

植物环核苷酸门控离子通道的研究进展

王文颖, 柴薇薇, 马清, 王锁民*

兰州大学草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州730020

摘要: 环核苷酸门控离子通道(cyclic nucleotide-gated channels, CNGCs)广泛存在于动植物体中, 是一类非选择性阳离子通道, 由环核苷酸的绑定直接门控。植物中的CNGCs在调节花粉正常发育、维持体内的离子稳态、抵御生物胁迫和非生物胁迫等生长发育过程中均发挥重要作用。本文综述了植物CNGCs的分子特性、结构、调节方式及功能方面的研究进展, 并对今后有关该通道的主要研究方向做了展望。

关键词: CNGCs; 功能; 结构; 调节

Research Advances in Cyclic Nucleotide-Gated Channels in Plant

WANG Wen-Ying, CHAI Wei-Wei, MA Qing, WANG Suo-Min*

State Key Laboratory of Grassland Agroecosystems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China

Abstract: The cyclic nucleotide-gated channels (CNGCs) are one class of the non-selective cation channels widely exist in plants and animals, which are directly gated by cyclic nucleotide binding. In plants, CNGCs play vital roles in multiple physiological processes, including regulating the development of pollen, maintaining ion homeostasis and defense against biotic and abiotic stresses. In this review, we summarized recent advances in the molecular characteristics, structure, regulation mode and biological function of CNGCs. At the end, research hotspots and directions regarding CNGCs channels were put forward.

Key words: CNGC; structure; function; regulation

环核苷酸(3',5'-cyclic nucleotide monophosphate, cNMP; 3',5'-cAMP和3',5'-cGMP)是一类重要的第二信使, 参与植物生长发育的多个方面, 包括光敏色素信号、赤霉素诱导信号、花粉管顶端生长、细胞周期和抗逆性(Demidchik和Maathuis 2007)。目前已知存在两类cNMP绑定结合域, 即GAF (cGMP-specific and -stimulated phosphodiesterases, *Anabaena* adenylate cydases and *Escherichia coli* Fh1A) (Arvind和Ponting 1997)和环核苷酸结合域(cNMP-binding domain, CNBD) (Kaplan等2007)。GAF并不特异性的结合cNMP, 也结合大量的其他小分子(Biswas等2015); CNBD存在于Shaker类K⁺通道、环核苷酸调控硫酸酯酶和环核苷酸门控通道(cyclic nucleotide-gated channels, CNGCs)中(Bridges等2005), 本文主要综述CNGCs的研究进展。

CNGCs是一类非选择性阳离子通道, 广泛存在于动物和植物中(Yuen和Christopher 2013)。在脊椎动物视网膜感光细胞和嗅觉感应神经元中首次发现CNGCs, 其主要以异源四聚物的形式定位于质膜上, 目前在哺乳动物中已鉴定到6个编码

CNGCs通道的基因, 对其生理学作用及调控机制的研究较为清楚(Fesenko等1985; Chin等2009), 但对植物CNGCs的认识相对滞后。近年来, 有关植物CNGCs的研究受到学术界的广泛关注, 特别是随着研究的不断深入, 发现该通道在抵御生物和非生物胁迫、植物生长发育调控过程等方面发挥着重要作用, 本文就植物CNGCs的结构特点、作用功能等方面取得的研究进展进行归纳总结, 旨在为植物CNGCs的进一步研究奠定基础。

1 植物CNGCs的结构、定位与调节

Schuurink等(1998)在大麦(*Hordeum vulgare*)糊粉层表达文库中筛选钙调蛋白(CaM)时, 首次克隆到植物CNGCs家族基因*HvCBT1* (*Hordeum vulgare* CaM-binding transporter), 其编码702个氨基酸。随后在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、烟草(*Nicotiana*

收稿 2015-07-17 修定 2015-08-28

资助 国家自然科学基金(31470503)、教育部博士点基金优先发展领域项目(20130211130001)和兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky2014m01和lzujbky-2015-41)。

* 通讯作者(E-mail: smwang@lzu.edu.cn; Tel: 0931-8910983)。

tabacum)、水稻(*Oryza sativa*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、山葡萄(*Vitis amurensis*)、梨(*Pyrus bretschneideri*)等植物中均发现了CNGCs家族基因(Talke等2003; Wu等2014; Chen等2015)。

植物CNGCs与动物CNGCs和植物Shaker型电压门控通道结构高度相似(Talke等2003),如图1所示,包含6个跨膜域(S1~S6),其中S4为电压传感器,保留了较弱的正电荷位点,可响应改变P环门控的膜电位(Hua等2003)。在S5和S6之间有一个决定离子选择性并参与门控的P环,其包含1个短的 α 螺旋、1个转角和1个无规则卷曲,P环的大小依据疏水性决定,对离子的选择性显著不同于动物CNGCs的P环(Demidchik和Maathuis 2007; Zelman等2012)。C末端有环核苷酸结合域(CNBD)和钙调蛋白结合域(CaMBD),两者部分重叠(Chin等2009)。CNGC中最保守的区域是位于CNBD中用来绑定环核苷酸配体磷酸根和糖的磷酸盐结合域(phosphate binding cassette, PBC) (Cukkemane等2011)。在PBC附近有一个“hinge”区域也较保守,有助于配合基绑定效能及其选择性(Young和Krougliak 2004)。Zelman等(2012)在分析拟南芥CNGCs基因全长序列时,发现一个特征基序{[LI]-X(2)-[GS]-X-[FYIVS]-X-G-X(0,1)-[DE]-LL-X(8,25)-[SA]-X(9)-[VLIT]-E-X-F-X-[IL]},其他植物如大麦和胡杨(*Populus euphratica*)中也存在这一特征基序,其包含PBC和hinge区域,根据此基序得到的系统进化树与根据基因全长或P环和CNBD得到的系统进化树相吻合,都可将CNGCs家族基因划分为5组: I、II、III、IVa和IVb(图2),因此Zelman

等(2012)提出可利用此基序来鉴定陆生植物的CNGCs。

研究显示大麦HvCBT1定位于糊粉层的质膜上(Schuurink等1998);烟草*NtCBP4*编码质膜钙调蛋白结合通道蛋白(Arazi等2000)。Nawaz等(2014)通过对转录组的预测分析认为水稻中13个OsCNGCs(OsCNGC1和2、OsCNGC4~6、OsCNGC8~10和Os-CNGC12~16)定位于质膜,另外3个OsCNGC3、OsCNGC7和OsCNGC11分别定位于细胞质、叶绿体类囊体膜和线粒体内膜;AtCNGC5和AtCNGC6定位于保卫细胞质膜上(Wang等2013);AtCNGC7定位于花粉管生长锥两侧的质膜上(Tunc-Ozdemir等2013a)。Fischer等(2013)通过绿色荧光蛋白发现AtCNGC20定位于质膜,而Yuen和Christopher(2013)利用荧光报告蛋白融合和免疫电镜技术发现CNGC19和CNGC20定位于液泡膜。

