

植物耐热性增强的信号感知和传递机制

刘洪涛*, 黄卫东**, 杨皓茹, 黎舒佳

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

Signal Perception and Transduction Mechanism of Thermotolerance Enhancement in Plants

LIU Hong-Tao*, HUANG Wei-Dong**, Yang Hao-Ru, LI Shu-Jia

College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

摘要: 文章就细胞质膜流动性、抗氧化系统、钙-钙调素和肌醇磷脂等第二信使系统的启动和激素信号物质(水杨酸和脱落酸)对高温逆境的响应, 尤其是细胞信号传感器——磷脂酶C参与植物耐热性增强的作用机制研究进展作了介绍。

关键词: 植物耐热性; 水杨酸; 脱落酸; 磷脂酶C

温度胁迫是农作物生长发育过程中最常见, 同时也是影响最严重的逆境因子之一。大部分植物生长的合适温度为 15~28℃, 高于或低于此范围的环境温度均不利于农作物生长。高温胁迫对农作物的影响往往体现在产量下降和品质降低两个方面。因此探讨农作物在生长发育过程中响应高温胁迫和建立耐热性的信号传递机制, 特别是植物细胞是如何感知和识别高温刺激, 并经过放大传递至胞内, 启动编码相关酶蛋白基因的转录, 合成逆境蛋白以抵御高温胁迫显得很重要。从增产增收的角度来讲, 在获得这些细胞学和分子生物学的信息之后, 制定和采取有效的防御高温措施从而提高植物耐热性, 其理论和生产实践意义都是不言而喻的。

1 高温逆境下的植物细胞生理状态

1.1 质膜流动性 质膜(plasma membrane)是一层保护细胞内部不受外界环境影响的动态屏障, 同时还是胞内物质与外界进行信息传递和交换的通道。膜脂和膜蛋白是组成质膜结构的主要组成部分, 传统的生物膜流动镶嵌学说认为, 膜的双分子层脂质的物理状态通常呈液晶相, 温度过高时转化为液相, 过低时则转化为凝胶相, 这两种状态都会影响镶嵌于脂质中的蛋白质的功能。近几年的研究表明, 质膜的流动性与温度胁迫密切相关(Murata 和 Los 1997; Alonso 等 1997; Mejia 等 1995; Örvär 等 2000; Sangwan 等 2001)。高温会造成质膜流动性增强, 而低温往往会导致质膜流动性的降低(Levitt 1980; Sangwan 等 2002)。质

膜流动性的改变是否可以作为植物细胞识别外界温度变化的标志性和特征性信号事件, 一直是细胞生物学的热点研究领域。Murata 和 Los (1997)的研究表明, 质膜通过其自身的物理状态改变从而成为识别外界温度变化的上游感应器。Vigh 等(1993)发现低温造成的质膜流动性降低可以激活编码脂肪酸不饱和酶 *desA* 基因的强烈表达, 而 *desA* 蛋白的翻译合成增强可以使膜组分中不饱和脂肪酸的数量倍增, 从而达到缓解由低温导致的质膜流动性降低的目的。Sangwan 等(2002)在苜蓿中的试验表明, 低温和高温胁迫造成的质膜流动性降低和增强分别激活不同生化特性的蛋白激酶的活性, 低温诱导 SAMK (stress-activated MAPK) 的活性增强, 而高温则特异激活另一种蛋白激酶 HAMK (heat shock-activated MAPK), 有趣的是 2 种蛋白激酶的分子量却都同为 44 kDa, 且蛋白数量无变化, 其活性强度受到翻译后调节的控制。质膜流动性增加激活的 HAMK 活性最大值出现在胁迫后 30 min, 而低温诱导的 SAMK 活性最大值出现在胁迫后 1 h。由此可知, 相对于低温, 高

收稿 2007-05-23 修定 2007-09-17

资助 中国科学院王宽诚博士后工作奖励基金(2006)、国家自然科学基金(30471192、30671468)、教育部高等学校博士学科点基金(20050019015)和中国博士后科学基金(20070410628)。

* 现工作单位为中国科学院地理科学与资源研究所, E-mail: liuht@igsrr.ac.cn.

