

# ABA 诱导的玉米保卫细胞胞质钙离子浓度的变化

刘子会, 张红梅, 郭秀林

(河北省农林科学院遗传生理研究所/河北省植物转基因中心, 石家庄 050051)

**摘要:**【目的】以玉米第二真叶下表皮为材料, 研究 ABA 诱导的保卫细胞胞质  $Ca^{2+}$  浓度的变化, 并探讨  $Ca^{2+}$  来源。【方法】通过数字激光共聚焦显微镜测定 ABA 诱导的胞质钙离子浓度变化, 并通过异搏啉、EGTA[乙二醇双(2-氨基)乙基醚-N,N',N',N'四乙酸]药理实验探讨钙离子的来源。【结果】ABA 不能诱导所有的保卫细胞胞质钙离子浓度的增加, 而可被 ABA 诱导的保卫细胞中又表现了不同的钙离子浓度变化形式。异搏啉预处理后, 不能改变保卫细胞对 ABA 的反应, 但 EGTA 预处理, 则抑制了 ABA 诱导的胞质钙离子浓度升高。此外, 气孔运动观察结果显示: ABA 可以明显的诱导气孔关闭, 但 EGTA、异搏啉的预处理延缓了 ABA 诱导的气孔关闭速度。【结论】ABA 作用下, 保卫细胞胞质  $Ca^{2+}$  浓度或不发生变化, 或持续高浓度, 或发生逐渐升高, 形成不同的钙信号, 最终造成气孔不同步关闭; ABA 诱导的胞质钙离子升高主要源自胞外钙离子内流。

关键词: ABA; 胞质钙离子; 玉米

## Fluctuation of Cytosolic Calcium in Maize Guard Cell Pairs Induced by ABA

LIU Zi-hui, ZHANG Hong-mei, GUO Xiu-lin

(Institute of Genetic and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences/Plant Genetic Engineering Center of Hebei Province, Shijiazhuang 050051)

**Abstract:** 【Objective】The change of cytosolic calcium concentration induced by ABA and the origin of calcium in maize pre-treated with EGTA and verapamil are measured. 【Method】The changes of cytosolic calcium concentration were studied by confocal laser scanning microscopy, and the origin of calcium using EGTA or verapamil. 【Result】The addition of  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA to guard cells did not elicit the increase, or gradual increase or sustained increase in  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ , and showed that the guard cells displayed different sensitivity in response to ABA. Compared with ABA trials, ABA elicits no different reactions after pretreated with verapamil for 30 min, but the elevation of  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  was suppressed after pretreated with EGTA. At the same time, the result of stomatal movements showed that ABA may obviously induce the closure of the stoma, and pre-treated with EGTA or verapamil, closure of the stoma induced by ABA was delayed. 【Conclusion】The various change of cytosolic calcium induced by ABA caused the asynchronous closure of stoma, and the increase of cytosolic calcium was mainly the result of influx of calcium.

Key words: ABA; Cytosolic calcium; Maize

## 0 引言

【研究意义】在植物体内,  $Ca^{2+}$  作为第二信使参与了许多环境刺激引起的信号转导, 目前已经发现多种刺激因素, 如机械刺激、低温、红光、植物激素、真菌激发子、缺氧和水分胁迫等, 作用于不同的植物细胞, 最初的反应几乎都是首先引起胞内  $Ca^{2+}$  浓度变

化<sup>[1]</sup>。【前人研究进展】植物细胞内,  $Ca^{2+}$  分布是不均匀的, 静息细胞的  $Ca^{2+}$  浓度保持在  $30 \sim 200 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 处于一种比较稳定状态。细胞质内  $Ca^{2+}$  浓度较低, 小于或等于  $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 而细胞壁、内质网和液泡中  $Ca^{2+}$  浓度要比胞质高 2 个数量级以上 (液泡  $Ca^{2+}$  浓度为  $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、质外体  $Ca^{2+}$  浓度为  $10^{-4} \sim 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。这些部位或细胞器称为细胞的钙库, 胞外

收稿日期: 2006-09-08; 接受日期: 2006-11-25

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2007000994, C200600727)