研究发现通常情况下在CNGCs的C末端,当cNMPs绑定CNBD时,会发生变构调节使通道打开,从而活化CNGCs(Lemtiri-Chlieh和Berkowitz 2004),使得胞外 Ca^{2+} 内流,而胞内 Ca^{2+} 过多后,形成的CaM在CNBD的 α C螺旋即CaMBD处结合CNGCs,限制cNMPs结合CNBD从而钝化通道门控(Ma和Berkowitz 2011)。然而,Fischer等(2013)研究发现, CaM结合结合域位于异亮氨酸谷氨酰胺(IQ)基序处。因此,以上两种可选的CaM结合模式的存在表明,植物CNGCs的配体调节比预期的更复杂。同时,植物CNGCs中IQ区域的保守性增加了 Ca^{2+} 依赖通道控制机制的可变性,从而突出了这一多基因家族的功能多样性。

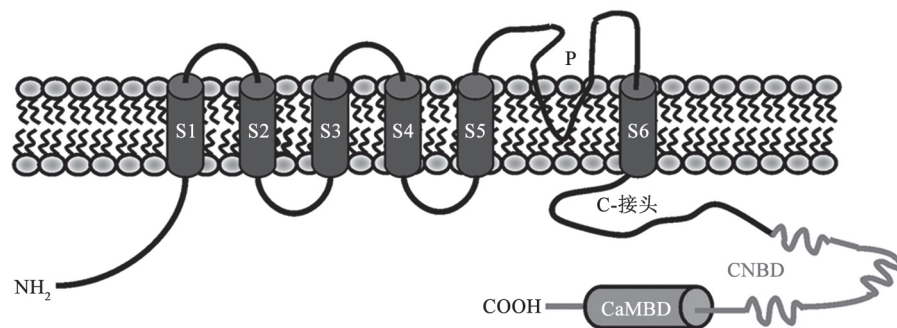


图1 植物CNGCs拓扑结构示意图

Fig.1 Diagrammatic representation of CNGCs topological structure

P为位于S5与S6之间的P环;S1~S6为6个跨膜域;CNBD为环核苷酸结合域;CaMBD为钙调蛋白结合域。参考Chin等(2009)文献修改。

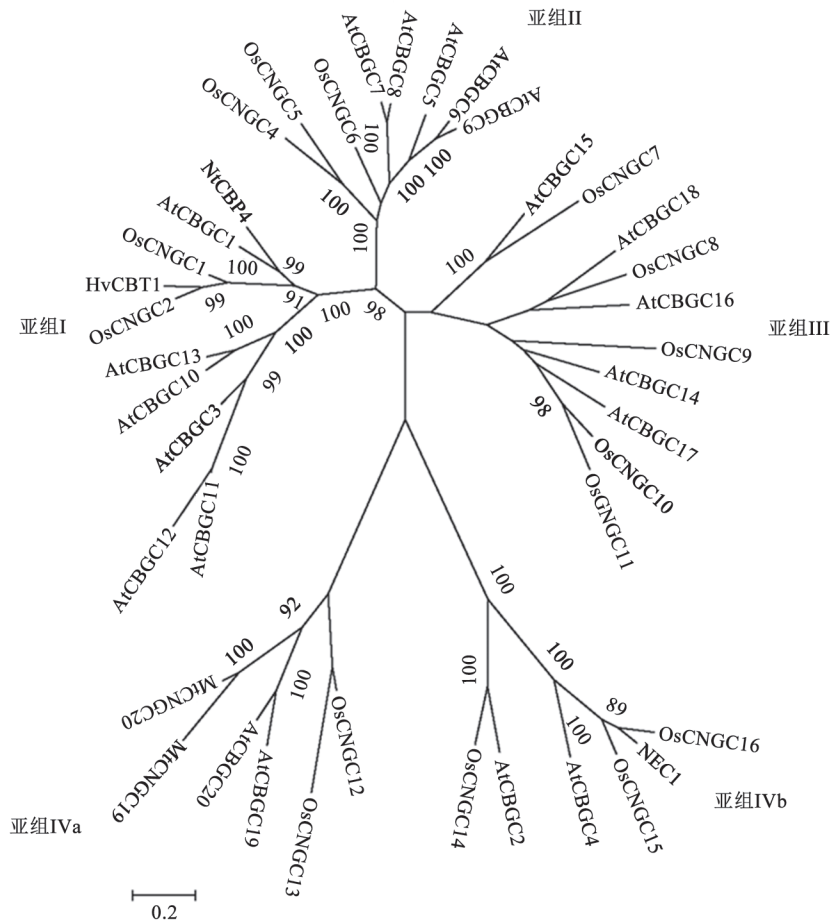


图2 植物CNGCs的系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of plant cyclic nucleotide-gated channels

At: 拟南芥; Os: 水稻; Hv: 大麦; Nt: 烟草; Mt: 蒺藜状苜蓿(*Medicago truncatula*)。拟南芥CNGCs的名称根据帕斯卡命名法命名; 水稻CNGCs的名称按照Nawaz等(2014)中的命名方式命名。各基因的GenBank登录号如下: AtCNGC1 (NP_200125), AtCNGC2 (NP_197045), AtCNGC3 (NP_566075), AtCNGC4 (NP_851188), AtCNGC5 (NP_851209), AtCNGC6 (NP_565560), AtCNGC7 (NP_173051), AtCNGC8 (NP_173408), AtCNGC9 (NP_194785), AtCNGC10 (NP_001184885), AtCNGC11 (NP_182167), AtCNGC12 (NP_850454), AtCNGC13 (NP_192010), AtCNGC14 (NP_850056), AtCNGC15 (NP_180393), AtCNGC16 (NP_190384), AtCNGC17 (NP_194765), AtCNGC18 (NP_196991), AtCNGC19 (NP_188396), AtCNGC20 (NP_566585), OsCNGC1 (NP_001046460), OsCNGC2 (NP_001057767), OsCNGC4 (ABF97880), OsCNGC5 (ABA98416), OsCNGC6 (NP_001054052), OsCNGC7 (NP_001047485), OsCNGC8 (ABA95858), OsCNGC9 (NP_001063911), OsCNGC10 (NP_001048351), OsCNGC11 (NP_001057019), OsCNGC12 (NP_001048268), OsCNGC13 (NP_001057101), OsCNGC14 (NP_001051331), OsCNGC15 (NP_001172593), OsCNGC16 (NP_001055973), HvCBT1 (CAA05637), NEC1 (AAAY58312), NtCBP4 (AF079872), MtCNGC19 (XP_003620101), MtCNGC20 (XP_003610842)。通过Clustal W序列比对, 使用最大似然法, Jones-Taylor-Thornton (JTT)模型且Bootstrap replicates为1 000 (MEGA6.0)构建植物CNGCs的系统进化树。

2 植物CNGCs的主要功能

目前, 在拟南芥基因组中发现了20个CNGCs家族成员(Mäser等2001), 在水稻中发现了16个CNGCs家族成员(Nawaz等2014), 梨中发现了21个CNGCs家族成员(Chen等2015)。可见相比于动物, 植物CNGCs是一个非常庞大的家族。众多的家族成员在植物器官、组织、细胞的不同发育阶段都有所表达, 而且CNGCs是植物响应复杂信号网络

