

G蛋白位于H₂O₂上游参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程

张丹丹, 车永梅, 侯丽霞, 赵方贵, 刘新*

山东省高校植物生物技术重点实验室, 青岛农业大学生命科学院, 山东青岛266109

摘要: 硫化氢(H₂S)可诱导拟南芥气孔关闭。本文以拟南芥野生型及其G蛋白α亚基缺失突变体(*Atgpa1-3*、*Atgpa1-4*)和β亚基缺失突变体(*Atagbl-1*、*Atagbl-2*)为材料, 研究了G蛋白在H₂S诱导拟南芥气孔关闭中的作用及其与H₂O₂的关系。结果表明, H₂S可诱导野生型拟南芥气孔关闭及G蛋白α亚基(GPA)和β亚基(AGB)基因表达量增加, 但对*Atgpa1-3*、*Atgpa1-4*、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*叶片气孔运动无显著影响; G蛋白激活剂霍乱毒素(CTX)增强H₂S诱导拟南芥气孔关闭的作用, 而其抑制剂百日咳毒素(PTX)能够阻断H₂S的诱导作用, 表明G蛋白参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程。同时, H₂S诱导野生型拟南芥叶片及气孔保卫细胞H₂O₂含量升高, 但对*Atgpa1-3*、*Atgpa1-4*、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*无显著作用。CTX促进拟南芥叶片及气孔保卫细胞中H₂O₂积累, 而PTX抑制H₂S引起的拟南芥叶片及气孔保卫细胞中H₂O₂含量的升高。由此说明, G蛋白位于H₂O₂上游参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程。

关键词: G蛋白; 硫化氢; 过氧化氢; 气孔关闭

G-Protein Acts Upstream of H₂O₂ in Mediating H₂S-Induced Stomatal Closure in *Arabidopsis thaliana*

ZHANG Dan-Dan, CHE Yong-Mei, HOU Li-Xia, ZHAO Fang-Gui, LIU Xin*

Key Lab of Plant Biotechnology in Universities of Shandong Province, College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

Abstract: Hydrogen sulfide (H₂S) induces stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*, hydrogen peroxide (H₂O₂) plays an important part in this procedure. In this paper, *Arabidopsis* wide type and its α subunit deficient mutants (*Atgpa1-3* and *Atgpa1-4*) as well as β subunit deficient mutants (*Atagbl-1* and *Atagbl-2*) were used as materials, the effects of G-protein on H₂S-induced stomatal closure and the relationship between G-protein and H₂O₂ were investigated. The results showed that H₂S induced stomatal closure as well as the expression of G-protein α subunit (GPA) and β subunit (AGB) gens in leaves of *Arabidopsis* wild type, but had no significant effects on stomatal movement in *Atgpa1-3*, *Atgpa1-4*, *Atagbl-1* and *Atagbl-2* mutants. GPA activator cholera toxin (CTX) improved H₂S-induced stomatal closure, but its inhibitors pertussis toxin (PTX) showed the opposite effect. These results manifested that G-protein was an signaling intermediate in H₂S-induced stomatal closure. H₂S induced increase in H₂O₂ content in leaves and guard cells of *A. thaliana* wide type, but not in *Atgpa1-3*, *Atgpa1-4*, *Atagbl-1* and *Atagbl-2* mutants. CTX enhanced H₂O₂ content in leaves and guard cells of *Arabidopsis*, but its inhibitor PTX was opposite. From these data it could be deduced that G-protein acts upstream of H₂O₂ in mediating H₂S-induce stomatal closure in *Arabidopsis*.

Key words: G-protein; hydrogen sulfide; hydrogen peroxide; stomatal closure

气孔是植物与外界进行气体交换的门户, 植物体内的许多生理过程都受到气孔运动的制约。气孔对植物所处环境条件的变化和内部信号的刺激均有灵敏和准确的反应(高春娟等2012)。硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)是近年来被确认并受到广泛关注的植物内源气体信号分子, 参与植物生长发育和对逆境响应等多种生理过程的调节(Zhang等2009; Wang等2010), 亦是气孔运动信号转导过程中的重要信号组分, 与其他第二信使共同介导

了多种刺激调控的气孔运动。如, H₂S可能作为过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)的下游组分参与调控茉莉酸(jasmonic acid, JA)诱导的蚕豆气孔关

