

# 植物体内钙信号及其在调节干旱胁迫中的作用

刘小龙<sup>1,2</sup>, 李霞<sup>1\*</sup>, 钱宝云<sup>1,2</sup>, 唐玉婷<sup>1,2</sup>

(1 江苏省农业科学院粮食作物研究所, 江苏省优质水稻工程技术研究中心, 江苏省农业科学院江苏省农业生物学重点实验室, 南京 210014; 2 南京农业大学 生命科学学院, 南京 210095)

**摘要:** 钙作为植物体内第二信使广泛参与了植物响应的各种非生物和生物胁迫的信号传导。胁迫信号通过激活位于细胞质膜上的钙离子通道, 产生胞质内特异性的钙信号, 传递至钙信号感受蛋白, 如钙调素(calmodulin, CaM)、钙依赖蛋白激酶(Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinases, CDPK)和类钙调磷酸酶 B 蛋白(calcineurin B-like protein, CBL)等, 进而引起胞内一系列生理生化变化, 最终对胁迫做出响应。钙信号在植物响应干旱胁迫信号系统中起枢纽作用, 主要通过调节气孔运动, 水通道蛋白(aquaporin, AQP)和抗氧化酶活性来减少水分流失, 提高水分利用率, 最终降低干旱对植物细胞的伤害, 并具有一定的生态学功能。该文对近年来国内外有关植物体内钙信号的研究进展以及在干旱逆境中的调节作用进行综述, 并对今后的研究做了展望。

**关键词:** 植物; 钙离子; 钙信号; 干旱胁迫; 气孔关闭; 水分利用率

**中图分类号:** Q257; Q945.79 **文献标志码:** A

## Ca<sup>2+</sup> Signal Transduction and Its Regulation Role under Drought Stress in Plant

LIU Xiaolong<sup>1,2</sup>, LI Xia<sup>1\*</sup>, QIAN Baoyun<sup>1,2</sup>, TANG Yuting<sup>1,2</sup>

(1 Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu High Quality Rice R&D Center, Nanjing Branch of China National Center Rice Improvement, Provincial Key Laboratory of Agrobiolgy, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2 College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** As a second messenger, Ca<sup>2+</sup> is involved in signal transduction pathways related to various responses to abiotic and biotic stress in plant. The specific calcium signal in plant cell is activated by different stress via stimulating calcium channel on the plant plasma membrane, then transformed to Ca<sup>2+</sup> sensing proteins, such as calmodulin(CaM), Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinases(CDPK) and calcineurin B-like protein, etc., which induced a series of physiological and biochemical processes of plant cell to the stress. Drought stress is one of the most serious abiotic stresses in the earth. Ca<sup>2+</sup> signal plays a pivotal role on response to drought stress, by regulating stomatal movement, water channel protein(aquaporin, AQP) and antioxidase activity to reduce water loss and drought damage, increasing water use efficiency. Furthermore, Ca<sup>2+</sup> has some ecological functions. In this paper, we also summarize the new progress Ca<sup>2+</sup> signal and its regulation for response to drought stress, and propose simple prospect in the future.

**Key words:** plant; Ca<sup>2+</sup>; calcium signal; drought stress; stomatal closure; water use efficiency

收稿日期: 2014-03-20; 修改稿收到日期: 2014-07-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871459, 31371554); 江苏省自主创新基金(CX[(14)5004]); 国家转基因重大专项(2014ZX08001-004-001-009); 环保部项目(201009023); 江苏省自然科学基金(BK20130708)

作者简介: 刘小龙(1988-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事水稻光合作用研究。E-mail: xiaolongfgu@126.com

\* 通信作者: 李霞, 博士, 研究员, 主要从事水稻高光效生理育种研究。E-mail: jsplpx@jaas.ac.cn

干旱是制约农业生产最主要自然灾害之一,严重影响着谷物产量<sup>[1]</sup>。植物在干旱条件下通过调节气孔关闭促进根部对水分的吸收和体内水分流动,提高水分利用率,减少干旱引起的伤害。与此同时,不同养分循环(如氮、磷和钾元素)因干旱程度的增加会发生“去耦合”,后者将会对控制初级生产力等关键生态系统功能的生物地球化学反应产生一个负面影响<sup>[2]</sup>。而  $\text{Ca}^{2+}$  在干旱胁迫响应中起到重要的信号调节作用。研究钙信号在干旱胁迫下的调控作用,可以清楚了解植物抗逆性的机制,对提高植物抗旱能力、筛选抗旱性植物和了解植物在高钙环境下的适应能力具有重要的科学价值和生态意义。

钙元素是植物中不易移动的必需矿质元素。在细胞结构和生理功能方面,  $\text{Ca}^{2+}$  可以作为细胞膜磷脂磷酸根和蛋白质的羧基之间的桥梁,而果胶酸钙还是细胞壁的重要成分。  $\text{Ca}^{2+}$  在维持细胞膜和细胞壁结构的稳定、参与胞内稳态和生长发育的调节中均起重要作用。 Han 等<sup>[3]</sup> 在拟南芥保卫细胞质膜上发现钙敏感受体 (calcium-sensing receptor, CAS), 胞外钙离子通过 CAS 激活胞内钙离子浓度增加,使胞外钙离子与胞内钙信号特异性关系联系在一起,确定了胞外钙离子具有第一信使的作用<sup>[4]</sup>。而更多研究证实,钙离子作为细胞内的第二信使,通过钙信号传导机制参与响应干旱、盐渍、冷害和病原菌等胁迫,即  $\text{Ca}^{2+}$  以浓度瞬时变化的形式在逆境诱导下形成特异性钙信号。  $\text{Ca}^{2+}$  或以钙振荡和钙波的方式传递信号,并将信号传递至钙信号感受蛋白,如钙依赖蛋白激酶 ( $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases, CDPK), 通过蛋白激酶磷酸化调节相应的转录因子或者基因表达,进而调节植物响应刺激<sup>[5]</sup>。

本文综述了近年来国内外钙信号研究的进展,介绍了植物钙信号的组成并主要从在气孔运动、水分利用率和活性氧清除的作用方面,阐述钙信号在干旱胁迫下的调控作用。

## 1 钙信号的感知

非生物胁迫如干旱、盐渍和低温等,能够刺激并激活受体细胞生物膜系统上的钙离子通道,主要包括钙敏感受体和钙结合蛋白。胞外刺激通过 CAS 受体产生钙信号<sup>[3]</sup>,激活不同种类的钙结合蛋白,与其他蛋白或者调控转录因子相互作用,产生相应的调控机制。如 CPK9 与钙调磷酸酶蛋白 3 (calcineurin B-like protein3, CBL3) 结合互作调控植物在低钾离子 ( $\text{K}^+$ ) 胁迫下胞内的  $\text{K}^+$  平衡<sup>[6]</sup>, CPK10 与

HSP1 (heat shock protein1) 互作可调控干旱胁迫下由脱落酸 (abscisic acid, ABA) 诱导的气孔运动<sup>[7]</sup>。

## 2 胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 水平调节

调节植物内源钙离子浓度是保证钙信号的重要物质基础。植物通过活化不同的钙通道改变胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,产生特异性的钙信号,进而引起体内一系列生理反应,以响应各种逆境胁迫。而在静息状态下,胞内低钙环境则需要膜系统上钙通道来维持<sup>[5]</sup>。