的一部分, 参与植物生长发育过程的多个方面, 包括花粉管的生长和受精作用, 对生物以及非生物胁迫的响应等生理学过程(表1)。

2.1 植物CNGCs在花粉发育中的作用

花粉萌发和花粉管的正常生长是精细胞顺利到达胚囊并实现受精作用的前提, 是高等植物有性生殖的一个关键环节(盛仙永和胡正海2005)。花粉管之所以能向胚囊方向定向生长, 是因为其顶

表1 拟南芥中的CNGCs

Table 1 CNGCs separated from *Arabidopsis*

基因	表达部位	功能	参考文献
<i>AtCNGC1</i>	保卫细胞	抗金属胁迫	Sunkar等2000; Ma等2006
<i>AtCNGC2</i>	叶	植物发育、抵抗病原菌、抗金属胁迫、耐热性、抑制衰老	Arazi等1999; Clough等2000; Chan等2003; Balagué等2003; Ma等2010; Finka等2012; Fortuna等2015
<i>AtCNGC3</i>	胚胎、叶(维管组织)、根(表皮、皮层)	离子稳态	Gobert等2006
<i>AtCNGC4</i>		抵抗病原菌、调节生长	Balagué等2003; Jurkowski等2004; Kaplan等2007
<i>AtCNGC5</i>	保卫细胞		Wang等2013
<i>AtCNGC6</i>	保卫细胞	花粉发育、耐热性	Gao等2012; Wang等2013
<i>AtCNGC7</i>	花粉	花粉发育	Bock等2006; Tunc-Ozdemir等2013a
<i>AtCNGC8</i>	花粉	花粉发育	Bock等2006; Tunc-Ozdemir等2013a
<i>AtCNGC9</i>		花粉发育	Tunc-Ozdemir等2013a
<i>AtCNGC10</i>	根(内皮层和表皮)、花	花粉发育、根的向地性生长、细胞分裂和生长、植物耐盐	Borsics等2007; Christopher等2007; Guo等2008, 2010; Jin等2015
<i>AtCNGC11</i>		植物免疫	Yoshioka等2006; Urquhart等2007; Baxter等2008; Abdel-Hamid等2013
<i>AtCNGC12</i>		植物免疫	Yoshioka等2006; Urquhart等2007; Baxter等2008; Abdel-Hamid等2013
<i>AtCNGC16</i>	花粉	花粉发育	Chang等2007; Tunc-Ozdemir等2013b
<i>AtCNGC18</i>	花粉管顶端	花粉管的极性生长	Chang等2007; Frietsch等2007
<i>AtCNGC19</i>	根、叶的维管系统	耐盐性、植物免疫	Kugler等2009; Mosher等2010
<i>AtCNGC20</i>	根皮层, 花的心皮和萼片, 保卫细胞和接近叶脉的叶肉	耐盐性、植物免疫	Kugler等2009; Mosher等2010

*AtCNGC13-15、17*尚未见报道。

端具有一个很陡的钙离子梯度和微丝的动态(陈晓亚和薛红卫2012)。而CNGCs的异源表达显示其对 Ca^{2+} 有渗透性, 是一种 Ca^{2+} 吸收类型的通道(Spalding和Harper 2011)。拟南芥CNGCs家族中*AtCNGC7*、8、16、18均在花粉中特异性表达, *AtCNGC10*在花中表达, *AtCNGC20*在心皮中表达(表1)。可见, CNGCs在花粉管的生长过程中具有重要作用。

为了探究不同CNGCs家族成员在花粉发育中的作用, 学者们展开了大量的研究。Chang等(2007)研究发现, 超表达*AtCNGC18*的植株花粉管变宽、变短, 而外界较低的 Ca^{2+} 浓度会抑制超表达*AtCNGC18*后花粉管的去极化生长, 并发现CNGC18-YFP (yellow fluorescent protein)定位于高尔基体小泡和花粉管顶端的质膜上, 但野生型植物特异Rho类蛋白(Rho related GTPase from plants, ROP1)的表达或ROP1的激活态会增强CNGC18-YFP在花粉管顶端质膜上的定位, 而RopGAP1 (ROP1的钝化剂)的表达会阻碍CNGC18-YFP的质膜定位, 因此认为

*AtCNGC18*参与花粉管的极化生长可能是通过调节 Ca^{2+} 内流实现的。同时, Frietsch等(2007)通过遗传学杂交实验发现, *AtCNGC18*的突变会导致花粉不育, 推测其根本原因是*AtCNGC18*的突变导致花粉管畸形、变短、变薄从而不能携带精子, 导致雄性不育; 对GFP-CNGC18的研究显示在不断生长的花粉尖端有一个极化的不对称的定位, 在花粉管顶端萌发花粉粒时也可以看到GFP-CNGC18的极化分布; 大肠杆菌异源表达显示CNGC18可介导 Ca^{2+} 转运, 认为CNGC18可产生直接将环核苷酸信号转换为离子流的机制, 而且这一机制调节花粉管定向生长的局部信号。Tunc-Ozdemir等(2013a)使用扫描共聚焦显微镜发现GFP-CNGC7定位在花粉管生长锥两侧的质膜上, 表明其与花粉管的定向生长有关; 利用反向遗传学技术发现*cngc7*和*cngc8*的双突变体会导致雄性不育, 互补后育性恢复, 可见CNGC7、8是花粉管生长所必需的。显花植物的生殖生长期对温湿度十分敏感, 研究发现在高

温和干旱胁迫条件下 *atcngc16* 的花粉质量和结实率降低, 互补后表型完全恢复, 认为在高温和干旱胁迫下, AtCNGC16 在生殖生长中起关键作用(Tunc-Ozdemir等2013b)。有研究指出相比于WT, 拟南芥 *cngc2* 和 *cngc4* 突变体表现出生长缓慢、育性降低, 因此推断, AtCNGC2 和 AtCNGC4 在植物生殖生长中也发挥作用(Kaplan等2007)。Fortuna等(2015)研究发现, *AtCNGC2-1/DND1 (defense, no death1)* 的突变体有显著延迟开花的表型, 表明AtCNGC2 参与成花转变。然而, *dnd1* 在响应病原体时, 对病原体防御应答十分重要的信号传导分子水杨酸(salicylic acid, SA)的内源含量升高。已经证明SA作为正向调节剂影响开花时间, 那么*dnd1* 延迟开花的表型是如何产生的。为了深入了解SA和CNGCs在成花转变中的作用, 分析了PR (*pathogenesis related*) 基因22 (*cpr22*)、与*dnd1* 具有类似自身免疫表型的CNGC突变体和几个其他的CNGCs无效突变体的成花转变, 研究发现, *dnd1* 的开花延迟表型并不需要SA或SA信号, 而SA主要影响*cpr22* 的早花表型。此外AtCNGC4的突变体在成花转变中也具有作用, 而其他CNGCs突变体均没有作用, 这表明AtCNGC2 和 AtCNGC4 具有控制开花时间的特殊作用, 且这一功能独立于它们在植物免疫中的作用。以上结果充分表明CNGCs在花粉发育中具有重要意义。