** 通讯作者(E-mail: huanggwd@263.net; Tel: 010-62737024)。

温信号向胞内传递更为迅速。

1.2 抗氧化系统的协作 当外界环境尤其是植物周围环境的温度产生剧烈变化时,会导致植物细胞内产生大量的活性氧(ROS),过量累积的ROS会导致膜脂过氧化,对细胞产生毒害作用。因此胞内抗氧化系统的存在对于植物清除胞内过量的氧化物质以及保护蛋白质、质膜和叶绿体等细胞器组分有重要作用。Scott 研究小组(Dat 等 1998a)的试验证实,包括脱氢抗坏血酸(DHA)、抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、还原型谷胱甘肽(GSH)在内的抗氧化剂和抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)在内的抗氧化酶系统都参与白芥(*Sinapis alba*)苗高温锻炼过程中 ROS 的清除和分解。在高温锻炼开始时,AsA 含量显著下降而 DHA 含量则明显上升,但在锻炼 2~3 h 后的情况又呈相反趋势。而高温锻炼后的 GSH 和 GSSG 含量和比值的变化与前两者不尽相同,GSH 和 GSSG 的绝对含量在高温锻炼过程中一直表现为上升趋势;但[GSH/(GSH+GSSG)]的变化规律则表现为锻炼初期增加,中期下降,后期又恢复到未经高温锻炼的水平。APX 和 GR 在高温锻炼初期(1 h)出现活性峰值,之后又恢复到未经高温锻炼的水平。DHAR 活性则呈先下降(1 h)后升高(3 h)的趋势,并最终恢复到未经高温锻炼的水平。过氧化氢酶(CAT)活性在 55 °C 热激影响下呈下降趋势,但过氧化氢(H₂O₂)水平在热激的起始期(5 min)出现峰值,之后恢复到未经高温锻炼的水平,最终低于未经高温锻炼的水平,与锻炼后期 CAT 活性的变化规律一致。有试验表明,高温以负调控形式达到调节胞内 CAT 活性的目的,即高温可以降低 CAT 活性,间接使胞内的 H₂O₂ 浓度在短期内呈先上升后下降的趋势,从而表现出典型的信号分子特征,使其可能成为胞内传递外界高温逆境信号的信使之一(Foyer 等 1997)。APX 在 AsA-GSH 氧化还原系统中的地位很重要(Asada 1994),在高温逆境下,CAT 和过氧化物酶(POD)活性下降或者不变的前提下,以 APX 为代表的 AsA-GSH 氧化还原系统在清除胞内过量的 H₂O₂ 中起主体作用。豌豆中的试验表明,编码 APX 的基因 *apx1* 可以为高温所激活(Mittler 和 Zilinskas

1992, 1994),据此认为高温激活的 APX 活性的增加有可能是酶蛋白合成量增加所致。Storozhenko 等 (1998)报道,编码拟南芥 APX 基因的启动子区域 TATA 框内存在一个与其他植物 APX 启动子区域高度保守的热激元件序列,并证实此热激元件可以与从番茄中得到热激转录因子特异结合。这间接说明,APX 基因表达的增加与热激蛋白(HSP)的产生密切相关,而 APX 表达量的增加会导致 APX 活性的升高,从而直接影响胞内 H₂O₂ 水平的变化,这是否是植物细胞通过调控胞内 H₂O₂ 的浓度变化达到传递高温信号的机制之一,尚待深入研究。

1.3 第二信使物质对高温逆境的应答

1.3.1 钙(Ca²⁺)和钙调素(CaM)信使系统 Ca²⁺ 和 CaM 是植物细胞内最早经证实的胞内第二信使物质,有研究表明,多种逆境胁迫刺激都可以引起胞内 Ca²⁺ 和 CaM 水平的迅速升高。近年来的试验证据直接或间接表明,Ca²⁺ 和 CaM 是高温信号传递链中处在最上游的位置,具有迅速性和广谱性(参与多种胁迫信号传递、逆转信号组分缺失造成的结果)的特点。最早的试验发现,梨果实悬浮细胞在热激时对 Ca²⁺ 的吸收呈大幅度增加的趋势(Klein 和 Ferguson 1987)。Biyaseheva 等(1993)用荧光方法测定的结果表明,热激后的豌豆叶片原生质体细胞中 Ca²⁺ 浓度增加数倍。之后,Gong 等(1997, 1998b)以表达水母发光蛋白的转基因烟草为材料,发现胞内 Ca²⁺ 水平迅速增加;采用质膜钙通道阻断剂和内质网钙通道阻断剂处理后均明显抑制热激后 Ca²⁺ 水平的升高,表明热激引起的钙含量剧增既有来自于质外体中的外流钙,又有来自于胞内钙库内质网中钙的向内动员。他们在玉米中还发现,热激也会引起胞内 CaM 浓度的急剧升高,并且这种增加建立在依赖 Ca²⁺ 的基础之上。Braam (1992)发现,编码 CaM 同源蛋白的基因 *TCH* 可以受热激激活并需要有 Ca²⁺ 的存在。以 *CaM1-2* 基因为探针,通过 Northern 杂交的结果表明,小麦幼苗热激 10 min 后,CaM 的 mRNA 水平表达量明显高于未经热激处理的,20 min 时达到最高值,之后回到未经热激处理的水平(Liu 等 2003)。这一结果表明,热激所引起的 CaM 活性增加不仅是 Ca²⁺ 对 CaM 激活所引起,而且还来自