### 2.1 钙离子内流 ( $\text{Ca}_{\text{IN}}^{2+}$ ) 系统

不同组织和细胞在环境胁迫下激活各类钙通道调节  $\text{Ca}_{\text{IN}}^{2+}$ 。根据钙通道的激活方式,可分为电压依赖型、配体激活型和牵张激活型<sup>[8]</sup>。电压依赖型钙离子通道因质膜或细胞内膜电压迅速变化而快速响应外界刺激,并能够在短时间瞬时提高胞内钙离子浓度。而配体激活型钙离子通道则更多依赖于一些信号分子,如环化单磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、3',5'-环磷酸鸟苷 (guanosine 3',5'-cyclophosphate, cGMP)、三磷酸肌醇 (inositol 1,4,5-triphosphate,  $\text{IP}_3$ )、环腺苷二磷酸核糖 (cyclic adenosine diphosphate ribose, cADPR) 等<sup>[8-9]</sup>。对于牵张激活型钙离子通道的研究进展目前较为缓慢,有报道称该类型通道对机械刺激较为敏感,并参与气孔运动调控<sup>[10]</sup>。

**2.1.1 细胞膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道** (1) 电压依赖型  $\text{Ca}^{2+}$  通道 根据质膜极化方式不同,质膜上的电压依赖型  $\text{Ca}^{2+}$  通道可分为去极化激活的钙离子通道 (depolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, DACCs) 和超极化激活的钙离子通道 (hyperpolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, HACCs)<sup>[8]</sup>。在质膜上, DACCs 是由阳离子 (如  $\text{K}^+$ ) 内流引起的质膜去极化而被激活。正常膜电压下, DACCs 保持关闭状态,只有发生去极化时才被打开。活化的 DACCs 不是十分稳定,被激活后稳定性随时间的推移而迅速下降。在低温胁迫下,根部细胞膜产生慢反应动作电位可激活质膜上 DACCs,诱使  $\text{Ca}_{\text{IN}}^{2+}$ <sup>[11]</sup>。 DACCs 也可以作用于短时间内瞬时  $\text{Ca}_{\text{IN}}^{2+}$  响应冻害和病原菌等刺激<sup>[8]</sup>。而 HACCs 则是由细胞质膜上激活的质子泵驱动氢离子 ( $\text{H}^+$ ) 外流导致质膜超极化而被激活。钙通道的阳离子选择性较强,特别最近从全长度四聚体细菌 NaV 通道的 X 射线晶体结构的研究结果发现<sup>[12]</sup>,在小孔内有 3 个  $\text{Ca}^{2+}$  结合点:2 个高亲和性  $\text{Ca}^{2+}$  结合点和 1 个低亲和性点,而  $\text{Ca}^{2+}$  在穿过小孔运动时占据后者,并在穿过该通道时保持近乎充

分的水合状态,从而起一个高度选择性“电压门控钙通道”的作用,可帮助  $\text{Ca}^{2+}$  从细胞外介质(在其中  $\text{Na}^+$  浓度比  $\text{Ca}^{2+}$  浓度高 70 倍)中输入,这与以前认为充分脱水的金属离子结合到氨基酸侧链上或紧贴选择性过滤器内壁的骨干羧基基团上的情形完全相反。随着钙通道的鉴定和晶体结构的揭示,将给我们更精确地展现钙离子调节的作用机制。

另外,植物还存在大量膜联蛋白,它们是一类  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的膜结合可溶性蛋白。Laohavisit<sup>[13]</sup> 等发现,胞质内膜联蛋白直接参与了  $\text{Ca}_{\text{IN}}^{2+}$  通路,尤其是玉米在酸胁迫下增加了胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,表现出部分电压依赖型钙通道的特性<sup>[14]</sup>。最新的研究发现,拟南芥中 AtANN1 参与调节由过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )诱导的根尖细胞钙离子瞬时增加<sup>[15]</sup>。在 *Atann1* 突变体中,不仅  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的根尖细胞钙离子瞬时增加表现异常,受胞内钙信号依赖性调控的 *GSTU1* (*glutathione-s-transferase 1, Tau 1*) 基因表达也被抑制,这说明 AtANN1 不仅参与了钙信号的产生,同时也可能是  $\text{H}_2\text{O}_2$  与  $\text{Ca}^{2+}$  发生交互作用(cross talk)的关键元件。但是膜联蛋白是如何识别  $\text{Ca}^{2+}$  通道的问题,还需要进一步研究。

(2) 配体激活型钙通道 植物细胞质膜上存在着配体激活型钙通道,主要是环式核苷酸门控通道(cyclic nucleotide-gated channels, CNGC)<sup>[16-17]</sup>, CNGCs 可形成  $\text{Ca}^{2+}$  运输通道,包括 CNGC2、CNGC3、CNGC6、CNGC10、CNGC11、CNGC12、CNGC16 和 CNGC18<sup>[17-21]</sup>,定位在不同细胞器,如 CNGC10 位于叶绿体上,而 CNGC7 和 CNGC8 则位于液泡膜上<sup>[22]</sup>。通常 CNGCs 与 cAMP、cGMP 结合而被激活,促进钙离子内流<sup>[9]</sup>。而该结合位点也是 CNGC 与钙调素(calmodulin, CaM)结合区域,与 CaM 结合后钙通道被关闭<sup>[8]</sup>。CaM 与 cAMP 或 cGMP 竞争结合位点对调节体内的钙离子平衡起到非常重要的作用。

尽管关于 CNGCs 参与钙信号报道并不少,但是其具有的生理功能则不尽相同。CNGC2 作为一个具有代表性的离子通道得到广泛研究,研究发现 *AtCNGC2* 参与了植物抗病菌响应,可能是由于 *cngc2* 突变体破坏了植物细胞体内 NO 的产生,使植物不能通过  $\text{Ca}^{2+}$  调节过敏反应(hypersensitivity reaction, HR)<sup>[18]</sup>。将 *AtCNGC18* 转入大肠杆菌中,提高了  $\text{Ca}^{2+}$  的水平,而 CNGC 功能缺失导致花粉发育不完全<sup>[19]</sup>。在拟南芥中, *cngc16* 突变体花粉还降低了响应热胁迫的一些基因的表达,包括 2 个 HSP 的转录因子基因 *HsdA2* 和 *HsfB1*,表明

CNGC16 促进下游 HSP 的表达,参与胁迫响应<sup>[23]</sup>。并不是所有的 CNGCs 都能调节离子内流,如 CNGC3 形成的通道则不能调节钙离子内流,但在适应盐胁迫中, CNGC3 和 CNGC10 可通过建立适当的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比率参与调节离子体内平衡<sup>[15,24]</sup>。可见, CNGC 的功能具有复杂性。

(3) 牵张激活型  $\text{Ca}^{2+}$  通道 较早是在蚕豆保卫细胞中发现位于质膜上对牵张刺激敏感的钙通道。在洋葱表皮上也发现该类通道,其敏感度受机械、电势、生长素和 pH 的调节,在没有外力的情况下,一般不开放。牵张激活型  $\text{Ca}^{2+}$  通道开放时间较短,离子选择性较为严格,电流幅度较低,这些特点有利于对细胞的体积或膨压进行精细的调节。牵张激活型  $\text{Ca}^{2+}$  通道也可作为渗透感应器参与调控气孔运动<sup>[10]</sup>。