2.2 植物CNGCs参与免疫反应

与其他生物体一样, 植物也经常受到多种潜在病原微生物的侵染, 然而仅有相对较少的植物因此致病, 这是由于植物中存在多种预测防御系统和一套复杂的诱导防御系统(Moeder等2011)。CNGCs正是这些防御系统中的重要组件, 在拟南芥中, 共发现了150多种阳离子转运蛋白, 但是到目前为止, 在植物免疫中响应Ca²⁺信号转导的只有CNGCs (Moeder等2011)。研究发现, 拟南芥20个CNGCs编码基因中, 有4个基因, 即CNGC2、4、11、12, 参与对病原微生物的响应(Dodd等2010)。

早在2000年时, Clough等首次发现*AtCNGC2* 的突变体*dnd1* 与丁香假单胞菌的无毒菌株接种时, 通过维持体内较高的水杨酸含量, 使*cngc2 (dnd1)* 维持比野生型更低的生长速率, 甚至不产生过敏反应(hypersensitive response, HR)。AtCNGC2 通过促进Ca²⁺离子流, 与下游应答HR的NO相联系, 从而

在自然免疫中发挥作用(Ali等2007; Gehring 2010; Ma和Berkowitz 2011)。AtCNGC4 与 AtCNGC2 的同源性最高, 也具有植物防御作用, 其突变体*DND2 (defense, no death 2)/HLM1 (hypersensitive response-like lesion mimic 1)* 与*cngc2* 的表型一致, 具有抵御而不致死的特征(Balagué等2003; Jurlikowski等2004)。对AtCNGC2 和 AtCNGC4 无效突变体的研究显示, 二者可能参与植物抵御病原微生物的信号转导(Demidchik和Maathuis 2007)。AtCNGC2 参与防御反应, 并且通过Ca²⁺介导通道的作用参与其他方面的生理学功能。然而, 它的下游信号组分及其与同源性最高的AtCNGC4 关系仍然不甚清楚。为了确定*dnd1* 介导的信号转导的下游组分, Chin等(2013)从AtCNGC2 的T-DNA插入敲除突变体的抑制剂中筛选得到拟南芥突变体*repressor of defense no death1 (rdd1)*。*rdd1* 除了对Ca²⁺过敏外, 还抑制多数*dnd1* 介导的表型包括*dnd1* 介导的晚花表型。遗传分析表明, *RDD1* 还参与AtCNGC4 介导的信号转导。最后, 双分子荧光互补分析表明AtCNGC2 和 AtCNGC4 可能是相同通道复合体的一部分。可见, AtCNGC2 和 AtCNGC4 也就是IVb组不仅与生殖有关, 也参与植物防御; 同时证明CNGCs家族可能是通过形成复杂复合体来发挥作用。

另一个与植物抵御病原微生物有关的是拟南芥*cngc11/cngc12* 嵌合体(Yoshioka等2006; Urquhart等2007; Baxter等2008; Abdel-Hamid等2013)。Yoshioka等(2006)构建的AtCNGC11 与 AtCNGC12 嵌合体的缺失突变体*cpr22* 是一个组成型表达子, 显示对多个反应具有活性。对缺失突变体株系的研究发现, AtCNGC11 和 AtCNGC12 正向调节对霜霉病菌无毒生物型的抵御; 通过上位性分析发现, *cpr22* 调节病原菌抗性的增强需要依赖*NDR1* 和 *EDS1/PAD4* 途径, 说明此类途径都是交叉调节的; 而*cpr22* 诱导水杨酸的积累或者*PR-1* 基因的表达都不需要这些途径。后续的研究发现, AtCNGC11/12 在烟草中的瞬时表达会诱导细胞死亡, 利用电子显微镜分析显示其与程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)有相似的特性, 例如质膜收缩和囊泡形成(Urquhart等2007), 并且鉴定出AtCNGC11/12 中的两个对亚基间相互作用可能很重要的位点, 即G459和R381 (Abdel-Hamid等2013)。

在其他植物中, 也存在类似的功能, 如: 葡萄在

受到冷害情况下,植物与病原菌相互作用使CNGCs的表达量上调,表明CNGCs参与植物的抗病性(Wu等2014);在大麦中*AtCNGC4*的同源基因*NEC1*,其突变体表型与*dnd2/hlm1*的相同(Rostoks等2006)。因此认为CNGCs参与植物对病原体的抵御。

2.3 植物CNGCs对盐胁迫的响应

土壤中高浓度盐的积累导致根系难以利用水分,又因为 Na^+ 与 K^+ 具有相似的水合半径,因此会引起植株体内的 K^+ 亏缺,且植物体内积累过多的 NaCl 也有一定的毒害作用(Munns和Tester 2008)。Gobert等(2006)利用*AtCNGC3*无效突变体的研究发现*cngc3*在 $100\sim 140\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 条件下的发芽率更低,在 KCl 和 NH_4Cl 条件下则没有此现象;而在相同渗透势的山梨醇条件下,野生型和突变体的萌发没有显著性差异。可见,与野生型相比,在萌发阶段*cngc3*对 Na^+ 毒害更敏感。进一步使用 Na^+ 外排 $\Delta\text{ena1-4}$ 缺失的盐敏感型酵母菌株G19分析,发现转入*AtCNGC3*基因的酵母菌株会比空载体细胞积累更多的 Na^+ ,对高盐环境更敏感,表明*AtCNGC3*在酵母细胞中构成一个 Na^+ 功能渗透性通道。结合 K^+ 和 Na^+ 的吸收实验,认为在成熟植物中*AtCNGC3*可能参与离子从木质部的分配,如果将其敲除,这些离子就会过量积累,影响水势,从而造成伤害;在幼苗中*AtCNGC3*可能是 Na^+ 吸收途径的一部分,如果将其敲除,离子积累过少会导致幼苗对高 Na^+ 的敏感性降低。

异源表达发现,*AtCNGC10*可互补大肠杆菌(LB650)和酵母(CY162)的 K^+ 吸收缺陷菌株的表型,说明其参与 K^+ 的转运(Li等2005)。Borsics等(2007)构建正义的pBIN20-35S-*AtCNGC10*表达载体,转入到拟南芥*akt-1*突变体中,发现该基因能部分互补突变体的 K^+ 吸收功能;反义*AtCNGC10*基因拟南芥株系的 K^+ 水平降低40%,可见*AtCNGC10*对 K^+ 有一定的选择性,参与植物的 K^+ 稳态。Guo等(2008)研究发现盐胁迫处理后,反义*AtCNGC10*基因拟南芥株系的 Na^+ 外流增加, K^+ 外流减少,提出*AtCNGC10*可能是 Na^+ 内流和 K^+ 外流的通道。随后,通过非损伤微测技术测定沿幼苗根部不同区域的离子通量,*AtCNGC10*反义株系(A2和A3)的离子通量与野生型(WT)的显著不同(Guo等2010)。最值得注意的是,在反义株系A2和A3的分生组织和伸长区的远端 H^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的内流显著低于

