–1392
- Gong L, Liu XD, Zeng YY, et al (2021). Stomatal morphology and physiology explain varied sensitivity to abscisic acid across vascular plant lineages. *Plant Physiol*, 186 (1): 782–797
- Griffiths G (2020). Jasmonates: biosynthesis, perception and signal transduction. *Essays Biochem*, 64 (3): 501–512
- Han GZ (2017). Evolution of jasmonate biosynthesis and signaling mechanisms. *J Exp Bot*, 68 (6): 1323–1331
- Howe GA, Major IT, Koo AJ (2018). Modularity in jasmonate signaling for multistress resilience. *Annu Rev Plant Biol*, 69: 387–415
- Kobayashi M, Ohura I, Kawakita K, et al (2007). Calcium-dependent protein kinases regulate the production of reactive oxygen species by potato NADPH oxidase. *Plant Cell*, 19 (3): 1065–1080
- Leon-Reyes A, Van der Does D, De Lange ES, et al (2018). Salicylate-mediated suppression of jasmonate-responsive gene expression in *Arabidopsis* is targeted downstream of the jasmonate biosynthesis pathway. *Planta*, 232 (6): 1423–1432
- Liu W, Park SW (2021). 12-oxo-phytodienoic acid: a fuse and/or switch of plant growth and defense responses? *Front Plant Sci*, 12: 724079
- Lu WY, Fang K, Bian HW, et al (2016). Advances in stomatal development and its regulation factors. *Plant Physiol J*, 52 (6): 782–788 (in Chinese with English abstract) [陆雯芸, 房克, 边红武等(2016). 气孔发育及其调控因素的研究进展. 植物生理学报, 52 (6): 782–788]
- Maynard D, Gröger H, Dierks T, et al (2018). The function of the oxylipin 12-oxophytodienoic acid in cell signaling, stress acclimation, and development. *J Exp Bot*, 69 (22): 5341–5354
- Melotto M, Underwood W, Koczan J, et al (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 126 (5): 969–980
- Merlaen B, De Keyser E, Van Labeke MC (2020). The jasmonic acid pathway, rather than abscisic acid, may partly explain contrasting stomatal responses in two strawberry cultivars under osmotic stress. *Plant Physiol Biochem*, 151: 21–33
- Monte I, Ishida S, Zamarreño AM, et al (2018). Ligand-receptor co-evolution shaped the jasmonate pathway in land plants. *Nat Chem Biol*, 14 (5): 480–488
- Montillet JL, Leonhardt N, Mondy S, et al (2013). An abscisic acid-independent oxylipin pathway controls stomatal closure and immune defense in *Arabidopsis*. *PLOS Biol*, 11 (3): e1001513
- Munemasa S, Hossain MA, Nakamura Y, et al (2011a). The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase, CPK6, functions as a positive regulator of methyl jasmonate signaling in guard cells. *Plant Physiol*, 155 (1): 553–561
- Munemasa S, Mori IC, Murata Y (2011b). Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells. *Plant Signal Behav*, 6 (7): 939–941
- Murata Y, Pei ZM, Mori IC, et al (2001). Abscisic acid activation of plasma membrane Ca^{2+} channels in guard cells requires cytosolic NAD(P)H and is differentially disrupted upstream and downstream of reactive oxygen species production in *abi1-1* and *abi2-1* protein phosphatase 2C mutants. *Plant Cell*, 13 (11): 2513–2523
- Nazareno AL, Hernandez BS (2017). A mathematical model of the interaction of abscisic acid, ethylene and methyl jasmonate on stomatal closure in plants. *PLOS One*, 12 (2): e0171065
- Ohashi T, Ito Y, Okada M, et al (2005). Isolation and stomatal opening activity of two oxylipins from *Ipomoea tricolor*. *Bioorg Med Chem Lett*, 15 (2): 263–265