于CaM基因表达的增加,从而促进CaM蛋白的合成所致。

1.3.2 肌醇磷脂信使系统 肌醇磷脂信使系统在植物细胞识别外界逆境胁迫的信号传递过程中起到早期的识别、放大并将刺激信号传递进胞内的作用(Calderwood等1988)。DeWald等(2001)的试验表明,盐胁迫可以在短时间内造成拟南芥细胞内4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP_2)和1,4,5-三磷酸肌醇(IP_3)的迅速并大量合成,并伴随有来源于胞内钙库的钙动员产生。干旱胁迫的发生也是引起拟南芥胞内 IP_3 和 PIP_2 水平发生剧烈变化的原因之一(Pical等1999),因此认为 PIP_2 和 IP_3 作为主要成员的肌醇磷脂信使系统广泛参与非生物胁迫的逆境信号传递过程。Hirayama等(1995)在拟南芥中克隆到编码磷脂酶C(PLC)的基因片段*AtPLC1s*, mRNA转录水平上的研究显示温度胁迫是造成*AtPLC1s*表达量增强的原因之一。Ruelland等(2002)在拟南芥悬浮细胞体系中的试验表明,PLC的激活是冷胁迫信号传递链上的早期事件,具有快速和灵敏的特点,在冷胁迫开始的2 min内其作用产物 IP_3 即达到最高水平,在10 min时又回到未经冷激活的水平。磷脂是质膜结构中膜脂的成分之一,在外界环境温度产生剧烈变化的情况下,质膜的流动性也发生相应的变化,而PLC又是定位于质膜上的酶,因此PLC的活性和合成必然会受到温度逆境的影响。我们研究组初期的研究结果表明,高温锻炼可以激活豌豆叶中定位于质膜上的PLC,PLC参与上游水杨酸介导的耐热性提高的信号传递过程。Liu等(2006a)的试验还表明,热诱导的 IP_3 含量上升和PLC的激活都具有快速应答的特点,在高温锻炼开始后的15 min内活性和蛋白表达量都有增加,40 min时达到最高值。

2 水杨酸参与植物耐热性的形成

水杨酸(SA)是一种广泛存在于高等植物体内的次生酚类物质。作为一种典型的小分子信号物质,它广泛参与植物的许多生理反应过程。Lopez-Delgado等(1998)在马铃薯中的试验证明,乙酰基水杨酸(ASA)参与诱导耐热性的提高,这从侧面证明SA同样具有增强植物耐热性的功能。Scott研究小组(Dat等1998a)用白芥苗证实,外施SA与高温锻炼同样具有诱导耐热性增强的效果,

两者之间的作用机制相似,并表明抗氧化酶(剂)系统的协同作用和表现出典型信号物质特征的SA,共同参与耐热性增强的信号传递过程。他们同期的试验还表明(Dat等1998b),施用外源SA提高耐热性的过程有 H_2O_2 的参与,SA通过抑制CAT活性增加胞内 H_2O_2 水平,从而达到诱导白芥苗耐热性增强的目的。Larkindale和Knight(2002)用转*nahG*基因(不积累SA)的拟南芥植株证明,SA积累的缺失可以导致由高温胁迫造成的高膜脂过氧化程度(MDA含量)和100%的高温致死率,由此他们得出SA在高温耐热性增强的信号传递链中起作用的结论。Clarke等(2004)用拟南芥转*nahG*基因植株和*cpr5*(高效积累SA)突变体的试验表明,SA参与基础耐热性的提高过程,但与获得性耐热性增强的关系不密切。Larkindale等(2005)用转*nahG*基因的拟南芥的试验表明,SA在基础耐热性和获得性耐热性中都起关键作用,45℃高温胁迫后的基础耐热性和获得性耐热性(即成活率)均在50%左右。SA具体参与哪一部分耐热性的提高尚无定论,但可以肯定的是,SA在耐热性提高的信号传递链中扮演不可或缺的角色。