收稿 2012-12-06 修定 2013-01-22

资助 国家自然科学基金(30970228和31170237)、山东省自然科学基金(ZR2010CM024)和植物生理学与生物化学国家重点实验室开放课题(SKLPBKF11001)。

* 通讯作者(E-mail: liuxin6080@yahoo.com.cn; Tel: 0532-88030224)。

闭(侯智慧等2011), H₂S通过作用于ABC转运体参与脱落酸(abscisic acid, ABA)诱导的气孔关闭(García-Mata和Lamattina 2010)。业已证明, 一定浓度的H₂S供体NaHS能够诱导气孔关闭(叶青等2011; García-Mata和Lamattina 2010), 来源于NADPH氧化酶、细胞壁过氧化物酶和多胺氧化酶途径的H₂O₂参与这一信号转导过程(叶青等2011)。但目前对H₂S诱导气孔关闭的信号转导机制了解不甚清晰。

异源三聚体G蛋白(heterotrimeric G-protein)简称G蛋白, 在细胞跨膜信号转换中起重要作用, G蛋白由3种不同亚基(α 、 β 和 γ)组成, 当胞外信号被细胞表面的G蛋白偶联受体识别后, 通过G蛋白转换到膜内侧的效应酶, 通过效应酶产生多种第二信使, 从而把胞外的信号转换到胞内(Tuteja 2009)。大量研究显示G蛋白参与了植物对激素、光、生物和非生物胁迫等多种信号的响应(朱莺和黄继荣2010); 参与了多种刺激调控气孔运动的信号转导过程, 如UV-B辐射诱导拟南芥叶片气孔关闭过程(马鲜歌和贺军民2012); 以及ABA不能诱导拟南芥G蛋白 α 亚基缺失突变体(*Atgpa1*)和 β 亚基缺失突变体(*Atagb1*)的气孔关闭(Fan等2008)。有报道, 胞外钙调素通过激活G蛋白诱导H₂O₂、一氧化氮(nitric oxide, NO)产生以及胞内Ca²⁺浓度升高诱导气孔关闭(Chen等2004; Li等2009), 那么G蛋白是否参与了H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程? 它与H₂O₂之间是否存在相互作用? 目前尚未见报道。因此, 本文以拟南芥野生型及其G蛋白缺失突变体为材料, 研究G蛋白在H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程中的作用及其与H₂O₂之间的作用关系, 以期为进一步探究和完善气孔运动的信号转导机制提供实验证据。

材料与方法

1 实验材料和试剂

供试材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)野生型(生态型为Col-0) (购自美国拟南芥生物资源中心)和G蛋白 α 亚基缺失突变体(*Atgpa1-3*、*Atgpa1-4*)和 β 亚基缺失突变体(*Atagb1-1*、*Atagb1-2*) (山东大学张伟教授惠赠)。

拟南芥野生型及突变体种子经10% NaClO灭菌15 min, 无菌水冲洗5次后, 点种于无菌MS固体培养基, 4 °C条件下处理2~4 d, 打破休眠, 转入光照培养箱(22 °C, 16 h/8 h光周期)垂直生长约1周,

转入到培养土(市售花卉营养土)和蛭石(V/V=1:1)的混合培养介质中, 于光/暗周期16 h/8 h、温度18~22 °C、光照强度120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度70%下培养。取生长4~5周完全展开的拟南芥莲座叶供实验用。

H₂S供体硫氰化钠(sodium hydrosulfide, NaHS)、G蛋白激活剂霍乱毒素(cholera toxin, CTX)和抑制剂百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)、2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H₂DCF-DA)均购于Sigma (美国)公司, 其他药品均为国产分析纯。