- Pedranzani H, Rodríguez-Rivera M, Gutiérrez M, et al (2016). *Arbuscular mycorrhizal* symbiosis regulates physiology and performance of *Digitaria eriantha* plants subjected to abiotic stresses by modulating antioxidant and jasmonate levels. *Mycorrhiza*, 26 (2): 141–152
- Plackett ARG, Emms DM, Kelly S, et al (2021). Conditional

- stomatal closure in a fern shares molecular features with flowering plant active stomatal responses. *Curr Biol*, 31 (20): 4560–4570
- Saito N, Munemasa S, Nakamura Y, et al (2008). Roles of RCN1, regulatory A subunit of protein phosphatase 2A, in methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid. *Plant Cell Physiol*, 49 (9): 1396–1401
- Savchenko T, Kolla VA, Wang CQ, et al (2014). Functional convergence of oxylipin and abscisic acid pathways controls stomatal closure in response to drought. *Plant Physiol*, 164 (3): 1151–1160
- Simeoni F, Skirycz A, Simoni L, et al (2022). The AtMYB60 transcription factor regulates stomatal opening by modulating oxylipin synthesis in guard cells. *Sci Rep*, 12 (1): 533
- Staswick PE, Tiryaki I (2004). The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16 (8): 2117–2127
- Stintzi A, Weber H, Reymond P, et al (2001). Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (22): 12837–12842
- Suhita D, Raghavendra AS, Kwak JM, et al (2004). Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate and abscisic acid induced stomatal closure. *Plant Physiol*, 134 (4): 1536–1545
- Sussmilch FC, Schultz J, Hedrich R, et al (2019). Acquiring control: the evolution of stomatal signalling pathways. *Trends Plant Sci*, 24 (4): 342–351
- Taki N, Sasaki-Sekimoto Y, Obayashi T, et al (2005). 12-oxo-phytodienoic acid triggers expression of a distinct set of genes and plays a role in wound-induced gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 139 (3): 1268–1283
- Thireault C, Shyu C, Yoshida Y, et al (2015). Repression of jasmonate signaling by a non-TIFY JAZ protein in *Arabidopsis*. *Plant J*, 82 (4): 669–679
- Wang K, Guo Q, Froehlich JE, et al (2018). Two abscisic acid-responsive plastid lipase genes involved in jasmonic acid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 30 (5): 1006–1022
- Wu LH, Zhao Y, Qu SS, et al (2020). Advances in the understanding of stomatal regulation by actin-binding proteins. *Plant Physiol J*, 56 (11): 2347–2355 (in Chinese with English abstract) [吴李红, 赵艺, 屈闪闪等(2016). 微丝结合蛋白调控气孔运动的研究进展. *植物生理学报*, 56 (11): 2347–2355]
- Wu YT, Hōrak H, Liu B, et al (2022). Impacts of methyl jasmonate on *Selaginella martensii*: volatiles, transcriptomics, phytohormones and gas exchange. *J Exp Bot*, 74 (3): 889–908
- Xing Q, Liao J, Cao S, et al (2020). CmLOX10 positively regulates drought tolerance through jasmonic acid mediated stomatal closure in oriental melon (*Cucumis melo* var. *makuwa* Makino). *Sci Rep*, 10 (1): 17452
- Zhang R, Ge S, He J, et al (2019). BIG regulates stomatal immunity and jasmonate production in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 22 (1): 335–348
- Zhou Z, Wu Y, Yang Y, et al (2015). An *Arabidopsis* plasma membrane proton ATPase modulates JA signaling and is exploited by the *Pseudomonas syringae* effector protein AvrB for stomatal invasion. *Plant Cell*, 27 (7): 2032–2041
- Zhu X, Chen J, Xie Z, et al (2015). Jasmonic acid promotes degreening via MYC2/3/4- and ANAC019/055/072-mediated regulation of major chlorophyll catabolic genes. *Plant J*, 84 (3): 597–610