**2.1.2 液泡膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道** 液泡是植物细胞内最大的钙库,稳态时调控胞内钙离子水平,但受到胁迫时,位于液泡膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道被激活并向胞质中释放出大量的内源钙离子。液泡膜上存在两类  $\text{Ca}^{2+}$  通道,一种是电压依赖型,另一种是配体激活型。

(1) 电压依赖型  $\text{Ca}^{2+}$  通道 液泡膜的电压依赖型  $\text{Ca}^{2+}$  通道是属于慢型液泡钙离子通道(slow-vacuole calcium channel, SV)<sup>[25]</sup>, 该类  $\text{Ca}^{2+}$  通道在去极化下被激活,而在静息状态或超极化下失活。近年的研究表明,拟南芥中 SV 通道由两孔通道 1 (two-pore channel 1, TPC1) 基因编码, *tpc1* 突变体缺失导致 SV 失活<sup>[26]</sup>, 而 *OsTPC1* 过表达则会延长促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的活性<sup>[27]</sup>。TPC1 的等位基因 *fou2* 能够提高防卫基因表达和抗病能力<sup>[28-29]</sup>。相比野生型, *fou2* 植物液泡中有较高的  $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$  比,能够积累高浓度  $\text{Ca}^{2+}$ , 提高液泡储存  $\text{Ca}^{2+}$  的能力。在响应机械伤害中, *fou2* 植物可能引起较强烈的由液泡产生的钙信号,导致茉莉酸甲酯过表达<sup>[30]</sup>。

(2) 配体激活型钙通道 配体激活型  $\text{Ca}^{2+}$  通道主要有 2 种,一种是 cADPR 调控的  $\text{Ca}^{2+}$  通道,另一种是受 IP3 激活的  $\text{Ca}^{2+}$  通道。而在液泡中对于是否存在受 cADPR 和 IP3 调控的钙离子通道尚存在争议。虽然通过外源处理和钙通道抑制剂钆红处理,观察到在植物中 cADPR 可激活液泡膜上配体激活型  $\text{Ca}^{2+}$  通道,向细胞质释放大量的  $\text{Ca}^{2+}$ 。但目前植物的基因组中,并没有找到编码参与合成 cADPR 的 ADP 核糖环化酶的基因序列,而且动物

中 cADPR 的靶受体也没有在植物中发现<sup>[8]</sup>。

在植物组织中检测出极低水平的磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP<sub>2</sub>), 该物质可以将动物细胞中的磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 转化为 IP<sub>3</sub>, IP<sub>3</sub> 通过激活位于液泡膜上的钙通道, 瞬时提高胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度。但是与 cADPR 激活的 Ca<sup>2+</sup> 通道一样, 在高等植物基因中也没有找到类似动物中 IP<sub>3</sub> 受体基因序列<sup>[31]</sup>。

## 2.2 钙离子外流 (Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup>) 系统

对于一个完整的钙信号系统, Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup> 与 Ca<sub>IN</sub><sup>2+</sup> 同样重要。植物细胞内 Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup> 通道主要有 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> 反向运输通道 (cation exchangers, CAX)。Ca<sup>2+</sup>-ATPase 是低亲和高效率的 Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup> 通道, 而 CAX 是高亲和低效率的 Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup> 通道, 两者改变钙信号强度和持续时间不一样, 可能 CAX 主要维持钙信号结束后的钙稳态, 而 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 调节静息状态下 Ca<sub>OUT</sub><sup>2+</sup> 维持钙平衡。两者的作用机制还需更多研究证据。

Ca<sup>2+</sup>-ATPase 属于 P-type-ATPase (主要以水解 ATP 为动力的运输方式), 可分为 P<sub>IIA</sub>-ATPase 或内质网型-ATPase (ER-type calcium ATPase, ECA) 和 P<sub>IIB</sub>-ATPase, 后者由于受自身 N 端自我抑制又称为自动抑制的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase (autoinhibited calcium ATPase, ACA)。尽管两者都属于 Ca<sup>2+</sup>-ATPase, 都能够调节 Ca<sup>2+</sup> 的运输, 但两者却有较大的区别。ACA 调节有 N 端 CaM 结合区域, 其活性受 CaM 调节; CDPK 结合到 N 端调节区域发生磷酸化导致 ACA 活性受抑制。ECA 对 ATP 具有专一性, 不受 CaM 调控, 但可被环匹阿尼酸 (cyclopiazonic acid, CPA) 专一性抑制。目前, 在拟南芥中已经克隆出 4 个 ECAs 基因家族, 主要分布于内质网 (ECA1) 和高尔基体 (ECA3)<sup>[32-33]</sup>; 同时克隆出来的其他 10 个 ACA 基因家族广泛分布于细胞内各个生物膜上。ACA 功能缺失的突变体遭受钠胁迫后, Ca<sup>2+</sup> 浓度一直处在高浓度水平, 并降低了相关盐胁迫诱导的基因表达<sup>[34]</sup>。ACA8、ACA9 和 ACA10 基因突变破坏了胞内 Ca<sup>2+</sup> 平衡, 影响了花粉管发育和花粉进入胚珠, 从而导致部分花粉不育<sup>[35]</sup>。更多 ACA 基因的功能鉴定将为其作用机制提供新证据。

CAX 在植物细胞质膜和液泡膜上均有分布<sup>[5]</sup>。目前, 在拟南芥中发现有 6 个编码 CAX 的基因, 另外 5 个反向蛋白 (CAX7-11) 是 Ca<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup> (K<sup>+</sup>) 反向运输通道。CAX 是一种低亲和高效率运输通道,

在 Ca<sup>2+</sup> 浓度高水平时其作用才能凸显<sup>[36]</sup>。CAX 参与维持植物内 Ca<sup>2+</sup> 水平, 敲除 *AtCAX1* 和 *AtCAX3* 能提高拟南芥对钙的敏感度, 导致生长缓慢, 气孔开放受限<sup>[37]</sup>。在拟南芥发芽期, *AtCAX1* 和 *AtCAX3* 通过调控质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 抑制 H<sup>+</sup> 外流, 影响了生长素运输, 提高了 ABA 的敏感度, 导致气孔开度降低<sup>[38]</sup>。而将 *AtCAX1* 转入水稻可以提高胚乳的 Ca<sup>2+</sup> 浓度, 从而调节植物的生产能力<sup>[39]</sup>。

## 3 感受钙信号蛋白

将钙信号传递到信号传导途径的下游是植物产生生物学功能的重要步骤。植物中的钙信号感受蛋白可分为 CDPK、类钙调磷酸酶 B 蛋白 (calcineurin B-like protein, CBL) 以及 CaM 和类钙调素 (CaM-like proteins, CML) 3 大类, 它们都有一个或多个 EF 手型 (EF-hand) Ca<sup>2+</sup>/CaM 结合区域, 该区域有 12 个氨基酸残基组成的螺旋-环-螺旋结构 (helix-loop-helix, HLH), 并通过与 Ca<sup>2+</sup> 结合导致蛋白质结构发生改变, 激活感受蛋白的活性, 将钙信号传递到下游<sup>[40]</sup>。