2 实验材料处理

取培养4~5周生长良好的拟南芥野生型及其突变体完全展开的莲座叶为实验材料, 进行以下处理。

野生型拟南芥分别置于MES缓冲液(10 mmol·L⁻¹ Mes/KOH、0.1 mol·L⁻¹ CaCl₂、50 mmol·L⁻¹ KCl, pH 6.1), 以及用MES缓冲液配制的5种处理液(0.1 mmol·L⁻¹ H₂S、400 ng·mL⁻¹ CTX、400 ng·mL⁻¹ PTX、0.1 mmol·L⁻¹ H₂S+400 ng·mL⁻¹ CTX和0.1 mmol·L⁻¹ H₂S+400 ng·mL⁻¹ PTX)中, 于处理后30 min测定气孔开度和拟南芥叶片及保卫细胞内H₂O₂含量。G蛋白突变体(*Atgpa1-3*、*Atgpa1-4*、*Atagb1-1*和*Atagb1-2*)分别用MES缓冲液以及用MES缓冲液配制的0.1 mmol·L⁻¹ H₂S处理, 30 min后测定气孔开度和G蛋白突变体叶片及保卫细胞内H₂O₂含量。用0.1 mmol·L⁻¹ H₂S处理野生型拟南芥, 分别在处理0、5、15、30、60、120、240 min时测定G蛋白 α 亚基基因(*AtGPA*)和 β 亚基基因(*AtAGB*)表达量。以上均以MES缓冲液处理作为对照。

3 实验方法

3.1 气孔开度的测定

气孔开度的测定参照侯智慧等(2011)的方法。取生长良好的4~5周龄拟南芥完全展开的莲座叶, 光诱导使气孔张开。撕取其下表皮, 小心刷涂上面粘附的叶肉细胞, 切成0.5 cm×0.5 cm的小块, 用显微测微尺测量气孔的初始孔径, 然后分别置于含有不同处理液的MES缓冲液中, 在光下(光照强度200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)处理30 min, 记录终态孔径。测量时, 随机取3个视野, 每个视野内随机取10个气孔。

3.2 叶片和保卫细胞内H₂O₂含量的测定

取0.1 g处理过的拟南芥叶片进行H₂O₂含量测

定,具体操作参考Brennan和Frenkel (1977)的方法。

使用特异性荧光探针H₂DCF-DA检测保卫细胞内的H₂O₂ (刘国华等2009)。取生长良好的4~5周龄拟南芥完全展开的莲座叶,光诱导使气孔完全张开,撕取其下表皮,然后分别置于含有不同处理液的MES缓冲液中,处理后加入50 μmol·L⁻¹ H₂DCF-DA于25 °C下避光孵育20 min,完毕后用表皮条缓冲液冲洗3次,除去吸附的染料,在激光共聚焦扫描显微镜(Zeiss LSM 510 META)下进行扫描观察。用488 nm蓝光激发,发射波长为505~530 nm,在LSM 5 Image Browse软件包下获得拟南芥气孔保卫细胞中H₂O₂的静态分布图像。

3.3 荧光实时定量PCR检测

按照M-MLV反转录试剂盒说明书合成cDNA第一条链,作为模板,同时设立负对照。每次加样,每个模板重复3次。荧光实时定量PCR的程序为:95 °C 60 s; 95 °C 10 s, 58 °C 20 s, 72 °C 15 s, 40个循环; 溶解曲线从72 °C至99 °C,第1步维持45 s,以后每升高1 °C维持5 s。*GPA1*正向和反向引物序列分别为5' ACAGGCTGCTGAAATCGAAAG 3'和5' TGGCATGAATGACTGGAACATAG 3'。*AGB1*正向和反向引物序列分别为5' CCCAAATGAGGATGCCAC 3'和5' TGAAATTCACCGCCAAAACA 3'。*β-Actin*的正向和反向引物序列分别为5' GGTAACATTGTGCTCAGTGGTGG 3'和5' CACGACCTTAATCTTCATGCTGC 3'。溶解曲线法检测实时定量PCR产物的特异性,采用MyiQ software进行数据分析。

3.4 数据统计和分析

所有定量结果均为3次重复的平均值±标准误差。用DPS数据处理系统对测定结果进行方差分析。

实验结果

1 G蛋白参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭

1.1 G蛋白激活剂和抑制剂对H₂S诱导的拟南芥气孔运动的影响

图1显示, H₂S可以诱导拟南芥气孔关闭, G蛋白α亚基激活剂CTX单独处理或CTX+H₂S共处理均可有效促进拟南芥气孔关闭, 并且CTX+H₂S共处理对气孔关闭的诱导作用较H₂S单独处理作用更强, 而其抑制剂PTX可以显著抑制H₂S诱导的气