WT。通过荧光寿命成像测量(FILIM)估算,发现外部介质的 Ca^{2+} 内流较低,与细胞内 Ca^{2+} 的活性较低相对应。另一方面,在A2和A3幼苗根部分生组织区域的细胞内pH值均显著低于野生型,这表明可能是通过细胞内低pH值反馈抑制 H^+ 内流进入分生组织细胞。在控制条件下,A2和A3株系成熟植物的地上部含较高的 K^+ 、低的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量,说明可能是由于木质部装载/回流和韧皮部装载的变化,干扰了这些阳离子的长距离运输(Guo等2010)。Jin等(2015)对*AtCNGC10*响应盐胁迫的作用也进行了研究,利用T-DNA插入得到*cngc10*突变体,与野生型相比,突变体在种子萌发和幼苗生长阶段的耐盐性更高。*cngc10*突变体地上部积累了较少的 Na^+ 和 K^+ , Ca^{2+} 含量变化不太;超表达*CNGC10*之后,植株对盐分更敏感;而互补之后敏感性恢复。在酵母异源表达系统中发现转入*CNGC10*后抑制酵母菌株B31(*Δena1::HIS3::ena4*,*Δnha1::LEU2*)的生长,原因是转入*CNGC10*的酵母菌株体内积累了更多的 Na^+ 。此外,*CNGC10*在根中的表达受 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 抑制,处理6 h后几乎不表达。因此提出*CNGC10*负调控拟南芥的耐盐性,并介导 Na^+ 的转运。

Leng等(1999)研究发现,*AtCNGC2*在酵母 K^+ 吸收缺陷突变体中表达时,抑制酵母菌株的生长,但利用膜片钳技术研究其在非洲爪蟾卵母细胞中的表达时,发现*AtCNGC2*是一种内整流 K^+ 通道,提出它是一种 K^+ 选择性通道。Kugler等(2009)在研究CNGCs家族IVa组成员*CNGC19*和*CNGC20*时,发现与拟南芥该家族其他成员相比,其亲水的N末端较长,并且具有一定的特异性和保守型;它们在地上部的表达会随着外界 NaCl 浓度的升高而上调,但不受山梨醇的诱导;在根部*CNGC19*不被盐浓度诱导,但在地上部被强烈诱导,*CNGC20*与其相似,因此认为*AtCNGC19*和*AtCNGC20*可能参与植物由盐胁迫引起的毒性效应,并且在 Na^+ 分配中发挥作用。Yuen和Christopher(2013)提出CNGCs的IVa组通过促进阳离子在中央液泡和胞质之间的转运参与植物对盐胁迫和病原体侵染的响应,但具体机制尚不清楚。此外,Plett和Møller(2010)对水稻 Na^+ 转运的研究中发现,在盐胁迫条件下,与盐敏感品种相比,耐盐性品种水稻的*OsCNGC1*表达量下调,从而限制了 Na^+ 内流,有利于水稻耐盐(Sen-

adheera等2009)。Ordoñez等(2014)研究发现拟南芥根部过多的 H_2O_2 会导致 K^+ 净外排速率增加, Ca^{2+} 内流速率增加, 但是环核苷酸可降低大量的 K^+ 外流。因为CNGCs具有环核苷酸结合域并且属于NSCC的一类, 可以渗透 K^+ 和 Ca^{2+} , 同时CNGCs在植物适应盐胁迫中具有重要的作用; 膜片钳实验揭示一些NSCC通道可以被 H_2O_2 或者羟自由基激活。因此Ordoñez等(2014)认为CNGCs对限制 K^+ 外流至少有部分作用。

我们课题组对荒漠早生植物霸王(*Zygophyllum xanthoxylum*)响应盐胁迫和渗透胁迫的转录组和数字基因表达谱分析发现, 霸王体内存在10个CNGCs编码基因, 其中有7个基因在盐处理或渗透胁迫下的表达丰度显著上调, 如盐胁迫6 h时, 叶中ZxCNGC1表达量上调2.5倍, 根中ZxCNGC17表达量上调2.0倍; 渗透胁迫24 h时, 叶中ZxCNGC1表达量上调3.8倍, 根中ZxCNGC17表达量上调1.9倍, 可见霸王CNGCs在抵御盐胁迫和渗透胁迫下发挥作用(柴薇薇和王锁民, 未发表数据)。综上所述, 植物CNGCs家族在耐盐性方面发挥重要作用, 但是Brini和Masmoudi(2012)认为单一的CNGCs可能在 Na^+ 吸收中不具有重要作用, 因此推测其是否是通过形成异源多聚体来发挥作用。

2.4 植物CNGCs对热胁迫的响应

陆生植物容易受到强热变化的影响, 因此必须提早感知升温变化(Saidi等2009)。细胞溶质中 Ca^{2+} 含量的增加是植物细胞对热应激的早期响应。Gao等(2012)利用反向基因分析和整体细胞的膜片钳技术发现, AtCNGC6参与植物对热应激的响应, 并且诱导 Ca^{2+} 内流, 促进热休克蛋白(heat shock protein, HSP)基因的表达。进一步研究发现, 中度热胁迫时胞质中cAMP含量增加并激活CNGC6, 同时外源的cAMP促进HSP基因的表达从而抗热。尽管CNGC16仅在花粉中表达, 但是与CNGC6相似, CNGC16的缺失会抑制HSP基因的表达, 降低花粉的耐热性(Tunc-Ozdemir等2013b)。Saidi等(2009)对小立碗藓(*Physcomitrella patens*)的研究发现, 通过质膜上的温敏 Ca^{2+} 通道热信号转变为有效的热应答响应(heat shock response, HSR), 调节 Ca^{2+} 内流从而耐热。之后Finka等(2012)发现, CNGC2和CNGC4功能的紊乱会降低热胁迫激活HSP表达所需的阈值; 在小立碗藓中与AtCNGC2同源的CNG-

Cb, 其缺失突变体表型与AtCNGC2的缺失突变体表型相同, 说明PpCNGCb参与植物的耐热性。Rikhvanov等(2014)指出在热胁迫条件下, 细胞内 Ca^{2+} 含量增加是多种CNGCs蛋白形成异源通道的结果, 而通道结构的不同会阻断或者激活 Ca^{2+} 进入细胞。由此可见, 植物CNGCs在抵御热胁迫中发挥重要作用。

2.5 其他功能

Ca^{2+} 是植物细胞中重要的第二信使, 在信号级联放大中发挥重要作用。维持细胞内的 Ca^{2+} 平衡对植物至关重要。植物CNGCs家族是 Ca^{2+} 通道且可以维持细胞内的 Ca^{2+} 稳态。AtCNGC1功能缺失突变体的地上部 Ca^{2+} 含量较低, 并且根的向地性发生改变, 认为CNGC1可能参与植物从外界介质中对 Ca^{2+} 的吸收(Ma等2006)。AtCNGC2除了在影响发育、抵御病原菌、抵御热胁迫和维持 K^+ 稳态中发挥作用外, 在根中会影响 Ca^{2+} 稳态(Demidchik和Maathuis 2007)。Ma等(2010)研究发现, 在植物发育中AtCNGC2的 Ca^{2+} 吸收作用大于在病原体防御中的作用。Qi等(2010)的研究发现, 依赖于环核苷酸门控通道CNGC2的多肽信号分子(peptide signaling molecules, AtPeps)可激活叶肉细胞质膜内向 Ca^{2+} 渗透性通道, 导致细胞内 Ca^{2+} 上升。Quiles-Pando等(2013)研究短期硼亏缺对拟南芥根部胞质 Ca^{2+} 和 Ca^{2+} 信号基因表达量的影响时, 利用基因表达谱以及表达谱验证实验发现硼缺乏6 h后, 拟南芥根部 Ca^{2+} 通道CNGC19以及其他调节 Ca^{2+} 稳态的基因表达量显著上调, 使得胞质 Ca^{2+} 含量增加, 认为CNGC19在维持 Ca^{2+} 稳态中发挥作用。