3 脱落酸参与植物耐热性增强的信号传递过程

早期有关脱落酸(ABA)的研究主要集中在干旱胁迫和渗透胁迫两个生理方面(Zeevaart和Creelman 1988)。作为一种具有广谱性的激素信号物质,ABA与热胁迫之间关系最早的报道是Bray(1991)在番茄中的试验,他们的试验表明:ABA虽对高温刺激有信号响应特征,但它并不参与HSP的合成,这似乎暗示ABA参与的高温信号传递机制并非典型的以合成HSP为特征的热激响应模式。Robertson等(1994)在雀麦草培养基中加入ABA可以显著增加高温胁迫(42.5℃, 2 h)下雀麦草的成活率。Gong等(1998a)报道,外施ABA可以显著提高玉米耐热性,且耐热性的提高与抗氧化酶系统的全面增强以及膜脂过氧化程度的削弱密切相关。Larkindale和Knight(2002)的试验证实,与外施SA相比,高温胁迫下外施ABA的拟南芥成活率下降60%,但对ABA不敏感的*abi-1*突变体却表现出100%的高温致死率,这表明虽然外源ABA在诱导耐热性中的表现不及SA,但ABA的缺失对耐热性的提高还是明显的。Larkindale等

(2005)用对ABA不敏感的 $abi1$ 和 $abi2$ 突变体和ABA生物合成突变体 $aba1$ 、 $aba2$ 、 $aba3$,研究ABA的缺失和合成受阻分别对获得性耐热性和基础耐热性影响的结果表明,无论ABA信号感知的缺失还是ABA的合成受阻,其耐热性表现均呈现出较低的成活率,与转 $nahG$ 基因植株(不积累SA)的效果相同,这又证实ABA在增强植物耐热性过程中的作用与SA同样显著。近些年来,大量的分子生物学试验结果对ABA参与热激响应机制基本上持肯定态度,但具体到是否参与高温胁迫下耐热性的增强,则仍然没有定论。

4 PIP₂特异的磷脂酶C (PIP₂-PLC)与高温信号转导的关系

4.1 植物PLC生化结构及特性 磷脂酰肌醇(PI)是真核生物细胞中主要的磷脂成分。PI不仅是膜结构的组成成分,其本身和裂解产物还是细胞与环境进行交流的重要信号物质。PIP₂是一类重要的磷酸肌醇,在PI特异的磷脂酶C (PI-PLC)的催化下,分解产生IP₃和二酰基甘油(DAG)。作为起到关键作用的2种二级信使物质,IP₃可以促进细胞内钙库(液泡、线粒体等)的Ca²⁺释放,而DAG可以激活多种蛋白激酶C (PKC),参与和调节细胞的多种生理过程(Berridge 1993)。Drøbak等(1992)根据作用底物的特异性和功能差异,将植物PLC分为2类:第一类为可溶性PLC,以PI为最适底物,需毫摩尔(mmol·L⁻¹)级Ca²⁺;第二类为质膜结合性PLC,以PIP₂为最适底物,需微摩尔(μmol·L⁻¹)级Ca²⁺。

植物中PI-PLC的研究开始于上个世纪50年代。Irvine等(1980)从芹菜和其他高等植物的可溶性提取物中分离到一种只能分解磷酸肌醇的PLC。McMurray和Irvine(1988)从上述的非可溶性提取物中分离到PIP₂特异的PLC,他们的试验结果表明,去污剂——脱氧胆酸能大幅度提高此酶的活性,其它去污剂则没有此作用。之后,人们又相继从大豆、燕麦、烟草和拟南芥等植物中发现PLC的存在,并对此酶的生化特性进行了系统研究(Einspahr等1989)。近五十年的研究结果显示,植物PLC具有以下显著的生化特性:(1)可以分解PIP和PIP₂,其中胞质PLC以分解PIP为主,而质膜结合态PLC主要以PIP₂为作用底物;(2)PLC