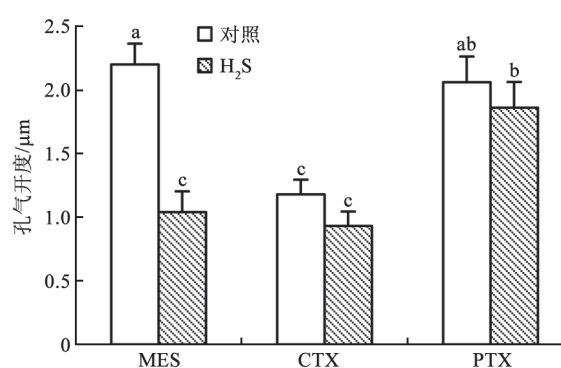


图1 G蛋白激活剂CTX和抑制剂PTX对H₂S诱导的拟南芥气孔运动的影响

Fig.1 Effects of G-protein activator CTX and inhibitor PTX on H₂S-induced stomatal movement in *Arabidopsis* 不同小写字母表示0.05水平的差异显著。下图同此。

孔关闭,初步说明G蛋白参与H₂S诱导的拟南芥气孔运动。

1.2 H₂S对G蛋白缺失突变体气孔运动的影响

从图2可以看出, H₂S诱导拟南芥野生型气孔关闭, 但对其G蛋白缺失突变体(*Atgpal-3*、*Atgpal-4*、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*)气孔开度无显著影响。这为G蛋白参与H₂S诱导的拟南芥气孔运动提供了遗传学的实验证据。

1.3 H₂S对拟南芥G蛋白α亚基(GPA)和β亚基(AGB)基因表达量的影响

图3表明, H₂S可以不同程度地诱导拟南芥叶片*AtGPA*和*AtAGB*表达量增加, 其中*AtGPA*在处理30 min时表达量达最高值, *AtAGB*表达量在处理15 min时达到最高值。综合以上实验结果表明, G蛋白参与H₂S诱导的气孔关闭。

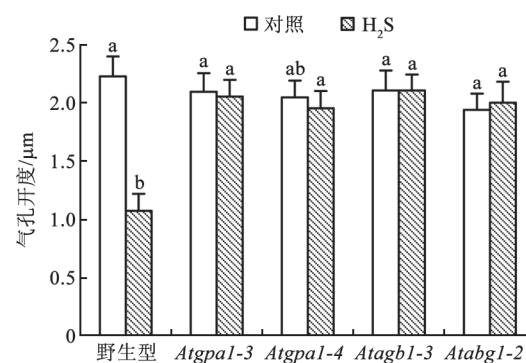


图2 H₂S对G蛋白缺失突变体叶片气孔运动的影响
Fig.2 Effects of H₂S on stomatal movement in leaves of G-protein deficient mutants

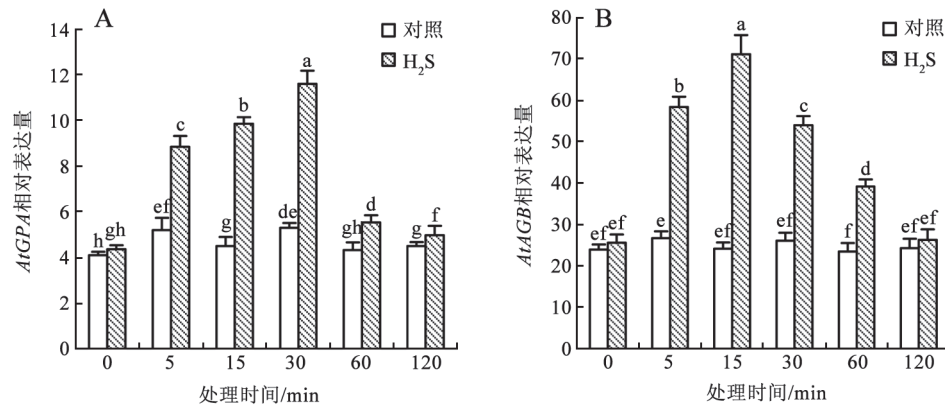


图3 H₂S对拟南芥G蛋白α亚基(GPA)和β亚基(AGB)基因表达量的影响

Fig.3 Effects of H₂S on expression of G-protein α subunit (GPA) and β subunit (AGB) gens in leaves of *Arabidopsis*