各种金属在土壤以及水体中含量过高时, 都会对植物造成严重危害, 且重金属元素可与蛋白质结合抑制酶的活性, 或者破坏质膜透性等, 从而影响植物的生长发育。对CNGCs的研究发现, 其与金属胁迫具有一定的关系。Arazi等(1999)研究烟草*NtCBP4*时发现, 转基因株系对 Ni^{2+} 的耐受性提高, 对 Pb^{2+} 更敏感, 原因可能是植株体内 Ni^{2+} 的积累降低, Pb^{2+} 的积累增加, 提出*NtCBP4*通过植物质膜积累重金属。随后, Sunkar等(2000)对AtCNGC1的研究发现, AtCNGC1敲除突变体可提高植株耐 Pb^{2+} 性。这表明CNGCs对重金属具有一定的渗透作用, 使得突变体具有植物修复功能, 可为土壤 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 等的污染治理提供解决途径。

基因的作用并非单一, Köhler等(2001)在研究 *GUS-CNGC2* 融合基因和内源 *CNGC2* 基因表达时发现该基因在调控细胞程序性死亡、子叶和叶片衰老以及花和长角果开裂中可能都发挥作用。Borsics等(2007)研究发现, *AtCNGC10* 不仅在植物耐盐性中发挥作用, 与野生型相比 *AtCNGC10* 反义株系提早开花并且延迟弯曲, 叶片表面积和柱状薄壁组织细胞的厚度和长度都减少20%, 根部响应向地性变慢, 并且叶绿体中积累更多的淀粉, 因此提出 *AtCNGC10* 是光信号转导途径的组成部分。Wang等(2013)分析基因芯片数据发现在拟南芥保卫细胞中有多个 *CNGCs* 表达, 包括 *CNGC1*、*CNGC2*、*CNGC5*、*CNGC6*、*CNGC15* 和 *CNGC20*; 膜片钳实验发现 *cngc5* 和 *cngc6* 双突变体的保卫细胞中, 激活 cGMP 的电流被强烈抑制, 但 *CNGC1*、*CNGC2* 和 *CNGC20* 的突变体没有类似的现象, 揭示在胁迫条件下 *CNGC5* 和 *CNGC6* 对拟南芥保卫细胞质膜上 cGMP 活性通道的激活具有重要作用; 并且 *cngc5* 和 *cngc6* 双突变体的保卫细胞显示功能性的激活 ABA 超极化依赖的渗透性阳离子通道、ABA 诱导的气孔关闭和整株植物对黑暗和 CO_2 浓度响应的气孔导度发生改变, 说明 *CNGC5* 和 *CNGC6* 基因在拟南芥保卫细胞质膜上编码独特的激活 cGMP 的 Ca^{2+} 渗透型非选择性阳离子通道。

3 展望

植物 *CNGCs* 参与植物生长发育的不同阶段, 在生物体生命周期中不可或缺, 并在抗性、调控等方面具有重要作用。基于目前的研究状况, 建议今后主要从以下几方面开展研究: (1) 需要利用 GFP、免疫组化、原位杂交等技术手段进一步研究该家族基因的亚细胞定位; (2) 通过对模式植物拟南芥已取得的研究成果分析, 进一步对其他植物展开研究, 从而了解 *CNGCs* 在不同类型植物中的作用; (3) 动物中 *CNGCs* 是以异源四聚体的形式发挥作用, 在植物中存在数量众多的 *CNGCs* 家族成员, 是否也存在这种机制, 尚不明确, 有待证实。如: 已经发现 *CNGC7*、*8* 与 *CNGC18* 的表型一致, 所以有必要进一步研究 *CNGC18* 是否会与 *CNGC7*、*8* 形成复杂的多聚体来发挥作用; (4) 进一步确认 *CNGCs* 参与生殖发育, 抵御胁迫的调控机制。

参考文献

陈晓亚, 薛红卫(2012). 植物生理与分子生物学(第4版). 北京: 高等

教育出版社, 490-491

- 盛仙永, 胡正海(2005). Ca^{2+} 、pH 在花粉及萌发花粉管生长中的作用研究进展. 西北植物学报, 25 (1): 194-199
- Abdel-Hamid H, Chin K, Moeder W, Shahinas D, Gupta D, Yoshioka K (2013). A suppressor screen of the chimeric *AtCNGC11/12* reveals residues important for intersubunit interactions of cyclic nucleotide-gated ion channels. *Plant Physiol*, 162 (3): 1681-1693
- Ali R, Ma W, Lemtiri-Chlieh F, Tsaltas D, Leng Q, von Bodman S, Berkowitz GA (2007). Death don't have no mercy and neither does calcium: *Arabidopsis* CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL2 and innate immunity. *Plant Cell*, 19 (3): 1081-1095
- Arazi T, Sunkar R, Kaplan B, Fromm H (1999). A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni^{2+} tolerance and Pb^{2+} hypersensitivity in transgenic plants. *Plant J*, 20 (2): 171-182
- Arazi T, Kaplan B, Fromm H (2000). A high-affinity calmodulin-binding site in a tobacco plasma-membrane channel protein coincides with a characteristic element of cyclic nucleotide-binding domains. *Plant Mol Biol*, 42 (4): 591-601
- Arvind L, Ponting CP (1997). The GAF domain: an evolutionary link between diverse phototransduction proteins. *Trends Biochem Sci*, 22: 458-459
- Balagué C, Lin B, Alcon C, Flottes G, Malmström S, Köhler C, Neuhaus G, Pelletier G, Gaymard F, Roby D (2003). HLM1, an essential signaling component in the hypersensitive response, is a member of the cyclic nucleotide-gated channel ion channel family. *Plant Cell*, 15 (2): 365-379
- Baxter J, Moeder W, Urquhart W, Shahinas D, Chin K, Christendat D, Kang HG, Angelova M, Kato N, Yoshioka K (2008). Identification of a functionally essential amino acid for *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated ion channels using the chimeric *AtCNGC11/12* gene. *Plant J*, 56 (3): 457-469
- Biswas KH, Badireddy S, Rajendran A, Anand GS, Visweswariah SS (2015). Cyclic nucleotide binding and structural changes in the isolated GAF domain of *Anabaena adenyllyl cyclase*, CyaB2. *PeerJ*, 3: e882
- Bock KW, Honys D, Ward JM, Padmanaban S, Nawrocki EP, Hirschi KD, Twell D, Sze H (2006). Integrating membrane transport with male gametophyte development and function through transcriptomics. *Plant Physiol*, 140 (4): 1151-1168
- Borsics T, Webb D, Andeme-Ondzighi C, Staehelin LA, Christopher DA (2007). The cyclic nucleotide-gated calmodulin-binding channel *AtCNGC10* localizes to the plasma membrane and influences numerous growth responses and starch accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 255 (3): 563-573
- Bridges D, Fraser ME, Moorhead GB (2005). Cyclic nucleotide binding proteins in the *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* genomes. *BMC Bioinformatics*, 6 (2): 285-289
- Brini F, Masmoudi K (2012). Ion transporters and abiotic stress tolerance in plants. *ISRN Mol Biol*, doi:10.5402/2012/927436
- Chan CW, Schorrak LM, Smith Jr RK, Bent AF, Sussman MR (2003). A cyclic nucleotide-gated ion channel, *CNGC2*, is crucial for plant development and adaptation to calcium stress. *Plant Physiol*, 132 (2): 728-731