活性严格依赖于Ca²⁺,且Mg²⁺对PLC的活性也具有进一步的激活作用;(3)PLC分解活性的最佳pH值为6.0~7.0。

4.2 PLC参与逆境信号传递 由于PIP₂-PLC在植物感受逆境刺激的过程中起到放大和传递原始信号的作用,因此近年来已经相继从一些植物中克隆并鉴定出PIP₂-PLC基因,并以之研究其在植物适应逆境生理过程中的作用。拟南芥 $AtPLC1s$ 是从高等植物中克隆到的第1个PLC基因(Hirayama等1995)。 $AtPLC1s$ 基因编码含有561个氨基酸、分子量为54 kDa的蛋白,比植物中其它的PLC蛋白要小,预测的结构与动物中的PLC δ 类似。细菌表达出来的 $AtPLC1s$ 蛋白能够降解PIP₂且活性严格依赖于Ca²⁺,这表明 $AtPLC1s$ 编码的是真正意义上的PIP₂-PLC。Northern杂交分析显示,在(非胁迫)正常的情况下 $AtPLC1s$ 在根、茎、叶都有表达,但表达水平很低。低温、高盐、干旱或ABA处理均能使 $AtPLC1s$ 的转录表达量急剧增加,这表明 $AtPLC1s$ 可能参与胁迫信号的传递过程。大豆中克隆到的4个PLC基因命名为 $GmPLC1$ 、 $GmPLC12$ 、 $GmPLC13$ 和 $GmPLC25$,用免疫定位方法发现其中的 $GmPLC1$ 基因编码的产物主要分布在胞质颗粒和质膜上(Shi等1995)。马铃薯叶中克隆到的 $StPLC1$ 、 $StPLC2$ 和 $StPLC3$,其基因表达的蛋白结构和生化特性均符合典型的植物PLC特征,转录分析表明,伤害对它们有较强的诱导作用,其中 $StPLC1$ 转录降低, $StPLC2$ 转录增加,而 $StPLC3$ 转录不受影响(Kopka等1998)。水稻中克隆到的PLC基因命名为 $OsPI-PLC1$,分析其结构表明,主要结构域组成为X、Y和C2区域,与典型的植物PLC结构一致,其基因表达受到SA、茉莉酸(JA)、茉莉酸甲酯(MeJA)和伤害胁迫的诱导(Song和Goodman 2002)。从豌豆中克隆到的 $PsPLC$ 基因序列显示,同源性与其他植物中的PLC基因高达80%,包括典型的X、Y和C2结构域,Northern杂交显示, $PsPLC$ 的转录表达受光的强烈调控(Venkataraman等2003)。豇豆中得到的3个PLC基因片段命名为 $Vr-PLC1$ 、 $Vr-PLC2$ 和 $Vr-PLC3$,其中 $Vr-PLC1$ 和 $Vr-PLC2$ 在豇豆各部分组织内均存在,为组成型表达基因;而 $Vr-PLC3$ 则为诱导型表达基因,

受干旱和高渗透势胁迫的强烈诱导(Kim等2004)。

自上世纪80年代以来,许多试验均表明PLC广泛参与各种植物生理现象的信号传递过程。Cho等(1993)在胡萝卜悬浮细胞中的试验证明,PLC参与渗透势胁迫的信号传递过程,在渗透胁迫开始的5 min内,PLC的活性即达到非渗透胁迫水平的1.6倍。Kashem等(2000)在水稻中的试验证明,PLC参与种子中 α -淀粉酶的表达调控和种子萌发的过程,用 PIP_2 -PLC的专一性抑制剂新霉素(neomycin)处理水稻种子后,其萌发生长情况与新霉素的浓度成反比。Martínez-Estévez等(2003)在咖啡细胞中的试验表明,铝离子(Al^{3+})在1 min之内最大限度地激活PLC活性至非铝胁迫水平的2倍。Yamaguchi等(2003)在水稻悬浮细胞中的试验证明,*N*-乙酰基壳寡糖在30 min内激活膜结合态的PLC,而可溶性PLC的活性则无明显变化。酵母诱导子(YE)作为一种病原刺激物质,处理10~20 min的 PIP_2 -PLC活性增加6~7倍,并证实 PIP_2 -PLC在质膜上活性最高,可溶性部分表现出的活性较低,而PI-PLC在亚细胞活性定位上则呈现相反情况(Zhao等2004)。

4.3 PLC参与温度胁迫 温度胁迫是否也诱导PLC活性或基因表达量的变化,一直是人们关注的问题。最近的研究结果显示,低温处理开始的2 min内,水稻悬浮细胞中的 PIP_2 -PLC即被激活并达到最大,10 min后又恢复到未经低温处理的水平(Ruelland等2002)。Hirayama等(1995)的试验证明,低温确实诱导 $AtPLC1s$ 的转录水平上的表达量增加,由此可见, PIP_2 -PLC的激活往往是作为生物胁迫和非生物胁迫引发的信号传递过程中的早期事件来研究的。高温逆境领域内的经典研究表明,热诱导的相关基因表达至少需要启动子上有一个保守序列段即热激元件序列:5' nGAAnnTT-CnnGAAn 3',才能有效地与热激转录因子结合,启动相关基因的转录和翻译(Schöffl等1998)。分析豌豆中鉴定出的PLC基因 $PsPLC$ 启动子序列表明,其中包含2个热激元件序列(Venkataraman等2003),这就将PLC的生理功能与热(高温)胁迫紧密地联系在一起。我们实验室的前期试验结果也表明,高温锻炼可诱导豌豆叶片细胞质膜结合态PLC的活性和蛋白表达量增加,在高温锻炼开始