2 G蛋白位于H₂O₂上游参与H₂S诱导的拟南芥气孔运动

2.1 G蛋白激活剂CTX和抑制剂PTX对H₂S诱导的拟南芥叶片和气孔保卫细胞H₂O₂含量的影响

本实验室前期实验表明, H₂S处理30 min能够引起拟南芥叶片H₂O₂含量显著升高(叶青等2011)。当用G蛋白α亚基激活剂CTX单独处理或CTX+H₂S共处理均能引起拟南芥叶片(图4)及气孔保卫细胞(图6-A) H₂O₂含量的上升, 但其抑制剂PTX能够明显减弱H₂S对拟南芥叶片(图4)和气孔保卫细胞(图6-A) H₂O₂含量的诱导作用, 这从细胞水平进一步说明在H₂S诱导的拟南芥气孔运动中G蛋白可能位于H₂O₂的上游。

2.2 H₂S对拟南芥G蛋白缺失突变体叶片和气孔保卫细胞H₂O₂含量的影响

H₂S对拟南芥G蛋白缺失突变体(*Atgpal-3*、

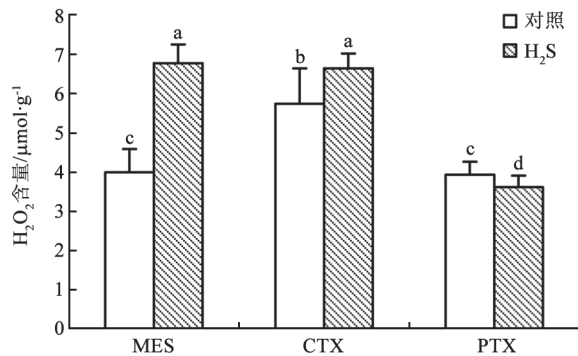


图4 G蛋白激活剂CTX和抑制剂PTX对H₂S诱导的拟南芥叶片H₂O₂含量的影响

Fig.4 Effects of G-protein activator CTX and inhibitor PTX on H₂S-induced H₂O₂ content in leaves of *Arabidopsis*

Atgpal-4、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*)叶片(图5)及气孔保卫细胞(图6-B)H₂O₂含量无显著作用, 这为证明在H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程中G蛋白位于H₂O₂的上游提供了遗传学和细胞生物学的证据。