- Chang F, Yan A, Zhao LN, Wu WH, Yang Z (2007). A putative calcium-permeable cyclic nucleotide-gated channel, CNGC18, regulates polarized pollen tube growth. *J Integr Plant Biol*, 49 (8): 1261~1270
- Chen JQ, Yin H, Gu JP, Li LT, Liu Z, Jiang XT, Zhou HS, Wei SW, Zhang SL, Wu JY (2015). Genomic characterization, phylogenetic comparison and differential expression of the cyclic nucleotide-gated channels gene family in pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Genomics*, 105: 39~52
- Chin K, Moeder W, Yoshioka K (2009). Biological roles of cyclic-nucleotide-gated ion channels in plants: what we know and don't know about this 20 member ion channel family. *Botany*, 87 (10): 668~677
- Chin K, DeFalco TA, Moeder W, Yoshioka K (2013). The *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channels AtCNGC2 and AtCNGC4 work in the same signaling pathway to regulate pathogen defense and floral transition. *Plant Physiol*, 163 (2): 611~624
- Christopher DA, Borsics T, Yuen CYL, Ullmer W, Andème-Ondzighi C, Andres MA, Kang B-H, Staehelin LA (2007). The cyclic nucleotide gated cation channel AtCNGC10 traffics from the ER via Golgi vesicles to the plasma membrane of *Arabidopsis* root and leaf cells. *BMC Plant Biol*, 7 (1): 48
- Clough SJ, Fengler KA, Yu IC, Lippok B, Smith RK, Bent AF (2000). The *Arabidopsis dnd1* "defense, no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (16): 9323~9328
- Cukkemane A, Seifert R, Kaupp UB (2011). Cooperative and uncooperative cyclic-nucleotide-gated ion channels. *Trends Biochem Sci*, 36 (1): 55~64
- Demidchik V, Maathuis FJM (2007). Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *New Phytol*, 175 (3): 387~404
- Dodd AN, Kudla J, Sanders D (2010). The language of calcium signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 61 (4): 593~620
- Fesenko EE, Kolesnikov SS, Lyubarsky AL (1985). Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature*, 313 (6000): 310~313
- Finka A, Cuendet AFH, Maathuis FJM, Saidi Y, Goloubinoff P (2012). Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell*, 24 (8): 3333~3348
- Fischer C, Kugler A, Hoth S, Dietrich P (2013). An IQ domain mediates the interaction with calmodulin in a plant cyclic nucleotide-gated channel. *Plant Cell Physiol*, 54 (4): 573~584
- Fortuna A, Lee J, Ung H, Chin K, Moeder W, Yoshioka K (2015). Crossroads of stress responses, development and flowering regulation—the multiple roles of Cyclic Nucleotide Gated Ion Channel 2. *Plant Signal Behav*, 10 (3): e989758
- Frietsch S, Wang YF, Sladek C, Poulsen LR, Romanowsky SM, Schroeder JI, Harper JF (2007). A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (36): 14531~14536
- Gao F, Han XW, Wu JH, Zheng SZ, Shang ZL, Sun DY, Zhou RG, Li B (2012). A heat-activated calcium-permeable channel—*Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 6—is involved in heat shock responses. *Plant J*, 70 (6): 1056~1069
- Gehring C (2010). Adenyl cyclases and cAMP in plant signaling - past and present. *Cell Commun Signal*, 15 (7): 8~15
- Gobert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJ (2006). *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *J Exp Bot*, 57 (4): 791~800
- Guo KM, Babourina O, Christopher DA, Borsics T, Rengel Z (2008). The cyclic nucleotide-gated channel, AtCNGC10, influences salt tolerance in *Arabidopsis*. *Physiol Plant*, 134 (4): 499~507
- Guo KM, Babourina O, Christopher DA, Borsics T, Rengel Z (2010). The cyclic nucleotide-gated channel AtCNGC10 transports Ca^{2+} and Mg^{2+} in *Arabidopsis*. *Physiol Plant*, 139 (3): 303~312
- Hua BG, Mercier RW, Zielinski RE, Berkowitz GA (2003). Functional interaction of calmodulin with a plant cyclic nucleotide gated cation channel. *Plant Physiol Biochem*, 41 (10): 945~954
- Jin YK, Jing W, Zhang Q, Zhang WH (2015). Cyclic nucleotide gated channel 10 negatively regulates salt tolerance by mediating Na^{+} transport in *Arabidopsis*. *J Plant Res*, 128 (1): 211~220
- Jurkowski GI, Smith Jr RK, Yu IC, Ham JH, Sharma SB, Klessig DF, Fengler KA, Bent AF (2004). *Arabidopsis DND2*, a second cyclic nucleotide-gated ion channel gene for which mutation causes the "defense, no death" phenotype. *Mol Plant Microbe Interact*, 17 (5): 511~520
- Kaplan B, Sherman T, Fromm H (2007). Cyclic nucleotide-gated channels in plants. *FEBS Lett*, 581 (12): 2237~2246
- Köhler C, Merkle T, Roby D, Neuhaus G (2001). Developmentally regulated expression of a cyclic nucleotide-gated ion channel from *Arabidopsis* indicates its involvement in programmed cell death. *Planta*, 213 (3): 327~332
- Kugler A, Köhler B, Palme K, Wolff P, Dietrich P (2009). Salt-dependent regulation of a CNG channel subfamily in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 9 (4): 179~182
- Leng Q, Mercier RW, Yao W, Berkowitz GA (1999). Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel. *Plant Physiol*, 121 (3): 753~761
- Lemtiri-Chlieh F, Berkowitz GA (2004). Cyclic adenosine monophosphate regulates calcium channels in the plasma membrane of *Arabidopsis* leaf guard and mesophyll cells. *J Biol Chem*, 279 (34): 35306~35312
- Li X, Borsics T, Harrington HM, Christopher DA (2005). *Arabidopsis* AtCNGC10 rescues potassium channel mutants of *E. coli*, yeast and *Arabidopsis* and is regulated by calcium/calmodulin and cyclic GMP in *E. coli*. *Funct Plant Biol*, 32 (7): 643~653
- Ma W, Ali R, Berkowitz GA (2006). Characterization of plant phenotypes associated with loss-of-function of AtCNGC1, a plant cyclic nucleotide gated cation channel. *Plant Physiol Biochem*, 44 (1): 494~505
- Ma W, Smigel A, Walker RK, Moeder W, Yoshioka K, Berkowitz GA (2010). Leaf senescence signaling: The Ca^{2+} -conducting *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated channel2 acts through nitric oxide to repress senescence programming. *Plant Physiol*, 154 (2): 733~743
- Ma W, Berkowitz GA (2011). Ca^{2+} conduction by plant cyclic nucleotide gated channels and associated signaling components in