40 min内的活性达到最大值,而分子量为66.5 kDa的PLC蛋白表达量则在高温开始的15 min后开始增强,30 min达到最大值(Liu等2006a)。采用PLC抑制剂新霉素进行活体喷施的结果表明,高温锻炼诱导的耐热性与新霉素浓度成反比,以RT-PCR半定量分析证实,高温可增加豌豆PLC转录本的丰度(Liu等2006b),从而间接证实PLC参与高温锻炼所诱导的耐热性增强的信号传递过程。

5 结语

高温胁迫在细胞水平上对植物细胞造成的影响和伤害主要是引起膜结构和流动性的改变、抗氧化系统的协作、HSP的合成和表达增强。这些在生理水平上的响应均与细胞对高温刺激的响应密切相关,很可能受细胞内固有的感知、放大和传递外界温度逆境的信号传递机制所介导。从进化的角度看,这也是植物进化过程中对周围环境条件逐渐适应,并可以生存的生理机能之一。近十年来,我们研究组的研究结果表明,高温锻炼可以用作为一种非生化药剂措施达到增强抵抗高温胁迫耐热性的目的。此基础之上的后续工作表明,SA作为一种可移动的应激性信号物质,对高温胁迫的响应机制有重要的生理意义(王利军等2001; Wang等2004),众多的试验初步证明,SA通过激活定位于质膜上的PLC和钙-钙调素以及蛋白激酶参与对高温胁迫的响应过程(Liu等2006a, b; 刘悦萍等2005; 郁松林和黄卫东2004),这为进一步深入阐述胞内高温信号传递途径以及探索农作物抗性生理和应激信号物质的传递机制提供了较好的工作基础。高温是农作物生长常常遇到的逆境胁迫,深入研究细胞水平上的植物耐热性增强的信号感知和传递机制显得尤为关键。尽管高温胁迫可从不同方面影响植物的生理机能,迄今人们对高温信号最初进入胞后的识别和放大,之后向胞内传递的具体过程还不十分清楚,此方面的研究起步也相对较晚,累积的资料不足,因此应该深入研究。

参考文献

- 刘悦萍,黄卫东,张俊环(2005). 钙-钙调素对水杨酸诱导葡萄幼苗耐热性的影响及与抗氧化系统的关系. 园艺学报, 32: 381~386
- 王利军,黄卫东,于风义(2001). 高温胁迫对 ^{14}C -水杨酸在葡萄苗