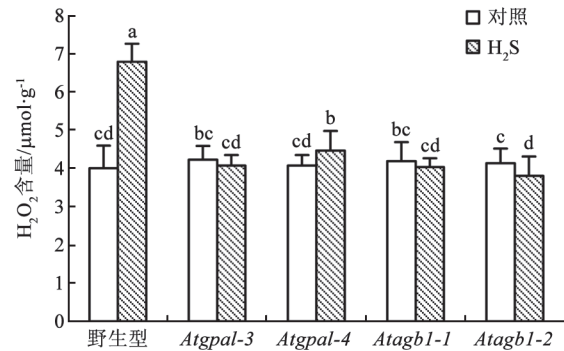
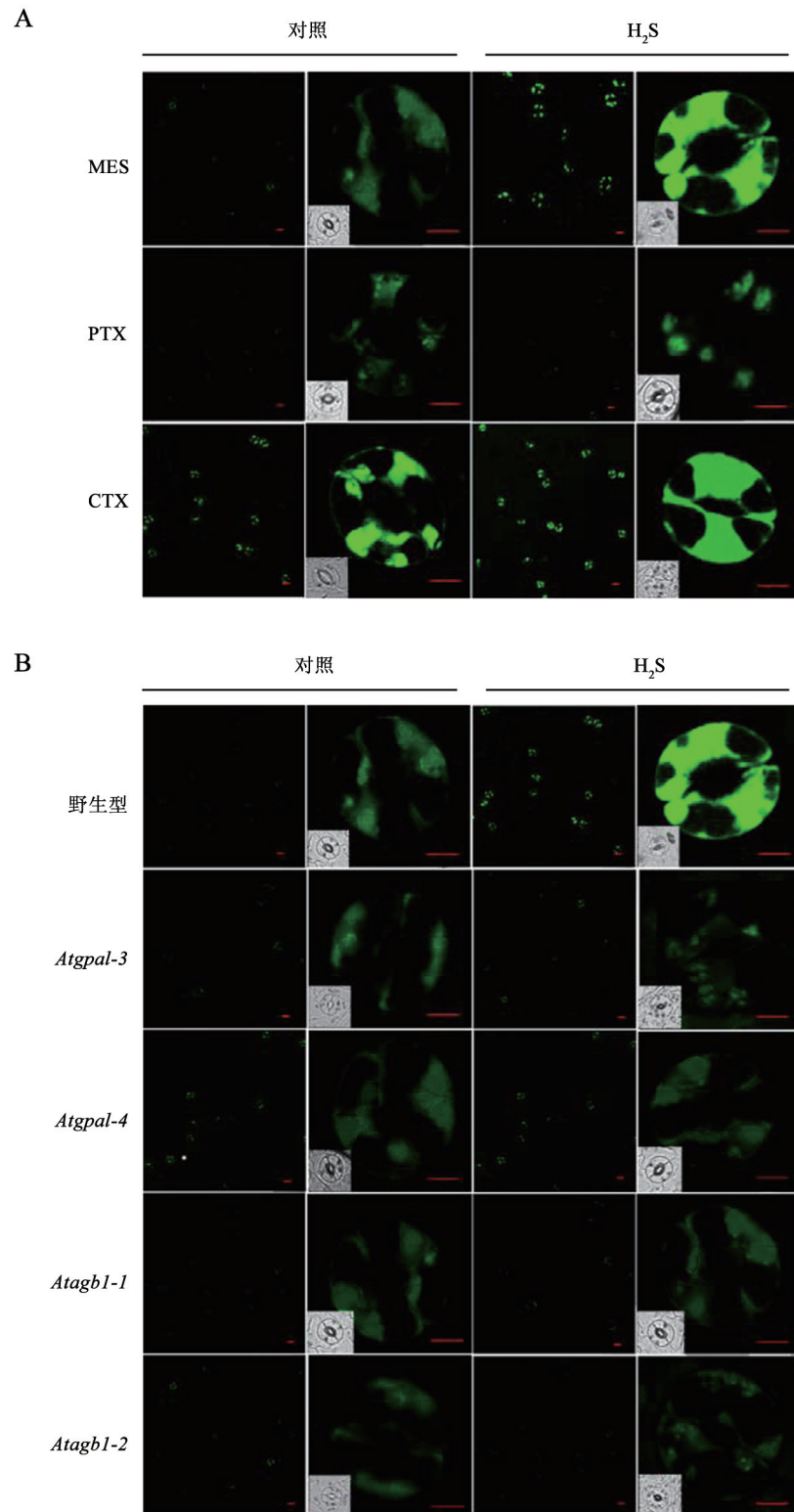


图5 H₂S对拟南芥G蛋白缺失突变体叶片H₂O₂含量的影响
Fig.5 Effects of H₂S on H₂O₂ content in leaves of G-protein deficient mutants

讨论

作为生物体内重要的气体信号分子, H₂S在动物中的作用及机制已有深入研究, 在植物中的研究报道相对较少, 但近年来H₂S在植物生命过程中的作用受到广泛关注。目前已有研究表明, H₂S参与干旱、ABA和乙烯等因素对气孔运动过程的调节(García-Mata和Lamattina 2010; 刘菁等2011; 王兰香等2012)。本实验室亦证明外源H₂S能够诱导拟南芥气孔关闭, 且来源于NADPH氧化酶、细胞壁过氧化物酶和多胺氧化酶途径的H₂O₂参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程(叶青等2011)。但介

图6 H₂S对拟南芥保卫细胞H₂O₂含量的影响Fig.6 Effect of H₂S on H₂O₂ content in guard cells of *Arabidopsis*

A: G蛋白激活剂CTX和抑制剂PTX对H₂S诱导的野生型拟南芥保卫细胞H₂O₂含量的影响; B: H₂S对G蛋白缺失突变体气孔保卫细胞胞质H₂O₂含量的影响。标尺=5 μm。