作者简介: 刘子会 (1978-) 女, 河北枣强人, 硕士, 研究方向为植物抗逆生理学。Tel: 0311-87652128; E-mail: liuzihui1978@sohu.com。通讯作者 郭秀林 (1970-) 女, 河北康保人, 研究员, 博士, 研究方向为植物抗逆生理与遗传分子生物学。Tel: 0311-87652128; E-mail: myhf2002@yahoo.com.cn

钙库是细胞壁,胞内钙库包括液泡、内质网、线粒体等。研究表明:细胞受刺激后,胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度有一个短暂的、明显的升高<sup>[2]</sup>。胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增加,来源于胞外和胞内钙库,胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  可以顺化学势梯度通过质膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道进入细胞质,胞内  $\text{Ca}^{2+}$  也同样可通过内膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道进入胞质。【本研究切入点】植物细胞在如此众多因素刺激下,都使用细胞内钙离子作为第二信使,调节植物生长、发育、抗逆等生理反应。为什么这种简单的离子变化能够调控如此多的生理反应?对于干旱信号 ABA 的刺激,胞质钙离子又是如何反应的呢?【拟解决的关键问题】笔者以玉米为材料,通过数字激光共聚焦显微镜对保卫细胞胞质钙离子浓度变化的跟踪测定,试图进一步揭示 ABA 在引起保卫细胞气孔关闭过程中的胞质钙离子变化特征,同时对钙离子来源进行初步探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 玉米 (*Zea mays* L.) 杂交种郑单 958。

1.1.2 玉米幼苗的培养 选取籽粒饱满的种子,用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 10 min,自来水反复冲洗,浸种 24 h 后置于 28℃ 恒温培养箱中催芽。芽长至 1 cm 时播种于蛭石中,第二真叶完全伸展时取样。

### 1.2 方法

1.2.1 气孔开度的测定 撕取叶片下表皮,用毛笔轻轻刷去残存的叶肉细胞,在 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl (10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH 6.1) 溶液中照光 90 min,使气孔完全开放,再转入 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 或 ABA+EGTA, ABA+异搏啉 (10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH 6.1) 溶液中,在室内光照条件下,于处理 1 h 后观察、测量孔径;每个表皮条取 5 个视野,每个视野测量 10 个气孔的孔径。实验重复 3 次,取平均值。

1.2.2 荧光染料的负载 选取生长良好的玉米第二真叶,置于 MES 缓冲液中照光 2 h,使气孔开放。撕取下表皮,置于 MES 缓冲液中,加入 fluo-3 AM (molecular probes 产品,无水 DMSO 配母液) 使终浓度达 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,在 4℃ 细胞壁酯酶活性很低的情况下,黑暗孵育 2 h 左右。

1.2.3 测量保卫细胞  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  过程中的药剂处理方法 孵育好的表皮条处理方法:(1)直接加入 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理;(2)在 2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EGTA 溶液(10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl, pH 6.1) 中避光放置 30 min,

再用 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理;(3)在 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  异搏啉 (10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl, pH 6.1) 中避光放置 30 min,再用 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理。

1.2.4 数字离子测定仪记录玉米保卫细胞胞质  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的变化 处理好的表皮条置于显微镜下观察,荧光镜下找到视野,用数字离子测定仪扫描,波长 484 nm 激发,冷 CCD 接收,在 Time course 下记录不同区域的荧光变化图像及数据。待扫出平稳曲线后(100 s 左右),加入药剂处理,继续记录荧光变化图像及数据。用 Excel 进行数据处理,作曲线图(每个处理至少 10 次重复)。

## 2 结果与分析

### 2.1 ABA 诱导的气孔孔径的变化

ABA 能够诱导气孔关闭已经被众多试验所证实。笔者的试验中以 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理玉米表皮时,60 min 后,与对照相比,ABA 处理过的气孔孔径平均为对照的 10% (图 1),但气孔孔径的变化并不是一致的,统计显示,约 85% 气孔完全关闭,约 12% 气孔孔径变小,接近 3% 的气孔孔径无变化。