- 中运转分配的影响. 植物生理与分子生物学学报, 27: 129~134
- 郁松林, 黄卫东(2004). 高温胁迫下葡萄叶片蛋白激酶的诱导形式与活性变化. 植物生理与分子生物学学报, 30: 277~283
- Alonso A, Queiroz CS, Magalhaes AC (1997). Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. *Biochim Biophys Acta*, 1323: 75~84
- Asada K (1994). Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. In: Foyer CH, Mullineaux PM, (eds). *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*. Boca Raton, FL: CRC Press, 77~104
- Berridge MJ (1993). Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature*, 361: 315~325
- Biyaseheva AE, Molotkovskii YG, Mamonov LK (1993). Increase of free Ca^{2+} in the cytosol of plant protoplasts in response to heat stress as related to Ca^{2+} homeostasis. (*Russ J Plant Physiol*), 40: 540~544
- Braam J (1992). Regulated expression of the calmodulin related TCH genes in cultured *Arabidopsis* cells: induction by calcium and heat shock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 3213~3216
- Bray EA (1991). Wild-type levels of abscisic acid are not required for heat shock protein accumulation in tomato. *Plant Physiol*, 97: 817~820
- Calderwood SK, Stevenson MA, Hahn GM (1988). Effects of heat on cell calcium and inositol lipid metabolism. *Radi Res*, 113: 414~425
- Cho MH, Shears SB, Boss WF (1993). Changes in phosphatidylinositol metabolism in response to hyperosmotic stress in *Daucus carota* L. cells grown in suspension culture. *Plant Physiol*, 103: 637~647
- Clarke SM, Mur LAJ, Wood JE, Scott IM (2004). Salicylic acid dependent signaling promotes basal thermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 38: 432~447
- Dat JF, Foyer CH, Scott IM (1998a). Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. *Plant Physiol*, 118: 1455~1461
- Dat JF, Lopez-Delgado H, Foyer CH, Scott IM (1998b). Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedling. *Plant Physiol*, 116: 1351~1357
- DeWald DB, Torabinejad J, Jones CA, Shope JC, Cangelosi AR, Thompson JE, Prestwich GD, Hama H (2001). Rapid accumulation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and inositol 1,4,5-trisphosphate correlates with calcium mobilization in salt-stressed *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126: 759~769
- Drøbak BK (1992). The plant phosphoinositide system. *Biochem J*, 288: 697~712
- Einspahr KJ, Peeler TC, Thompson GA (1989). Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phospholipase C and phosphomonoesterase in *Dunaliella salina* membranes. *Plant Physiol*, 90: 1115~1120
- Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM (1997). Hydrogen peroxide- and glutathion-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiol Plant*, 100: 241~254
- Gong M, Li YJ, Chen SZ (1998a). Abscisic acid-induced thermotolerance in maize seedlings is mediated by Ca^{2+} and associated with antioxidant systems. *J Plant Physiol*, 153: 488~496
- Gong M, Li YJ, Dai X, Tian M, Li ZG (1997). Involvement of calcium and calmodulin in the acquisition of heat shock induced thermotolerance in maize seedlings. *J Plant Physiol*, 150: 615~621
- Gong M, van der Luit AH, Knight MR, Trewavas AJ (1998b). Heat-shock-induced changes intracellular Ca^{2+} level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance. *Plant Physiol*, 116: 429~437
- Hirayama T, Ohto C, Mizoguchi T, Shinozaki K (1995). A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 3903~3907
- Irvine RF, Letcher AJ, Dawson RMC (1980). Phosphatidylinositol phosphodiesterase in higher plants. *Biochem J*, 192: 279~283
- Kashem MA, Itoh K, Iwabuchi S, Hori H, Mitsui T (2000). Possible involvement of phosphoinositide- Ca^{2+} signaling in the regulation of α -amylase expression and germination of rice seed (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol*, 41: 399~407
- Kim YJ, Kim JE, Lee JH, Lee MH, Jung HW, Bahk YY, Hwang BK, Hwang I, Kim WT (2004). The *Vr-PLC3* gene encodes a putative plasma membrane-localized phosphoinositide-specific phospholipase C whose expression is induced by abiotic stress in mung bean (*Vigna radiata* L.). *FEBS Lett*, 556: 127~136
- Klein JD, Ferguson IB (1987). Effect of high temperature on calcium uptake by suspension-cultured pear fruit cells. *Plant Physiol*, 84: 153~156
- Kopka J, Pical C, Gray JE, Müller-Röber B (1998). Molecular and enzymatic characterization of three phosphoinositide-specific phospholipase C isoforms from potato. *Plant Physiol*, 116: 239~250
- Larkindale J, Hall JD, Knight MR, Vierling E (2005). Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiol*, 138: 882~897
- Larkindale J, Knight MR (2002). Protection against heat stress-induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiol*, 128: 682~695
- Levitt J (1980). *Responses of Plants to Environmental Stresses: I. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses*. 2nd ed. New York: Academic Press, 407~414
- Liu HT, Huang WD, Pan QH, Weng FH, Zhan JC, Liu Y, Wan SB, Liu YY (2006a). Contributions of PIP_2 -specific-phospholipase C and free salicylic acid to heat acclimation-induced thermotolerance in pea leaves. *J Plant Physiol*, 163: 405~416
- Liu HT, Li B, Shang ZL, Li XZ, Mu RL, Sun DY, Zhou RG (2003). Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat. *Plant Physiol*, 132: 1186~1195
- Liu HT, Liu YY, Pan QH, Yang HR, Zhan JC, Huang WD (2006b).