导外源H₂S跨膜的信号分组尚不清晰。业已证明G蛋白是植物细胞跨膜信号转换系统的重要成员,能够通过诱导H₂O₂、NO和Ca²⁺等胞内信号介导ABA、胞外钙调素等诱导的气孔运动过程(Zhang等2011; Chen等2004; Li等2009)。那么, G蛋白是否参与H₂S诱导的气孔关闭过程? 本文以拟南芥野生型和G蛋白α亚基缺失突变体(*Atgpal-3*和*Atgpal-4*)和β亚基缺失突变体(*Atagbl-1*和*Atagbl-2*)为材料的研究结果表明, H₂S可诱导野生型拟南芥气孔关闭及G蛋白α亚基(GPA)和β亚基(AGB)基因表达量增加,但对*Atgpal-3*、*Atgpal-4*、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*气孔运动无显著影响(图2和图3), G蛋白激活剂CTX促进H₂S诱导的拟南芥气孔关闭, 而其抑制剂PTX对此起抑制作用(图1), 表明G蛋白介导了H₂S诱导的拟南芥气孔关闭。

有报道, G蛋白介导了胞外ATP (extracellular ATP, eATP)、ABA、胞外钙调素(extracellular calmodulin, ExtCaM)等诱导的气孔运动过程, 并且G蛋白通过诱导H₂O₂产生进一步传递信息(Hao等2012; Zhang等2011; Li等2009)。在H₂S诱导气孔关闭过程的信号转导链中G蛋白与H₂O₂的关系怎样? 本文进一步研究表明, H₂S诱导野生型拟南芥叶片(图4)及气孔保卫细胞(图6)H₂O₂含量升高, 但对*Atgpal-3*、*Atgpal-4*、*Atagbl-1*和*Atagbl-2*无显著作用(图5和图6), GPA激活剂能够促进拟南芥叶片及气孔保卫细胞中H₂O₂积累, 但其抑制剂抑制H₂S诱导的拟南芥叶片(图4)及气孔保卫细胞(图6)中H₂O₂含量的升高, 这些结果表明G蛋白位于H₂O₂上游参与H₂S诱导的拟南芥气孔关闭过程。业已证明, H₂S通过作用于ABC转运体参与ABA诱导的气孔关闭(García-Mata和Lamattina 2010), 而ABA不能引起拟南芥G蛋白α亚基缺失突变体的气孔关闭(Fan等2008), 又有报道, 胞外CaM引起的气孔关闭是由异源三聚体G蛋白和H₂O₂介导(Chen等2004), eATP通过异源三聚体G蛋白α亚基和ROS调控气孔运动(Hao等2011)。由此看来, H₂S、eATP、ABA和胞外CaM等诱导气孔运动信号转导过程存在交叉特性, 气孔运动受控于一个复杂的信号传递网络。

在G蛋白介导的跨膜信号转换过程中, 胞外信号与质膜上的G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)结合通过活化下游效应酶诱导产

生胞内信号, 质膜上是否存在G蛋白偶联的H₂S受体? 双分子荧光互补实验研究表明, 在玉米细胞质膜或内质网膜上G蛋白α亚基GA3可与Ca²⁺结合蛋白clo3及磷酸肌醇特异性磷脂酶C发生相互作用(Khalil等2011); eATP和ABA通过G蛋白诱导H₂O₂依赖的Ca²⁺内流调控气孔运动(Hao等2012; Zhang等2011), 胞外CaM通过G蛋白诱导H₂O₂产生进而促进NO积累最总诱导气孔关闭(Li等2009), 在H₂S诱导的气孔关闭过程中是否存在类似机制? 是否有eATP和Ca²⁺-CaM的参与? 同时, 气孔运动与保卫细胞质膜H⁺-ATPases活动, 与K⁺等溶质进出保卫细胞有关, 胞外CaM可能通过G蛋白调控保卫细胞质膜H⁺-ATPases活性(Hao等2012), G蛋白α亚基缺失突变体(*gpal*)、β亚基缺失突变体(*agbl*)中ABA抑制K⁺内流通道和(或) pH非依赖ABA活化的阴离子通道的作用被取消, 气孔运动对ABA的敏感性消失(Wang等2001; Fan等2008)。那么, 在H₂S诱导的气孔关闭过程中, G蛋白和H₂O₂对质膜H⁺-ATPases活性和K⁺通道有无调节作用? 这些问题的进一步探究将有助于H₂S作用机制的完善。