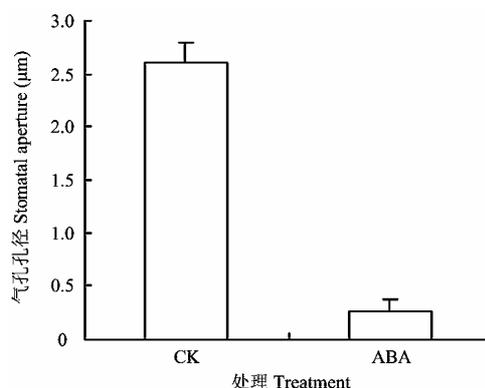


图 1 ABA 诱导的玉米气孔关闭

Fig. 1 Closure of stoma in maize induced by ABA

由图 2 可以看出,EGTA+ABA,异搏啉+ABA 处理玉米表皮后,都使气孔孔径变小,但与 ABA 处理结果相比,EGTA+ABA、异搏啉+ABA 处理减缓了气孔的关闭速度,处理 1 h 后,EGTA+ABA、异搏啉+ABA 处理的气孔平均孔径分别是 ABA 处理后孔径的 2 倍和 1.5 倍。这说明  $\text{Ca}^{2+}$  (EGTA 可以螯合质外体的  $\text{Ca}^{2+}$ ,异搏啉是质膜钙通道的抑制剂,影响  $\text{Ca}^{2+}$  的内流) 在 ABA 诱导气孔关闭中具有一定的作用。

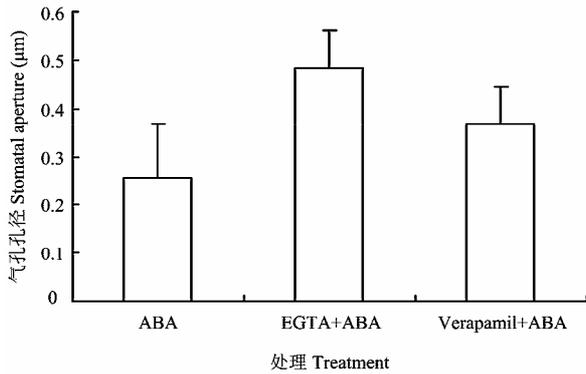


图 2 EGTA、异搏啉抑制了 ABA 诱导的气孔关闭

Fig. 2 EGTA, verapamil suppressed the closure of stoma induced by ABA

## 2.2 保卫细胞 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 的变化

2.2.1 正常状态下保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化 将装载了 fluo-3 AM 的表皮条置于载玻片上, 在数字激光共聚焦下观察保卫细胞的荧光变化。在 10 min 之内玉米保卫细胞相对荧光强度稳定, 相对荧光强度变化仅发生在  $\pm 5\%$  范围内 (图 3); 图 7-I 显示了保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化过程中荧光变化图像。这说明在无外界刺激时保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  相对稳定。

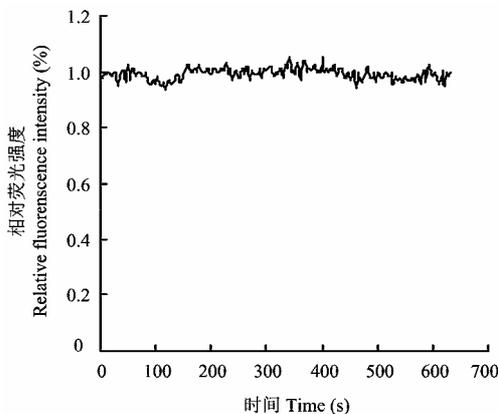
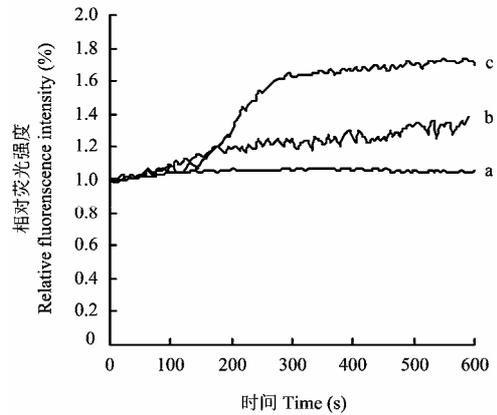


图 3 正常状态下保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的动态变化曲线

Fig. 3 Dynamic curve of  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in guard cells in natural condition