### 3.1 钙调素和类钙调素

钙调素是钙感受信号中研究最深入的钙感受蛋白。植物细胞 CaM 有多个基因家族编码, 拟南芥中有 7 个基因家族编码 4 个 CaM (CaM1/4、CaM2/3/5、CaM6、CaM7), 它们之间仅有 1 至 5 个氨基酸不同, 具有高度保守性, 分布于细胞各个部位。CaM 由 148 个氨基酸组成, 含有 4 个 EF 手型结构, 结合 Ca<sup>2+</sup> 后其活性和亲和性增强。相对于经典的 CaM, 植物细胞内还存在 CML, 拟南芥中含有 50 种不同类型的 CML, 含有 2~6 个不等的 EF 手型结构。CaM 的生理功能研究最为深入, 涉及面也较广泛, 包括信号转导、光合作用、花粉萌发以及茉莉酸的过敏反应<sup>[41]</sup>等。最近发现, 钙调素参与了 MAPK 信号通路, MPK8 通过与 CaM 和 MKK3 (MPKkinase3) 结合被激活, 调控 *RbohD* (respiratory burst oxidase homologs D) 基因的表达而降低活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生<sup>[42]</sup>。

### 3.2 钙依赖蛋白质激酶

钙依赖蛋白质激酶是钙信号下游重要元件, 主要定位于质膜、液泡和内质网等细胞器中。CDPK 由一个多变的 N 端区域 (可变区)、一个蛋白激酶区域 (催化区)、一个自我抑制区域和一个含有 EF 结合位点的 CaM 区域 (调控区) 组成。不同 CDPK 的 N 端可变区的氨基酸数目不同, 该区域生理功能尚不

清楚,有人推测可能与 CDPK 的定位有关<sup>[40]</sup>。不同的 CDPK 之间催化区同源性较高<sup>[43]</sup>。而自我抑制区域序列最为保守,正常情况下,CDPK 处于自我抑制状态,当外界刺激产生钙信号后, $\text{Ca}^{2+}$  与 CDPK 调控区中 EF 结合位点结合解除自我抑制,从而进入激活状态。不同的 CDPK 对  $\text{Ca}^{2+}$  敏感性不同,这保证了钙信号的特异性。

CDPK 在拟南芥中有 34 个基因家族,不同的基因行使不同的生物学功能。如 *AtCPK3* 和 *AtCPK6* 参与保卫细胞离子通道的调控和由 ABA 诱导的气孔运动<sup>[44]</sup>。CPK4 和 CPK11 以及 CDPK11 和 CDPK24 互作,分别参与了依赖 ABA 或者 MAPK 途径的种子发育、气孔运动和花粉发育等生理过程<sup>[45-46]</sup>。水稻过表达 *CDPK7*、*CDPK21* 和 *CDPK12* 提高了其抗旱能力和耐盐能力<sup>[47-49]</sup>。可见,CDPK 是作物生物技术中改良抗逆性的重要靶标。

### 3.3 类钙调磷酸酶 B 蛋白

植物细胞中 CBL 是一类较小的钙结合蛋白,与动物细胞 CBL 调控 B 区(CNB)同源,属于 CaM 超家族。CBL 有 4 个 EF 手型结合区域,该区域较为保守。CBL 结合  $\text{Ca}^{2+}$  后,与钙调磷酸酶互作蛋白激酶(CBL interacting protein kinase, CIPK)相互作用,传递钙信号<sup>[8]</sup>。目前,对已知 CBL 的 EF 区域的生理功能并不是十分清楚。

类钙调磷酸酶 B 蛋白在拟南芥和水稻中都发现了 10 种编码基因,而 CIPK 编码基因已超过 25 种。此外,分子定位分析表明:拟南芥有 4 种 CBL 位于质膜,4 种位于液泡膜,2 种位于胞质和细胞核中,说明 CBL 与 CIPK 相互作用能够快速响应  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化,有利于形成特异性的钙信号。

类钙调磷酸酶 B 蛋白与 CIPKs 相互作用参与了多种非生物胁迫的响应,不同的 CBL-CIPKs 复合物行使的生物学功能并不相同。如 CBL4-CIPK24 复合物通过调控位于质膜上的  $\text{H}^+/\text{Na}^+$  反向运输蛋白 SOS1(salt overly sensitive 1)调节  $\text{Na}^+$  外流,而 CBL10-CIPK24 也可以调节液泡的  $\text{Na}^+$  运输<sup>[50]</sup>。CBL10-CIPK23 与  $\text{K}^+$  转运体 AKT1(*Arabidopsis*  $\text{K}^+$  transporter 1)专一性结合,调控  $\text{K}^+$  体内平衡,而且 CBL1/9-CIPK23 结合后形成的复合物也可调节位于根部细胞质膜上的 AKT1,以多种方式调控细胞内  $\text{K}^+$  平衡<sup>[14,51-52]</sup>。最近的研究还发现,CBL4 与 CIPK6 形成的复合物作为中介能够将位于内质网膜上的 AKT2 转移到质膜上,调节钾离子内

流<sup>[53]</sup>。与其他调控方式不同,CBL4-CIPK6 并不是以磷酸化的方式调节 AKT2,这种非磷酸化转移调控的方式是否也存在于其他 CBLs-CIPKs 复合物上还有待于研究。CBL10 也能直接调节 AKT1<sup>[52]</sup>。这些研究表明 CBL-CIPKs 复合物对靶目标调控存在多种方式。此外,CBL1/9-CIPK23 在脱水状态下通过参与拟南芥叶片气孔运动来调控植株蒸腾作用<sup>[14]</sup>,而 CBL1/9 也可以结合蛋白激酶 CIPK26 调控拟南芥 NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)呼吸爆发氧化酶同系物(respiratory burst oxidase homologue,RBOH)<sup>[54]</sup>参与气孔运动的调节。CBLs-CIPKs 靶目标的多样性和调控方式的多样性有利于钙信号特异性表达。

## 4 干旱胁迫下钙信号的作用

钙信号是干旱胁迫的重要信号通路。钙信号通过参与气孔运动来调节植物细胞水孔蛋白以及细胞与细胞之间的水分流动,从而维持植物在干旱胁迫下的保水能力。干旱胁迫引起保卫细胞胞内钙离子瞬时增加,通过依赖与不依赖 ABA 信号通路交互作用以及下游信号转导机制,促使气孔关闭,维持植株的水分,提高水分利用率,最终增强植物对干旱的适应能力(图 1)。

### 4.1 钙离子参与气孔关闭

**4.1.1 气孔关闭中钙信号通过 ROS 产生** 在气孔关闭信号中,ABA 依赖  $\text{Ca}^{2+}$  信号通路是主要途径。ABA 通过多种方式激活质膜钙离子通道,刺激胞内钙库释放钙离子,多个第二信使包括 ROS、NO、 $\text{IP}_3$

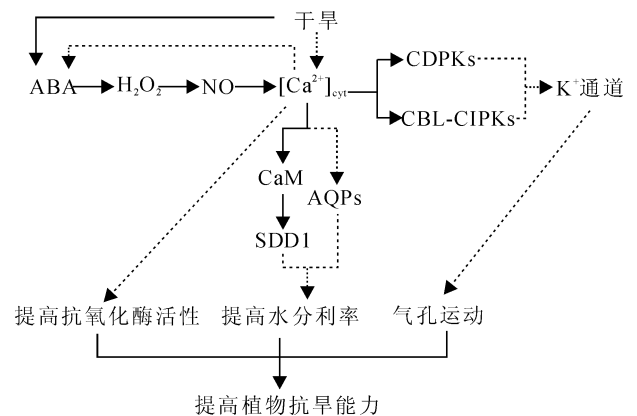


图 1 钙信号在干旱胁迫中的信号转导途径

图中实线表示已知信号途径,虚线代表未阐明或未证实的信号途径

Fig. 1 Signaling pathway of  $\text{Ca}^{2+}$  in drought stress

The solid lines mean the known pathways, and the dashed lines point to the pathways that are still unclear or not proved

