植物学通报 *Chinese Bulletin of Botany* 2008, **25** (3): 255–267, www.chinbullbotany.com

·综述·

Ca^{2+}在植物细胞对逆境反应和适应中的调节作用

简令成, 王红*

中国科学院植物研究所光合作用与环境分子生理学重点实验室, 北京 100093

摘要 钙离子(Ca^{2+})信号在植物的生长发育及其对环境的反应和适应中起着十分重要的作用。本文对Ca^{2+}在植物细胞对低温、干旱和盐渍化逆境的反应和适应中的调节功能作一概述, 论述的主要问题包括: (1)Ca^{2+}的亚细胞定位与分布, 细胞内Ca^{2+}相对低水平的稳态平衡是Ca^{2+}信号发生的基础; (2)Ca^{2+}信号的优越性及其发生与传递; (3)Ca^{2+}充当低温信号的传递者诱导抗寒锻炼和基因表达; (4)细胞内高水平Ca^{2+}持久性调控越冬木本植物的生理休眠; (5)Ca^{2+}对干旱、盐渍化及其渗透胁迫的调节作用; (6)Ca^{2+}参与气孔开关运动的调节; (7)Ca^{2+}参与逆境中细胞壁加厚和加固的调节。

关键词 非生物胁迫, 钙, 钙信号传递, 抗寒锻炼, 木本植物生理休眠, 抗性基因表达

简令成, 王红 (2008). Ca^{2+}在植物细胞对逆境反应和适应中的调节作用. 植物学通报 **25**, 255–267.

已有各方面的证据证明, 钙离子(Ca^{2+})在生物有机体的生命活动中起着重要的作用, 它参与有机体的生长、发育、衰老和病理, 以及对环境的反应和适应等各种生命过程。在对环境刺激反应方面, 它作为细胞的第二信使, 在将细胞表面的刺激信号传递给细胞内部的过程中, 几乎起着全能性的离子信使的作用。目前所知, 还没有一种分子(如cAMP、cGMP、ABA和ROS等)能像Ca^{2+}一样具有如此广泛的信使作用, 成为植物对逆境反应机制研究中最为关注的信号分子和热门课题。我们根据10多年来的研究工作并结合国内外有关文献对Ca^{2+}在植物抗寒和生理休眠中的调节作用进行综述。

1 Ca^{2+}的亚细胞定位与分布

对测定活细胞内Ca^{2+}浓度的方法已有许多研究, 现今常用的有3种。(1)水母发光蛋白(aequorin)。它与Ca^{2+}结合激发出蓝色荧光, 荧光强度与Ca^{2+}浓度呈正相关。此方法灵敏度较高, 但由于水母发光蛋白分子量较大, 必须采用微注射法注入细胞。现已通过基因工程, 获得了水母发光蛋白的转基因植株, 如烟草、拟南芥等, 这是一个重大进展。(2)荧光指示剂。这是Tsein等(1984)发展的新一代Ca^{2+}荧光染料, 属于四羧酸盐类, 其中有quin-2、Fura-2和Indo-1等, 它们本来是疏脂亲水分子, 不能穿过质膜进入细胞, 但经酯化后能穿过质膜进入细胞内, 并在细胞质基质中被非特异性酯酶水解, 又重新成为亲水分子与Ca^{2+}结合, 因而能在细胞质基质中自由扩散, 但不能进入细胞器, 在显微荧光分光光度计下, 可以连续监测细胞质基质中Ca^{2+}水平的变化, 因而它们被广泛地采用。(3)焦锑酸钾(potassium antimonate)沉淀法。焦锑酸钾与化学固定剂相混合进入细胞内, 与Ca^{2+}结合生成锑酸钙沉淀, 在电镜下呈现出电子致密的黑色颗粒物, 因而可以形象化地显示Ca^{2+}在细胞内外各部位的定位与分布, 并可进一步通过计算机图像处理进行定量分析。此方法的缺点是灵敏度较低, 且不能进行活细胞动态观察。

通过这些方法获得的大量测试结果显示, 细胞的不同部位及不同细胞器内的Ca^{2+}浓度梯度是不同的; 细胞内的Ca^{2+}浓度处于相对低水平的稳态平衡中。这不仅是保证正常代谢过程所必需的, 而且是Ca^{2+}信号发生过程的基础(Bush, 1995; Sanders et al., 1999)。

1.1 质膜

正常情况下, Ca^{2+}分布的最大梯度存在于质膜内外。在

收稿日期: 2007-04-09; **接受日期**: 2007-09-28
基金项目: 国家自然科学基金(No. 60575018)
* **通讯作者**。E-mail: wangh@ibcas.ac.cn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