2.2.2 ABA 处理后保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化 加入 ABA 观察测定。观察发现, 加入  $3 \mu\text{l}$  ABA 处理保卫细胞后, 少数保卫细胞荧光强度不发生变化, 大部分细胞荧光强度明显变强; 相对荧光强度数据分析表明, 约有 13%

的保卫细胞荧光强度在加入 ABA 后无明显的反应 (图 4-a); 87% 的保卫细胞荧光强度有明显的变化, 而这些保卫细胞对 ABA 的反应又表现出不同的特性, 一部分细胞在 ABA 处理后, 相对荧光强度迅速升高, 200 s 后相对荧光强度达到 163%, 600 s 内能维持此荧光强度; 另一部分细胞在 ABA 处理后, 相对荧光强度则逐渐缓慢升高, 600 s 内荧光强度达到 124%。这些结果暗示: 玉米下表皮不同的保卫细胞对 ABA 的敏感性存在差异, ABA 诱导的保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化呈现多样性 (图 4-b, c, 图 7-II)。



a: ABA 未引起保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化; b: ABA 引起保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  逐渐的升高; c: ABA 引起保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  持续的升高  
a: The addition of ABA to guard cell pairs elicits no increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ; b: The addition of ABA to guard cell pairs elicits a gradual increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ; c: The addition of ABA to guard cell pairs elicits a sustained increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$

图 4  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理后保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化

Fig. 4  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  changes in guard cell pairs challenged with  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA

2.2.3 钙通道抑制剂异搏啉对保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的影响 异搏啉为  $Ca^{2+}$  通道的抑制剂, 一般应用此抑制剂处理细胞来观察胞质钙离子升高过程中是否存在钙离子内流问题。本试验中异搏啉预处理玉米表皮条后, 荧光强度图像显示, ABA 仍能诱导保卫细胞的荧光强度增强, 与单独 ABA 处理结果相同 (图 7-III); 相对荧光强度数据结果显示, 异搏啉预处理后, ABA 诱导的保卫细胞相对荧光强度的变化仍存在 3 种形式:

(a) 少数保卫细胞荧光强度无明显变化, 仅有微小振荡; (b) 加入 ABA 后, 300 s 内相对荧光强度达到 122%, 并且 600 s 内能够维持此荧光强度; (c) 加入 ABA 后, 荧光强度逐渐升高, 600 s 内相对荧光强度

达到 132% (图 5)。这些结果说明: 异搏啶预处理未影响到 ABA 诱导的保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化形式, 但却造成其  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的升幅减小。

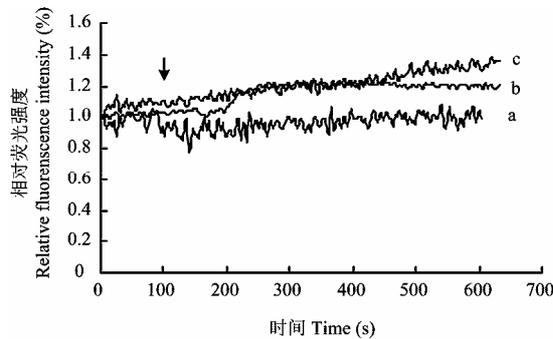


图 5 异搏啶预处理 30 min 后 ABA 诱导保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化  
 Fig. 5 ABA elicits  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  change in guard cell pairs after pretreated with verapamil for 30 min

a: 异搏啶预处理后, ABA 未引起保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化; b: 异搏啶预处理后, ABA 引起保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  持续的升高; c: 异搏啶预处理后, ABA 引起保卫细胞胞质  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  逐渐的升高

a: ABA elicits no increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in guard cell pairs after pretreated with verapamil for 30 min; b: ABA elicits a sustained increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in guard cell pairs after pretreated with verapamil for 30 min; c: ABA elicits a gradual increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in guard cell pairs after pretreated with verapamil for 30 min

2.2.4 EGTA 对保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的影响 EGTA 作为二价阳离子的螯合剂, 可以很好的螯合细胞壁及质外体的钙离子。当用 ABA 处理表皮条时, 可使保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  增加, 但是 ABA 处理以前, 用 EGTA 预处理玉米表皮条 30 min, ABA 诱导的保卫细胞荧光强度增加完全被抑制, 其荧光强度变化曲线近乎一条直线 (图 6, 图 7-IV)。这说明 EGTA 螯合了胞外钙离子, ABA 引起的保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高受到抑制, 暗示  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高过程中钙离子可能主要来源于胞外。