- Novel interrelationship between salicylic acid, abscisic acid, and PIP₂-specific phospholipase C in heat acclimation-induced thermotolerance in pea leaves. *J Exp Bot*, 57: 3337~3347
- Lopez-Delgado H, Dat JF, Foyer CH, Scott IM (1998). Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂. *J Exp Bot*, 49: 713~720
- Martínez-Estévez M, Palma GRD, Muñoz-Sánchez JA, Brito-Argáez L, Loyola-Vargas VM, Hernández-Sotomayor SMT (2003). Aluminium differentially modifies lipid metabolism from the phosphoinositide pathway in *Coffea arabica* cells. *J Plant Physiol*, 160: 1297~1303
- McMurray WC, Irvine RF (1988). Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase in higher plants. *Biochem J*, 249: 877~881
- Mejia R, Gómez-Eichelmann MC, Fernández MS (1995). Membrane fluidity of *Escherichia coli* during heat-shock. *Biochim Biophys Acta*, 1239: 195~200
- Mittler R, Zilinskas BA (1992). Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *J Biol Chem*, 267: 21802~21807
- Mittler R, Zilinskas BA (1994). Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. *Plant J*, 5: 397~405
- Murata N, Los DA (1997). Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiol*, 115: 875~879
- Örvar BL, Sangwan V, Omann F, Dhindsa RS (2000). Early steps in cold sensing in plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *Plant J*, 23: 785~794
- Pical C, Westergren T, Dove SK, Larsson C, Sommarin M (1999). Salinity and hyperosmotic stress induce rapid increases in phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, diacylglycerol pyrophosphate, and phosphatidylcholine in *Arabidopsis thaliana* cells. *J Biol Chem*, 274: 38232~38240
- Robertson AJ, Ishikawa M, Gusta LV, MacKenzie SL (1994). Abscisic acid induced heat tolerance in *Bromus inermis* leys cell-suspension cultures (heat-stable, abscisic acid-responsive polypeptides in combination with sucrose confer enhanced thermostability). *Plant Physiol*, 105: 181~190
- Ruelland E, Cantrel C, Grawer M, Kader JC, Zachowski A (2002). Activation of phospholipases C and D is an early response to a cold exposure in *Arabidopsis* suspension cells. *Plant Physiol*, 130: 999~1007
- Sangwan V, Foulds I, Singh J, Dhindsa RS (2001). Cold-induction of *Brassica napus* genes *BN115* is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca²⁺ influx. *Plant J*, 27: 1~12
- Sangwan V, Örvar BL, Beyerly J, Hirt H, Dhindsa RS (2002). Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways. *Plant J*, 31: 629~638
- Schöffl F, Prändl R, Reindl A (1998). Regulation of the heat-shock response. *Plant Physiol*, 117: 1135~1141
- Shi J, Gonzales RA, Bhattacharyya MK (1995). Characterization of a plasma membrane-associated phosphoinositide-specific phospholipase C from soybean. *Plant J*, 8: 381~390
- Song F, Goodman RM (2002). Molecular cloning and characterization of a rice phosphoinositide-specific phospholipase C gene, OsPI-PLC1, that is activated in systemic acquired resistance. *Physiol Mol Plant Pathol*, 61: 31~40
- Storozhenko S, De Pauw P, Van Montagu M, Inzé D, Kushnir S (1998). The heat-shock element is a functional component of the *Arabidopsis APX1* gene promoter. *Plant Physiol*, 118: 1005~1014
- Venkataraman G, Goswami M, Tuteja N, Reddy MK, Sopory SK (2003). Isolation and characterization of a phospholipase C delta isoform from pea that is regulated by light in a tissue specific manner. *Mol Gen Genomics*, 270: 378~386
- Vigh L, Los DA, Horvath I, Murata N (1993). The primary signal in the biological perception of temperature: Pd-catalyzed hydrogenation of membrane lipids stimulated the expression of the *desA* gene in *Synechocystis* PCC6803. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 9090~9094
- Wang LJ, Huang WD, Zhan JC, Yu FY (2004). The transport of ¹⁴C-salicylic acid in heat-stressed young *Vitis vinifera* plants. (*Russ J Plant Physiol*), 51: 194~197
- Yamaguchi T, Minami E, Shibuya N (2003). Activation of phospholipase by *N*-acetylchitoooligosacch-aride elicitor in suspension-cultured rice cells mediates reactive oxygen generation. *Physiol Plant*, 118: 361~370
- Zeevaart JAD, Creelman RA (1988). Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu Rev Plant Physiol*, 39: 439~473
- Zhao J, Guo YQ, Kosaihiro A, Sakai K (2004). Rapid accumulation and metabolism of polyphosphoinositol and its possible role in phytoalexin biosynthesis in yeast elicitor-treated *Cupressus lusitanica* cell cultures. *Planta*, 219: 121~131