和 cADPR 等参与了这一过程<sup>[55]</sup>。水分亏缺下, ABA 在叶片中大量积累,一方面激活磷脂酶 C,分解出 IP<sub>3</sub>,而 IP<sub>3</sub> 可启动保卫细胞胞内钙库,促进气孔关闭;另一方面,通过 cADPR 也可引起胞内钙离子增加,但是目前在植物中还没有鉴定出 IP<sub>3</sub> 和 cADPR 的受体<sup>[8]</sup>,保卫细胞中钙信号与 IP<sub>3</sub> 和 cADPR 之间的作用机制还有待进一步研究。

ABA 可通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 快速诱导胞内钙离子增加,从而导致质膜超极化,直接激活质膜上 HACCs 以及由第二信使激活的液泡膜 Ca<sup>2+</sup> 通道<sup>[56]</sup>,调控气孔关闭。目前,NO 参与 ABA 通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 激活钙信号通路也进一步被揭示。Wang 等<sup>[4]</sup>发现胞外钙离子和 ABA 通过促进 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生依赖于 NO 合成的钙信号,促进气孔关闭。使用硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)处理能诱使蚕豆气孔关闭,而使用 NO 清除剂 2-4-羧苯基四甲基咪唑烷-1-氧-3-氧化物[2-(4-carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide, cPITO]则抑制了 ABA 或 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的气孔关闭。外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 显著增加胞内 NO 水平,而过氧化氢酶(CAT)抑制了 ABA 诱导的 NO 增加<sup>[57]</sup>,说明 NO 是 ABA 诱导钙离子增加的一部分,并且位于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 下游。药理学实验显示,ABA 和 NO 诱导气孔关闭可被 cGMP 的抑制剂 ODQ[1H-(1,2,4)-oxadiazole-[4,3-a]quinoxalin-1-one]抑制,而 cGMP 类似物则可恢复该过程<sup>[58]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO 供体均能引起 cGMP 浓度增加,而 cGMP 抑制剂 LY83583 则可完全抑制由 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO 诱导的钙离子增加。在拟南芥 *abi* 突变体中, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO 激活钙信号是依赖于 cGMP,并且 cGMP 可能位于钙信号上游<sup>[59]</sup>。外源钙处理可通过产生胞内钙信号激活离子通道<sup>[4]</sup>。其中,叶绿体上的钙感受受体(CAS)已被鉴定参与了胞外钙离子诱导的胞内钙离子增加以及气孔关闭等生物过程<sup>[3]</sup>,这个过程也诱导保卫细胞中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO 积累<sup>[4]</sup>。不难看出,ABA 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导钙信号产生过程可能是通过 ABA → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → NO → cGMP → Ca<sup>2+</sup> 顺序产生钙信号,上游钙感受信号转换为钙接受信号,再经过钙信号下游作用,产生促进气孔关闭的生物学反应。

**4.1.2 钙信号通过依赖于 ABA 的信号传导途径引起的磷酸化作用参与气孔关闭的调节** Ca<sup>2+</sup> 不仅作为第二信使快速响应上游的刺激,更重要的是, Ca<sup>2+</sup> 信号系统中含有大量不同种类的钙信号受体,如 CDPKs、CaM、CBL、CIPK 等,接受外源的钙信

号,并转化为内源的钙信号,再通过磷酸化和去磷酸化,或者与其他蛋白相互作用最终调节气孔运动。

已经证实,保卫细胞中含有大量 CDPKs,通过磷酸化作用调节 K<sup>+</sup> 通道 AKT1。转 AtCPK10 和 ZmCPK12 的拟南芥叶片叶绿素含量以及植株的抗旱能力均得到提高<sup>[7,60]</sup>。拟南芥 *cpk3* 和 *cpk6* 双突变体抑制了部分 ABA 和 Ca<sup>2+</sup> 激活的 S 型离子通道,而钙离子诱导的气孔关闭被抑制了 64% ~ 81%,但这并没有长时间影响钙信号<sup>[44]</sup>。在 *cpk4* 和 *cpk11* 单突变体或双突变体中,ABA 信号途径表现较为迟钝,而 CPK4 和 CPK11 过表达则表现出相反的结果<sup>[45]</sup>。体外实验中,磷酸化的 CPK4 和 CPK11 调控 ABA 的转录因子 ABF1 和 ABF4<sup>[45]</sup>。在 *cpk10* 突变体中,ABA 和 Ca<sup>2+</sup> 诱导的气孔关闭被抑制。而酵母双杂交实验显示,HSP1 与 CPK10 相互结合共同调控气孔运动,而在 *cpk10* 和 *hsp1* 双突变体保卫细胞中,ABA 和 Ca<sup>2+</sup> 诱导的 K<sup>+</sup> 内流也受到抑制,表明 CPK10 和 HSP1 相互作用的下游靶标可能是 K<sup>+</sup> 通道<sup>[7]</sup>。

类钙调磷酸酶 B 蛋白也是 Ca<sup>2+</sup> 信号感受蛋白,通过与 CIPKs 结合共同发挥作用。相比于 CDPKs 对 Ca<sup>2+</sup> 依赖的 ABA 信号通路的正调控,CBLs 与 CIPKs 相互作用则负调控这一过程<sup>[61]</sup>。在保卫细胞的钙依赖信号途径中,CBL1 和 CBL9 协同激活 CIPK23,并与之结合,且 CBL1/9-CIPK23 复合物的作用位点在质膜<sup>[14]</sup>。*cipk23* 突变体株系提高了 ABA 对气孔运动的敏感性,降低了 K<sup>+</sup> 摄取能力,说明 CIPL23 是气孔关闭重要的参与者。*cipk23* 或 *cbl1/9* 突变体都会导致 AKT1 活性下降,暗示 AKT1 活性需要 CBL1/9-CIPK23 复合体的磷酸化激活<sup>[52]</sup>。最新的研究发现,水分胁迫下 AKT1 还可受 CIPK23 单独调节,通过调控 K<sup>+</sup> 流动而在气孔运动中起到重要的作用<sup>[62]</sup>。

在气孔关闭中,ABA 与 Ca<sup>2+</sup> 之间并不只是简单的上下游关系。干旱胁迫前期,钙离子可以快速诱导 ABA 生物合成,再通过膨压或者 pH 变化激活质膜上 Ca<sup>2+</sup> 通道,瞬时提高胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度,经过蛋白激酶级联反应调节玉米黄质环氧酶(zeaxanthin epoxidase, ZFP)、9-顺式环氧双加氧酶(9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)、AAO(ABA-aldehyde oxidase)和钼辅基硫酶(molybdenum cofactor sulfurase, MCSU)基因等转录因子表达,从而促进 ABA 生物合成,而生成的 ABA 又反馈性促进 Ca<sup>2+</sup> 浓度增加<sup>[63]</sup>。