### 3 讨论

#### 3.1 ABA 诱导的气孔关闭与保卫细胞 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 升高

钙离子作为第二信使, 在植物细胞中调控着许多生理过程, 如气孔关闭、植物趋向性生长、花粉管生长、某些基因的表达及一些依赖钙离子的酶的活性变化。本试验中,  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理后, 保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  对其反应出不同的敏感性: 部分细胞对 ABA 不敏感, 而对 ABA 敏感的保卫细胞中, 其  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化又表现出不同的动态曲线。在气孔运动观察过程中,

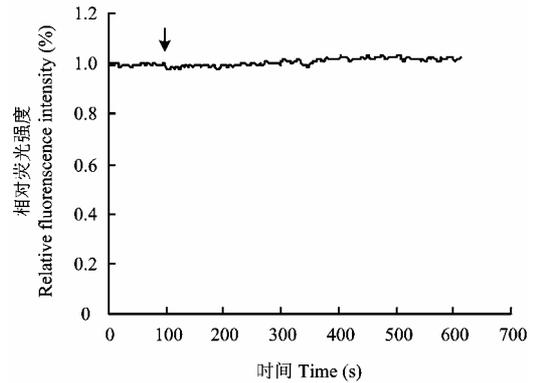


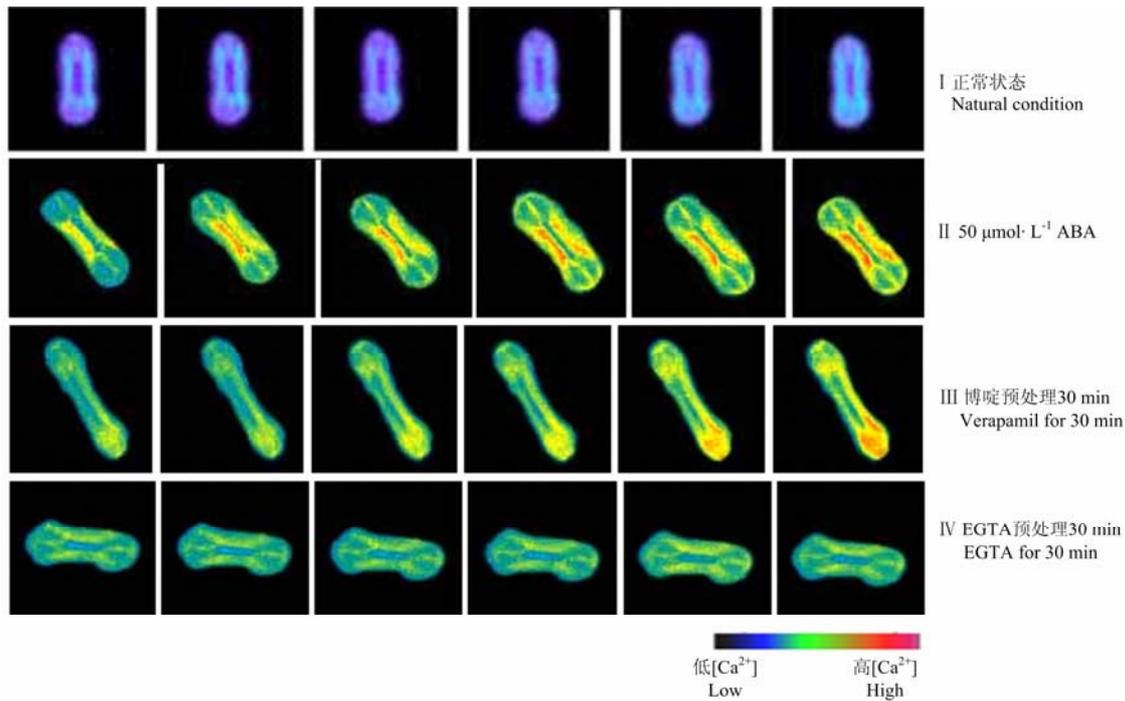
图 6 EGTA 预处理 30 min 后 ABA 不能诱导保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的升高  
 Fig. 6 ABA elicits no increase in  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  of guard cell pairs after pretreated with EGTA for 30 min

不同的气孔对 ABA 的反应也表现出不同, ABA 处理后, 大部分气孔关闭, 少数气孔仍然开放。McAinsh 在 1990 年就已证实保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高先于 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[3]</sup>。那么这就暗示: 不同保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  对 ABA 的不同变化模式可能造成了气孔对 ABA 反应的差异, ABA 处理后,  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  无明显变化的保卫细胞, 气孔不关闭; ABA 处理后,  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高 (无论哪种形式的升高), 气孔关闭。对于同一刺激为什么植物会表现出不同的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化呢?