- pathogen defense signal transduction cascades. *New Phytol*, 190 (3): 566–572
- Mäser P, Thomine S, Schroeder JI, Ward JM, Hirschi K, Sze H, Talke IN, Amtmann A, Maathuis FJ, Sanders D et al (2001). Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126 (4): 1646–1667
- Moeder W, Urquhart W, Ung H, Yoshioka K (2011). The role of cyclic nucleotide-gated ion channels in plant immunity. *Mol Plant*, 4 (3): 442–452
- Mosher S, Moeder W, Nishimura N, Jikumaru Y JS-H, Urquhart W, Klessig DF, Kim S-K, Nambara E, Yoshioka K (2010). The lesion mimic mutant *cpr22* shows alterations in abscisic acid signaling and abscisic acid insensitivity in a salicylic acid-dependent manner. *Plant Physiol*, 152 (4): 1901–1913
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59 (1): 651–681
- Nawaz Z, Kakar KU, Saand MA, Shu QY (2014). Cyclic nucleotide-gated ion channel gene family in rice, identification, characterization and experimental analysis of expression response to plant hormones, biotic and abiotic stresses. *BMC Genomics*, 15 (1): 853–870
- Ordoñez NM, Maronedze C, Thomas L, Pasqualini S, Shabala L, Shabala S, Gehring C (2014). Cyclic mononucleotides modulate potassium and calcium flux responses to H₂O₂ in *Arabidopsis* roots. *FEBS Lett*, 588 (6): 1008–1015
- Plett DC, Möller IS (2010). Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant Cell Environ*, 33 (4): 612–626
- Qi Z, Verma R, Gehring C, Yamaguchi Y, Zhao Y, Ryan CA, Berkowitz GA (2010). Ca²⁺ signaling by plant *Arabidopsis thaliana* Pep peptides depends on AtPepR1, a receptor with guanylyl cyclase activity, and cGMP-activated Ca²⁺ channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (49): 21193–21198
- Quiñes-Pando C, Rexach J, Navarro-Gochicoa MT, Camacho-Cristóbal JJ, Herrera-Rodríguez MB, González-Fontes A (2013). Boron deficiency increases the levels of cytosolic Ca²⁺ and expression of Ca²⁺-related genes in *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant Physiol Biochem*, 65 (6): 55–60
- Rikhvanov EG, Fedoseeva IV, Pyatrikas DV, Borovskii GB, Voinikov VK (2014). Role of mitochondria in the operation of calcium signaling system in heat-stressed plants. *Russ J Plant Physiol*, 61 (2): 141–153
- Rostoks N, Schmierer D, Mudie S, Drader T, Brueggeman R, Caldwell DG, Waugh R, Kleinhofs A (2006). Barley necrotic locus *necl* encodes the cyclic nucleotide-gated ion channel 4 homologous to the *Arabidopsis* HLM1. *Mol Genet Genomics*, 275 (2): 159–168
- Saidi Y, Finka A, Muriset M, Bromberg Z, Weiss YG, Maathuis FJ, Goloubinoff P (2009). The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell*, 21 (9): 2829–2843
- Schuurink RC, Shartzer SF, Fath A, Jones RL (1998). Characterization of a calmodulin-binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (4): 1944–1949
- Senadheera P, Singh RK, Maathuis FJM (2009). Differentially expressed membrane transporters in rice roots may contribute to cultivar dependent salt tolerance. *J Exp Bot*, 60 (9): 2553–2563
- Spalding EP, Harper JF (2011). The ins and outs of cellular Ca²⁺ transport. *Curr Opin Plant Biol*, 14 (6): 715–720
- Sunkar R, Kaplan B, Bouché N, Arazi T, Dolev D, Talke IN, Maathuis FJM, Sanders D, Bouchez D, Fromm H (2000). Expression of a truncated tobacco *NiCBP4* channel in transgenic plants and disruption of the homologous *Arabidopsis* *CNGC1* gene confer Pb²⁺ tolerance. *Plant J*, 24 (4): 533–542
- Talke IN, Blaudez D, Maathuis FJ, Sanders D (2003). CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signalling? *Trends Plant Sci*, 8 (6): 286–293
- Tunc-Ozdemir M, Tang C, Ishka MR, Brown E, Groves NR, Myers CT, Rato C, Poulsen LR, McDowell S, Miller G et al (2013a). A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development. *Plant Physiol*, 161 (2): 1010–1020
- Tunc-Ozdemir M, Rato C, Brown E, Rogers S, Mooneyham A, Frietsch S, Myers CT, Poulsen LR, Malhó R, Harper JF (2013b). Cyclic nucleotide gated channels 7 and 8 are essential for male reproductive fertility. *PLoS ONE*, 8 (2): e55277
- Urquhart W, Gunawardena AH, Moeder W, Ali R, Berkowitz GA, Yoshioka K (2007). The chimeric cyclic nucleotide-gated ion channel ATCNGC11/12 constitutively induces programmed cell death in a Ca²⁺ dependent manner. *Plant Mol Biol*, 65 (6): 747–761
- Wang Y, Munemasa S, Nishimura N, Ren HM, Robert N, Han M, Puzđrjova I, Kollist H, Lee S, Mori I et al (2013). Identification of cyclic GMP-activated nonselective Ca²⁺-permeable cation channels and associated *CNGC5* and *CNGC6* genes in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiol*, 163 (2): 578–590
- Wu J, Zhang Y, Yin L, Qu JJ, Lu J (2014). Linkage of cold acclimation and disease resistance through plant-pathogen interaction pathway in *Vitis amurensis* grapevine. *Funct Integr Genomics*, 14 (4): 741–755
- Yoshioka K, Moeder W, Kang HG, Kachroo P, Masmoudi K, Berkowitz G, Klessig DF (2006). The chimeric *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 11/12 activates multiple pathogen resistance responses. *Plant Cell*, 18 (3): 747–763
- Young EC, Krougliak N (2004). Distinct structural determinants of efficacy and sensitivity in the ligand-binding domain of cyclic nucleotide-gated channels. *J Biol Chem*, 279 (5): 3553–3562
- Yuen CCY, Christopher DA (2013). The group IV-A cyclic nucleotide-gated channels, CNGC19 and CNGC20, localize to the vacuole membrane in *Arabidopsis thaliana*. *AoB Plants*, 5 (8): 319–327
- Zelman AK, Dawe A, Gehring C, Berkowitz GA (2012). Evolutionary and structural perspectives of plant cyclic nucleotide-gated cation channels. *Front Plant Sci*, 3: 95