## 4.2 干旱胁迫下钙离子提高了植物水分利用率

植物对干旱的响应,除了引起气孔关闭外,还能通过调节气孔密度等生长发育过程增加植物的保水能力。Xu 等<sup>[64]</sup>报道,适度的干旱胁迫会增加气孔密度,而在严重干旱下气孔密度会降低。进一步研究发现,植物 trihelix 转录家族中的 GTL(GT-2 like 1)可通过调控 *SDD1*(stomatal density and distribution 1)基因表达来调节气孔运动。*SDD1* 可编码类枯草菌素蛋白酶,并通过负调控机制改变气孔密度、蒸腾速率和水分利用率<sup>[65]</sup>。将 *PtaGTL1* 转入拟南芥,在缺水状况下 GTL 通过与  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM 结合提高 *SDD1* 基因表达,降低气孔密度和蒸腾速率,进而提高水分利用率<sup>[66]</sup>。可见,植物为了适应不同程度的水分亏缺,通过生长发育的调节来改变气孔数量和叶面积,平衡水分利用率和光合作用之间的关系并使其达到最佳适应点,这可能是植物应对长期干旱胁迫的一种重要策略。

在植物中,水分的流动和蒸腾可以影响细胞内钙的分布,因此人们猜测水分运动与钙离子之间存在相互作用的关系。研究发现胞内钙离子可通过水通道蛋白(aquaporin, AQP)调节水分流动<sup>[67]</sup>。外施钙离子也能促进细胞与细胞之间水分的流动,这可能是通过调控 AQPs 活性或者基因的表达来提高渗透胁迫下细胞间的水分流动,从而减弱渗透胁迫下叶片水分流失<sup>[68]</sup>。有研究表明,AQP 活性还受钙信号的磷酸化作用调控<sup>[67]</sup>,而钙依赖蛋白激酶和磷酸酯酶参与了这个过程<sup>[69]</sup>。钙离子与 AQP 精细调节水分运动的机制尚需要进一步探索。

## 4.3 干旱胁迫下钙离子可提高植物对活性氧的清除能力

植物受到干旱胁迫时,体内的 ROS 含量会增加,而 ROS 的大量积累则会破坏体内氧化还原的代谢平衡。正常状态下,植物体内的 ROS 清除系统会平衡植物氧化还原电位,使其保持在安全浓度范围内。ROS 清除系统主要是抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)等保护酶类。而使用钙调素拮抗剂 W7 可显著提高聚乙二醇(PEG)处理下丙二醛(MDA)、 $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量和超氧自由基产生的速率,并且抑制 SOD 和 POD 的活性,加剧抗坏血酸(AsA)和还原性谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)的破坏,这表明  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM 参与了 PEG 胁迫下抗氧化酶系统的负调节,加重对膜系统的破

坏<sup>[70]</sup>。其原因是  $\text{Ca}^{2+}$  和 CaM 在干旱胁迫下通过参与 ABA 信号通路诱导 SOD、APX 以及 GR 等相关抗氧化酶基因的表达<sup>[71]</sup>。

## 5 展望

钙元素是植物体内不易移动的营养元素,而钙离子经过上亿年进化已形成了较为严密而又错综复杂的信号调节机制。目前,钙信号的研究已经进入分子水平,部分植物细胞中的钙信号元件已被鉴定,并进行了功能分析,包括胞内运输  $\text{Ca}^{2+}$  通道(如 HACC、DACC)、钙离子外流通道( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 和 CAX)以及感受钙信号的 CDPKs 和 CaM 等,这些元件在植物生命活动中发挥着重要的作用。但是人们对于钙信号在植物体内的运作机制还不是很清楚,目前还有许多方面需要深入研究:1、分子水平上鉴定出植物基因编码的依赖于 cADPR 和  $\text{IP}_3$  的配体门控离子通道,则有利于揭示 cADPR 和  $\text{IP}_3$  的信号传导机制和进化基础;2、单细胞中钙信号空间和时间分布的生物学意义;3、钙信号与其他信号通路如 ABA 信号或者水杨酸信号等之间的关系和功能;4、钙振荡如何被体内专一性识别和转化的;5、内源钙细胞器中钙通道的分子鉴定;6、细胞核钙信号在表观遗传学上的运作机制。当然,这些钙信号的揭示还有待钙离子鉴定新技术的研发和引入,如启动子的鉴定<sup>[72]</sup>和荧光蛋白发光检测系统的使用<sup>[73]</sup>等。同时,虽然钙信号参与植物干旱胁迫的研究非常多,目前关注度最多的是钙信号参与保卫细胞气孔关闭,但是由于钙离子既可作为第二信使,也可以作为第一信使参与这个过程,它是如何通过诱导内源 ABA、 $\text{H}_2\text{O}_2$  与 NO 发生交互作用并转化为内源的信号分子的内源机制并不清晰,目前知道的多是通过片段或者零星的证据加以推测。而有关植物对干旱的特异识别机制的证据则更缺乏,例如已经证实  $\text{IP}_3$  和 cADPR 参与了气孔关闭的信号元件,至今在植物中并没有找到相关的受体, $\text{IP}_3$  和 cADPR 是否参与气孔关闭还是缺乏可靠的体内的实验证据。另外,钙离子是如何通过 AQP 促进干旱下细胞与细胞之间长距离的水分流动,这也是一个值得深入研究的方向。生态学研究表明,喀斯特地区生长的植物普遍具有抗旱和适应高钙的能力<sup>[74]</sup>。研究不同地区植物高钙适应特性可为深入揭示在干旱条件下植物钙信号的生态学功能提供新视角。未来进一步通过生物信息学、基因技术、蛋白组技术以及代谢组学等新兴技术应用,植物体内复杂钙信号网络的