参考文献

- 高春娟, 夏晓剑, 师恺, 周艳虹, 喻景权(2012). 植物气孔对全球环境变化的响应及其调控防御机制. 植物生理学报, 48 (1): 19~28
- 侯智慧, 刘菁, 侯丽霞, 李希东, 刘新(2011). H₂S可能作为H₂O₂的下游信号介导茉莉酸诱导的蚕豆气孔关闭. 植物学报, 46 (4): 396~406
- 刘国华, 侯丽霞, 刘菁, 刘新, 王学臣(2009). H₂O₂介导NO合成参与乙烯诱导的拟南芥叶片气孔关闭. 自然科学进展, 19 (8): 841~851
- 刘菁, 侯丽霞, 刘国华, 刘新, 王学臣(2011). NO介导的H₂S合成参与乙烯诱导的拟南芥气孔关闭. 科学通报, 56 (30): 2515~2522
- 朱莺, 黄继荣(2010). 植物异源三聚体G蛋白研究进展. 植物生理学通讯, 46 (4): 309~316
- 马鲜歌, 贺军民(2012). 异三聚体G蛋白在UV-B诱导拟南芥气孔关闭中的作用. 中国农业科学, 45 (5): 848~853
- 王兰香, 侯智慧, 侯丽霞, 赵方贵, 刘新(2012). H₂O₂介导的H₂S产生参与干旱诱导的拟南芥气孔关闭. 植物学报, 47 (3): 217~225
- 叶青, 侯智慧, 刘菁, 刘瑞清, 刘新(2011). H₂O₂介导H₂S诱导的拟南芥气孔关闭. 植物生理学报, 47 (12): 1195~1120
- Brennan T, Frenkel C (1977). Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. Plant Physiol, 59: 411~416
- Chen YL, Huang R, Xiao YM, Lü P, Chen J, Wang XC (2004). Extracellular calmodulin-induced stomatal closure is mediated by heterotrimeric G protein and H₂O₂. Plant Physiol, 136 (4): 4096~4103
- Fan LM, Zhang W, Chen JG, Taylor JP, Jones AM, Assmann SM (2008). Abscisic acid regulation of guard-cell K⁺ and anion chan-

- nels in Gbeta- and RGS-deficient *Arabidopsis* lines. Proc Natl Acad Sci USA, 105 (24): 8476~8481
- García-Mata C, Lamattina L (2010). Hydrogen sulphide, a novel gas-transmitter involved in guard cell signaling. New Phytol, 188 (4): 977~984
- Hao LH, Wang WX, Chen C, Wang YH, Liu T, Li X, Shang ZL (2012). Extracellular ATP promotes stomatal opening of *Arabidopsis thaliana* through heterotrimeric G protein α subunit and reactive oxygen species. Mol Plant, 5 (4): 852~864
- Khalil HB, Wang Z, Wright JA, Ralevski A, Donayo AO, Gulick PJ (2011). Heterotrimeric G α subunit from wheat (*Triticum aestivum*), GA3, interacts with the calcium-binding protein, Clo3, and the phosphoinositide-specific phospholipase C, PI-PLC1. Plant Mol Biol, 77 (1~2): 145~158
- Li JH, Liu YQ, Lü P, Lin HF, Bai Y, Wang XC, Chen YL (2009). A Signaling pathway linking nitric oxide production to heterotrimeric G protein and hydrogen peroxide regulates extracellular calmodulin induction of stomatal closure in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 150 (1): 114~124
- Tuteja N (2009). Signaling through G protein coupled receptors. Plant Signal Behav, 4 (10): 942~947
- Wang BL, Shi L, Li YX, Zhang WH (2010). Boron toxicity is alleviated by hydrogen sulfide in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. Planta, 231 (6): 1301~1309
- Wang XQ, Ullah H, Jones AM, Assmann SM (2001). G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. Science, 292 (5524): 2070~2072
- Zhang H, Tang J, Liu XP, Wang Y, Yu W, Peng WY, Fang F, Ma DF, Wei ZJ, Hu LY (2009). Hydrogen sulfide promotes root organogenesis in *Ipomoea batatas*, *Salix matsudana* and *Glycine max*. J Integr Plant Biol, 51 (12): 1086~1094
- Zhang W, Jeon BW, Assmann SM (2011). Heterotrimeric G-protein regulation of ROS signalling and calcium currents in *Arabidopsis* guard cells. J Exp Bot, 62 (7): 2371~2379