Trewavas 的解释是: 叶片上的保卫细胞不是同步发育完成的, 每一个保卫细胞发生的时间, 以及在发育过程中遇到的外界环境都与其它细胞不同, 所以每个成熟的气孔保卫细胞都含有其独有的信号转导蛋白组成方式, 并采用其特有的方式感受外界刺激, 并作出反应。因而, 即使同一刺激笔者也可以看到不同的  $Ca^{2+}$  信号。虽然在某些气孔保卫细胞内 ABA 不能诱导钙信号的产生, 但是这些细胞并不是终生不会产生, 它们将最终“学会”使用钙信号, 并“记住”如何对付外界的环境变化, 产生相应的钙信号, 即在细胞发育过程中乃至成熟之后, 细胞状态总是随着外界环境条件的改变, 被迫进入新的、使用钙信号的状态, 以提供充足的信息, 激发气孔关闭<sup>[4]</sup>。

#### 3.2 ABA 诱导 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 变化过程中 $Ca^{2+}$ 的来源

$Ca^{2+}$  信号可以直接由胞外钙离子内流产生, 也可由胞内钙库释放产生, 还可以两方面共同作用形成  $Ca^{2+}$  信号。目前研究中, 探索  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高的  $Ca^{2+}$  来源问题, 人们大多选用药理学试验。目前试验中花粉管

图 7 保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  荧光变化图像Fig. 7 Image of  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in guard cell pairs

(Franklin-Tong) 的生长<sup>[5]</sup>, 缺氧<sup>[6]</sup>、冷击<sup>[7]</sup>过程中的胞质  $Ca^{2+}$  变化主要是胞内  $Ca^{2+}$  库的  $Ca^{2+}$  释放。而在目前为止的植物防卫反应中, 所有的试验结果则都表明胞外钙离子发挥了重要作用。比如, 大豆<sup>[8]</sup>、胡萝卜<sup>[9]</sup>和烟草<sup>[10]</sup>中, 胞外钙离子的降低, 使植保素合成受到部分抑制。而在冷刺激、干旱、缺氧和盐胁迫的条件下诱发的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的升高, 主要来源是胞外钙离子内流和胞内钙库钙离子的释放共同作用造成的<sup>[7,11~14]</sup>。现在由于膜片钳技术的发展, 人们可以更直接的检测质膜钙通道的电流特征, 更深入的研究钙信号产生、调控<sup>[15~17]</sup>。

本文试验结果表明, 当用  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 处理玉米下表皮保卫细胞时, 可诱导大多数保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高。异搏啉预处理 30 min 后, ABA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高仍能发生, 与未用异搏啉处理过的 ABA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  相比,  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化形式未变, 但升高幅度却有降低。对此存在两种可能性: ABA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高,  $Ca^{2+}$  可能来源于胞内钙库的  $Ca^{2+}$  释放, 或质膜钙通道对异搏啉不敏感, 因而异搏啉不能完全抑制胞外  $Ca^{2+}$  的内流。对此又以  $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EGTA 预处理玉米表皮条 30 min 进一步试验, 结果显示, EGTA 抑制了 ABA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高, 这暗示 ABA 诱导

的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高可能主要是胞外钙离子内流造成的, 同时也间接说明质膜钙通道对异搏啉不敏感, 因而还需进一步研究 (其它钙通道试剂或膜片钳技术), 但本文的试验结果可以初步断定:  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高主要源于胞外钙离子的内流。这虽与 Wood 的报道结果不同<sup>[18]</sup>, 但由于  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  产生的复杂性, 也许 ABA 浓度的不同或者试验材料的不同都会造成保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  变化时钙离子来源和动态变化的不同。