研究会取得新的突破。相关的理论研究的深入也为今后改良植物的干旱特性提供新的途径。

### 参考文献:

- [1] KHAN M A, IQBAL M, AKRAM M, *et al.* Recent advances in molecular tool development for drought tolerance breeding in cereal crops: a review[J]. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2013, **100**(3): 325—334.
- [2] WARDLE D A. Drivers of decoupling in drylands[J]. *Nature*, 2013, **502**: 628—629.
- [3] HAN S, TANG R, ANDERSON LK, *et al.* A cell surface receptor mediates extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing in guard cells[J]. *Nature*, 2003, **425** (6 954): 196—200.
- [4] WANG W H, YI X Q, HAN A D, *et al.* Calcium-sensing receptor regulates stomatal closure through hydrogen peroxide and nitric oxide in response to extracellular calcium in *Arabidopsis*[J]. *J. Exp. Bot.*, 2012, **63**(1): 177—190.
- [5] DODD A N, KUDLA J, SANDERS D. The language of calcium signaling[J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2010, **61**: 593—620.
- [6] LIU L L, REN H M, CHEN L Q, *et al.* Protein kinase, calcineurin B-like protein-interacting protein kinase9, interacts with calcium sensor calcineurin B-like protein3 and regulates potassium homeostasis under low-potassium stress in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol.*, 2013, **161** (1): 266—277.
- [7] ZOU J J, WEI F J, WANG C, *et al.* *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase CPK10 functions in abscisic acid- and Ca<sup>2+</sup>-mediated stomatal regulation in response to drought stress[J]. *Plant Physiol.*, 2010, **154**(3): 1 232—1 243.
- [8] KUDLA J, BATISTIĆ O, HASHIMOTO K. Calcium signals: The lead currency of plant information processing[J]. *Plant Cell*, 2010, **22** (3): 541—563.
- [9] VERRET F, WHEELER G, TAYLOR A R, *et al.* Calcium channels in photosynthetic eukaryotes: implications for evolution of calcium-based signaling[J]. *New Phytol.*, 2010, **187**(1): 23—43.
- [10] ZHANG W, FAN L M, WU W H. Osmo-sensitive and stretch-activated calcium-permeable channels in *Vicia faba* Guard cells are regulated by Actin dynamics[J]. *Plant Physiol.*, 2007, **143**(3): 1 140—1 151.
- [11] WHITE P J. Depolarization-activated calcium channels shape the calcium signatures induced by low-temperature stress[J]. *New Phytol.*, 2009, **183**(1): 6—8.
- [12] TANG L, EL-DIN T M G, PAYANDEH J, *et al.* Structural basis for Ca<sup>2+</sup> selectivity of a voltage-gated calcium channel[J]. *Nature*, 2014, **505**: 56—61.
- [13] LAOHAVISIT A, MORTIMER J C, DEMIDCHIK V, *et al.* *Zea mays* annexins modulate cytosolic free Ca<sup>2+</sup> and generate a Ca<sup>2+</sup>-permeable conductance[J]. *Plant Cell*, 2009, **21**(2): 479—493.
- [14] CHEONG Y H, PANDEY G K, GRANT J J, *et al.* Two calcineurin B-like calcium sensors, interacting with protein kinase CIPK23, regulate leaf transpiration and root potassium uptake in *Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 2007, **52**(2): 223—239.
- [15] RICHARDS S L, LAOHAVISIT A, MORTIMER J C, *et al.* Annexin 1 regulates the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced calcium signature in *Arabidopsis thaliana* roots[J]. *Plant J.*, 2014, **77**(1): 136—145.
- [16] GOBERT A, PARK G, AMTMANN A, *et al.* *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport[J]. *J. Exp. Bot.*, 2006, **57**(4): 791—800.
- [17] URQUHART W, CHIN K, UNG H, *et al.* The cyclic nucleotide-gated channels AtCNGC11 and 12 are involved in multiple Ca<sup>2+</sup>-dependent physiological responses and act in a synergistic manner[J]. *J. Exp. Bot.*, 2011, **62**(10): 3 671—3 682.
- [18] ALI R, MA W, LEMTIRI-CHLIEH F, *et al.* Death don't have no mercy and neither does calcium: *Arabidopsis* CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL2 and innate immunity[J]. *Plant Cell*, 2007, **19**(3): 1 081—1 095.
- [19] FRIETSCH S, WANG Y F, SLADEK C, *et al.* A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, **104**(36): 14 531—14 536.
- [20] GUO K M, BABOURINA O, CHRISTOPHER D A, *et al.* The cyclic nucleotide-gated channel AtCNGC10 transports Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> in *Arabidopsis*[J]. *Physiol. Plant*, 2010, **139**(3): 303—312.
- [21] QI Z, VERMA R, GEHRING C, *et al.* Ca<sup>2+</sup> signaling by plant *Arabidopsis thaliana* Pep peptides depends on AtPepR1, a receptor with guanylyl cyclase activity, and cGMP-activated Ca<sup>2+</sup> channels[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, **107**(49): 21 193—21 198.
- [22] CHANG F, YAN A, ZHAO L N, WU W H, *et al.* A putative calcium-permeable cyclic nucleotide-gated channel, CNGC18, regulates polarized pollen tube growth[J]. *J. Integr Plant Biol.*, 2007, **49**(8): 1 261—1 270.
- [23] TUNC-OZDEMIR M, TANG C, ISHKA M R, *et al.* A cyclic nucleotide-gated channel(CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development[J]. *Plant Physiol.*, 2013, **161**(2): 1 010—1 020.
- [24] GUO K M, BABOURINA O, CHRISTOPHER D A, *et al.* The cyclic nucleotide-gated channel, AtCNGC10, influences salt tolerance in



- Arabidopsis*[J]. *Physiol. Plant*, 2008, **134**(3): 499–507.
- [25] POTTOSIN II, SCHÖNKNECHT G. Vacuolar calcium channels[J]. *J. Exp. Bot.*, 2007, **58**(7): 1 559–1 569.
- [26] PEITER E, MAATHUIS F J, MILLS L N, *et al.* The vacuolar  $\text{Ca}^{2+}$ -activated channel TPC1 regulates germination and stomatal movement[J]. *Nature*, 2005, **434**(7 031): 404–408.
- [27] KURUSU T, YAGALA T, MIYAO A, *et al.* Identification of a putative voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channel as a key regulator of elicitor-induced hypersensitive cell death and mitogen-activated protein kinase activation in rice[J]. *Plant J.*, 2005, **42**(6): 798–809.
- [28] BONAVENTURE G, GFELLER A, PROEBSTING W M, *et al.* A gain-of-function allele of TPC1 activates oxylipin biogenesis after leaf wounding in *Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 2007a, **49**(5): 889–898.
- [29] BONAVENTURE G, GFELLER A, RODRIGUEZ V M, *et al.* The *fou2* gain-of-function allele and the wild type allele of two pore channel 1 contribute to different extents or by different mechanisms to defense gene expression in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2007b, **48**(12): 1 775–1 789.
- [30] BEYHL D, HÖRTENSTEINER S, MARTINOIA E, *et al.* The *fou2* mutation in the major vacuolar cation channel TPC1 confers tolerance to inhibitory luminal calcium[J]. *Plant J.*, 2009, **58**(5): 715–723.
- [31] BERRIDGE M J. Inositol trisphosphate and calcium signaling mechanisms[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009, **1793**(6): 933–940.
- [32] MILLS R F, DOHERTY M L, LÓPEZ-MARQUÉS R L, *et al.* ECA3, a Golgi-localized P2A-type ATPase, plays a crucial role in manganese nutrition in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol.*, 2008, **146**(1): 116–128.
- [33] LI X, CHANROJ S, WU Z, *et al.* A distinct endosomal  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$  pump affects root growth through the secretory process[J]. *Plant Physiol.*, 2008, **147**(4): 1 675–1 689.
- [34] QUDEIMAT E, FALTUSZ A M, WHEELER G, *et al.* A PIIB-type  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase is essential for stress adaptation in *Physcomitrella patens*[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, **105**(49): 19 555–19 560.
- [35] GEORGE L, ROMANOWSKY S M, HARPER J F, *et al.* The ACA10  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase regulates adult vegetative development and inflorescence architecture in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol.*, 2008, **146**(2): 716–728.
- [36] SHIGAKI T, REES I, NAKHLEH L, *et al.* Identification of three distinct phylogenetic groups of CAX cation/proton antiporters[J]. *J. Mol. Evol.*, 2006, **63**(6): 815–825.
- [37] CONN S J, GILLIHAM M, ATHMAN A, *et al.* Cell specific vacuolar calcium storage mediated by CAX1 regulates apoplastic calcium concentration, gas exchange, and plant productivity in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2011, **23**(1): 240–257.
- [38] CHO D, VILLIERS F, KRONIEWICZ L, *et al.* Vacuolar CAX1 and CAX3 influence auxin transport in guard cells via regulation of apoplastic PH[J]. *Plant Physiol.*, 2012, **160**(3): 1 293–1 302.
- [39] YI G H, LEE H S, SOHN J K, *et al.* Physico-chemical properties of *Arabidopsis*  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiporter transgenic rice grain[J]. *Bioscience Research*, 2012, **9**(1): 8–16.
- [40] BATISTIĆ O, KUDLA J. Analysis of calcium signaling pathways in plants[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, **1820**(8): 1 283–1 293.
- [41] DU L Q, ALI G S, SIMONS K A, *et al.*  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity[J]. *Nature*, 2009, **457**: 1 154–1 158.
- [42] TAKAHASHI F, MIZOGUCHI T, YOSHIDA R, *et al.* Calmodulin-dependent activation of MAP kinase for ROS homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *Mol. Cell*, 2011, **41**(6): 649–660.
- [43] ZHAO R, WANG X F, ZHANG D P. CPK12: A  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinase balancer in abscisic acid signaling[J]. *Plant Signal Behav.*, 2011, **6**(11): 1 687–1 690.
- [44] MORI I C, MURATA Y, YANG Y Z, *et al.* CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels and stomatal closure[J]. *PLoS Biol.*, 2006, **4**(10): 1 749–1 762.
- [45] ZHU S Y, YU X C, WANG X J, *et al.* Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2007, **19**(10): 3 019–3 036.
- [46] ZHAO L N, SHEN L K, ZHANG W Z, *et al.*  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinase11 and 24 modulate the activity of the inward rectifying  $\text{K}^{+}$  channels in *Arabidopsis* pollen tubes[J]. *Plant Cell*, 2013, **25**(2): 649–661.
- [47] LECOURIEUX D, RANJEVA R, PUGIN A. Calcium in plant defence-signalling pathways[J]. *New Phytol.*, 2006, **171**: 249–269.
- [48] ASANO T, HAKATA M, NAKAMURA H, *et al.* Functional characterisation of OsCPK21, a calcium-dependent protein kinase that confers salt tolerance in rice[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2011, **75**(1–2): 179–191.
- [49] ASANO T, HAYASHI N, KOBAYASHI M, *et al.* A rice calcium-dependent protein kinase OsCPK12 oppositely modulates salt-stress tolerance and blast disease resistance[J]. *Plant J.*, 2012, **69**(1): 26–36.
- [50] WEINL S, KUDLA J. The CBL-CIPK  $\text{Ca}^{2+}$ -decoding network: function and perspectives[J]. *New Phytol.*, 2009, **184**(3): 517–528.
- [51] XU J, LI H D, CHEN L Q, *et al.* A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates  $\text{K}^{+}$  transporter AKT1 in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 2006, **125**(7): 1 347–1 360.
- [52] REN X L, QI G N, FENG H Q, *et al.* Calcineurin B-like protein CBL10 directly interacts with AKT1 and modulates  $\text{K}^{+}$  homeostasis in

- Arabidopsis*[J]. *Plant J.*, 2013, **74**(2): 258—266.
- [53] HELD K, PASCAUD F, ECKERT C, *et al.* Calcium-dependent modulation and plasma membrane targeting of the AKT2 potassium channel by the CBL4/CIPK6 calcium sensor/protein kinase complex[J]. *Cell Res.*, 2011, **21**(7): 116—1130.
- [54] DRERUP M M, SCHLÜCKING K, HASHIMOTO K, *et al.* The calcineurin B-Like calcium sensors CBL1 and CBL9 together with their interacting protein kinase CIPK26 regulate the *Arabidopsis* NADPH oxidase RBOHF[J]. *Mol. Plant*, 2013, **6**(2): 559—569.
- [55] KIM TH, BÖHMER M, HU H, NISHIMURA N, *et al.* Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> signaling[J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2010, **61**: 561—591.
- [56] PEI Z M, MURATA Y, BENNING G, *et al.* Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells[J]. *Nature*, 2000, **406**: 731—734.
- [57] LÜ D(吕东), ZHANG X(张骁), JIANG J(江静), *et al.* NO may function in the downstream of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in ABA-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*(植物生理与分子生物学学报), 2005, **31**(1): 62—70 (in Chinese).
- [58] NEILL S J, DESIKAN R, CLARKE A, *et al.* Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells[J]. *Plant Physiol.*, 2002, **128**(1): 13—16.
- [59] DUBOVSKAYA L V, BAKAKINA Y S, KOLESNEVA E V, *et al.* cGMP-dependent ABA-induced stomatal closure in the ABA-insensitive *Arabidopsis* mutant *abi1-1*[J]. *New Phytol.*, 2011, **191**(1): 57—69.
- [60] WANG CH T, SONG W. Calcium-dependent protein kinase gene *ZmCPK12* from maize confers tolerance to drought and salt stresses in transgenic plants[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, **35**(5): 1659—1666.
- [61] ROYCHOUDHURY A, PAUL S, BASU S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress[J]. *Plant Cell Rep.*, 2013, **32**(7): 985—1006.
- [62] NIEVES-CORDONES M, CABALLERO F, MARTÍNEZ V, *et al.* Disruption of the *Arabidopsis thaliana* inward-rectifier K<sup>+</sup> channel AKT1 improves plant responses to water stress[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2012, **53**(2): 423—432.
- [63] XIONG L M, SCHUMAKER K S, ZHU J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. *Plant Cell*, 2002, **14**: 165—183.
- [64] XU Z Z, ZHOU G S. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass[J]. *J. Exp. Bot.*, 2008, **59**(12): 3317—3325.
- [65] YOO C Y, PENCE H E, JIN J B, *et al.* The *Arabidopsis* GTL1 transcription factor regulates water use efficiency and drought tolerance by modulating stomatal density via transrepression of SDD1[J]. *Plant Cell*, 2010, **22**(12): 4128—4141.
- [66] WENG H, YOO C Y, GOSNEY M J, *et al.* Poplar GTL1 is a Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-binding transcription factor that functions in plant water use efficiency and drought tolerance[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e32925.
- [67] ALLEVA K, NIEMIETZ C M, SUTKA M, *et al.* Plasma membrane of *Beta vulgaris* storage root shows high water channel activity regulated by cytoplasmic pH and a dual range of calcium concentrations[J]. *J. Exp. Bot.*, 2006, **57**(3): 609—621.
- [68] WU Y, LIU X F, WANG W F, *et al.* Calcium regulates the cell-to-cell water flow pathway in maize roots during variable water conditions [J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 2012, **58**: 212—219.
- [69] GILLIHAM M, DAYOD M, HOCKING B J, *et al.* Calcium delivery and storage in plant leaves: exploring the link with water flow[J]. *J. Exp. Bot.*, 2011, **62**(7): 2233—2250.
- [70] ZHANG CH M(张春梅), ZOU ZH R(邹志荣), HUANG ZH(黄志), *et al.* Effects of calcium and calmodulin antagonist W7 on antioxidant systems of roots of tomato seedlings under drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*(干旱地区农业研究), 2009, **27**: 111—115 (in Chinese).
- [71] SANG J, ZHANG A, LIN F, *et al.* Cross-talk between calcium-calmodulin and nitric oxide in abscisic acid signaling in leaves of maize plants[J]. *Cell Res.*, 2008, **18**(5): 577—588.
- [72] HUDA K M K, BANU M S A, PATHI K M, *et al.* Reproductive organ and vascular specific promoter of the rice plasma membrane Ca<sup>2+</sup> ATPase mediates environmental stress responses in plants[J]. *PLOS One*, 2013, **8**: e57803.
- [73] ZHU X H, FENG Y, LIANG G M, *et al.* Aequorin-based luminescence imaging reveals stimulus- and tissue-specific Ca<sup>2+</sup> dynamics in *Arabidopsis* plants[J]. *Mol. Plant*, 2013, **6**(2): 444—455.
- [74] JI F T(姬飞腾), LI N(李楠), DENG X(邓馨). Calcium contents and high calcium adaptation of plants in Karst areas of China[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*(植物生态学报), 2009, **33**: 926—935 (in Chinese).