## 4 结论

ABA 诱导下, 约 13% 玉米保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  不发生变化, 约 87% 的保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  发生了变化, 但保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的变化表现出持续高钙离子浓度和逐渐升高钙离子浓度两种形式; 正是由于 ABA 诱导的保卫细胞  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的多种变化形式, 产生了不同的“钙信号”, 最终造成了 ABA 处理下气孔的不同步关闭; 同时, ABA 诱导的  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  升高过程中钙离子可能主要来源于细胞外。

## References

- [1] Bush D S. Regulation of cytosolic calcium in plants. *Plant Physiology*,

- 1993, 103(1): 7-13.
- [2] 潘瑞炽. 植物生理学(第 4 版). 北京: 高等教育出版社, 2001: 162-165.
- Pan R Z. *Plant Physiology* (4th edition). Beijing: Higher Education Press, 2001: 162-165. (in Chinese)
- [3] McAinsh M R, Brownlee C, Hetherington A M. Abscisic acid-induced elevation of guard cell cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  precedes stomata closure. *Nature*, 1990, 343: 186-189.
- [4] Trewavas A J, Malho R. Signal perception and transduction: The origin of the phenotype. *The Plant Cell*, 1997, 9: 1181-1195.
- [5] Franklin-Tong V E, Drobak B K, Allan A C, Watkins P, Trewavas A J. Growth of pollen tubes of *Papaver rhoeas* is regulated by a slow-moving calcium wave propagated by inositol 1,4,5-triphosphate. *The Plant Cell*, 1996, 8: 1305-1321.
- [6] Chalivendra C S, Douglas S B, Martin M S. Mitochondrial contribution to the anoxic  $\text{Ca}^{2+}$  signal in maize suspension-cultured cells. *The Plant Cell*, 1998, 118: 759-771.
- [7] Knight H, Trewavas A J, Knight M R. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *The Plant Cell*, 1996, 8: 489-503.
- [8] Stab M R, Ebel J. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on phytoalexin induction by fungal elicitor in soybean cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1987, 257: 416-423.
- [9] Kurosaki F, Tsurusawa Y, Nishi A. Breakdown of phosphatidylinositol during the elicitation of phytoalexin production in cultured carrot cells. *Plant Physiology*, 1987, 85(3): 601-604.
- [10] Tavernier E, Wendehenne D, Blein J P, Pugin A. Involvement of free calcium in action of cryptogein, a proteinaceous elicitor of hypersensitive response in tobacco cells. *Plant Physiology*, 2001, 125: 564-572.
- [11] McAinsh M R, Webb A, Taylor J E, Hetherington A M. Stimulus-induced oscillations in guard cell cytosolic free calcium. *The Plant Cell*, 1995, 7: 1207-1219.
- [12] Subbaiah C C, Bush D S, Sachs M M. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension-cultured cells. *The Plant Cell*, 1994, 6: 1747-1762.
- [13] Haley A, Russel A J, Wood N, Allan A C, Knight M, Campbell A K, Trewavas A J. Effects of mechanical signaling on plant cell cytosolic calcium. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1995, 92: 4124-4128.
- [14] Knight H, Trewavas A J, Knight M R. Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 1997, 12: 1067-1078.
- [15] Shang Z L, Ma L G, Zhang H L, He R R, Wang X C, Cui S J, Sun D Y.  $\text{Ca}^{2+}$  influx into lily pollen grains through a hyperpolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channel which can be regulated by extracellular CaM. *Plant & Cell Physiology*, 2005, 46(4): 598-608.
- [16] Wang Y F, Fan L M, Zhang W Z, Zhang W, Wu W H.  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels in the plasma membrane of *Arabidopsis* pollen are regulated by actin microfilaments. *Plant Physiology*, 2004, 136(4): 3892-3904.
- [17] Very A A, Davies J M. Hyperpolarization-activated calcium channels at the tip of *Arabidopsis* root hairs. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 2000, 97(17): 9801-9806.
- [18] Wood N T, Allan A C, Haley A, Viry-Moussad M, Trewavas A J. The characterization of differential Calcium signaling in tobacco guard cells. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2000, 24(3): 335-344.

(责任编辑 王 莉, 孙雷心)