无刺激状态下，质膜内侧细胞质基质中的Ca^{2+}浓度维持在10^{-6}-10^{-7} mol·L^{-1}，而质膜外侧(细胞外)的Ca^{2+}浓度比质膜内侧细胞质基质中的Ca^{2+}浓度高100-1 000倍。跨质膜的电位势是-150--200 mV。胞外Ca^{2+}主要分布在细胞壁和细胞间隙(intercellular spaces)中，二者是胞外Ca^{2+}的主要贮存库。平时，细胞质基质(cytosol)中的Ca^{2+}和质膜外侧(细胞外)的Ca^{2+}保持一种稳态平衡(homeostasis)。细胞内的生理变化及外界环境刺激会改变质膜内外的电位势和细胞壁的pH值，导致胞外Ca^{2+}跨质膜内流。但内流时间很短暂，很快又会恢复到稳态平衡。这种细胞质Ca^{2+}水平的短暂性升降是Ca^{2+}行使信使作用的基础(Bush, 1995; Sanders et al., 1999)。

1.2 液泡

液泡被认为是植物细胞的主要Ca^{2+}库，其中的Ca^{2+}浓度约为10^{-3} mol·L^{-1}，是细胞质基质Ca^{2+}水平升高的重要源泉。液泡膜上有2种释放Ca^{2+}的通道：一种是受IP_3调节的Ca^{2+}通道；另一种是受电压门控的Ca^{2+}通道(Sanders et al., 1999)。

1.3 内质网

在动物细胞内，内质网被认为是主要Ca^{2+}贮存库，其中含有丰富的Ca^{2+}束缚蛋白。在植物细胞中，由于液泡成为主要Ca^{2+}库，内质网的Ca^{2+}贮存作用被降低。根据对内质网小泡(ER vesicles)的测定，其中的Ca^{2+}浓度一般为3-4 mol·L^{-1}，最高不超过50 mol·L^{-1}。

1.4 质体和线粒体

质体和线粒体中的Ca^{2+}大多与磷酸盐形成复合物，其中的Ca^{2+}浓度一般处在微摩尔(μmol·L^{-1})水平上。质体和线粒体中的Ca^{2+}水平高于细胞质基质，这是由于光合作用和呼吸作用造成磷酸盐浓度较高，从而吸引Ca^{2+}内流。

1.5 细胞核

细胞核内Ca^{2+}水平的测定比细胞质困难，因为核膜孔足以使Ca^{2+}自由扩散。不过，实际测定结果显示，核内的Ca^{2+}浓度水平与细胞质基质一样也是很低的。Jian等(1999, 2000a, 2000d)的研究揭示，在外界刺激的作用下，核内的Ca^{2+}流入比细胞质基质更迅速，这暗示信号传递对核基因的启动具有更重要的作用。在结构上，双层核膜间的内腔(核周腔)和内质网腔是相互连通的，这可能为Ca^{2+}信号在核和细胞质中的协调传递奠定了结构基础。

2 Ca^{2+}信号的发生与传递

钙离子作为胞内第二信使是在生物进化过程中被优选出来的，它具备充当信使功能的一切最佳特性。自然界赋予生物体4种阳离子，即Na^+、K^+、Ca^{2+}和Mg^{2+}。在这4种阳离子中，Ca^{2+}有2个突出的优点：(1)在细胞内外分布的浓度梯度上，Ca^{2+}的细胞内浓度是在10^{-6} mol·L^{-1}以下，而Na^+、K^+、Mg^{2+}的胞内浓度都在10^{-3} mol·L^{-1}以上；Ca^{2+}的浓度胞内比胞外低1000-10 000倍，胞内外浓度差距大最适合于信号传递功能的发生。(2)在与蛋白质结合的牢固性与特异性上，Ca^{2+}也优于其它3种离子，Ca^{2+}与蛋白质结合不仅十分牢固，而且有高度的特异性，这是作为胞内信使最基本的条件(张云和薛绍白，1990)。

2.1 细胞内Ca^{2+}水平的短暂性升高与Ca^{2+}信号的发生

在非激发状态下，细胞内的Ca^{2+}浓度是被严格地控制在最低水平(100-200 nmol·L^{-1})。当受外界刺激时，引发质膜上Ca^{2+}通道开放，导致胞外Ca^{2+}内流。同时，也引起细胞内钙库(液泡)的Ca^{2+}释放，结果造成核和细胞质基质中Ca^{2+}水平的迅速升高，从而形成Ca^{2+}信号。增加的Ca^{2+}起着信使作用，它通过与钙调蛋白(如钙调素CaM)的结合，形成活化的Ca^{2+}-CaM复合体，进而活化一系列靶酶，引发一系列生理生化过程，从调节离子运输到基因表达，最终达到(从细胞结构和功能上)对外界刺激作出相应的适应性反应。但是，高浓度Ca^{2+}的长期存在会对细胞产生毒害作用，于是Ca^{2+}又产生了一种促

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

使 Ca^{2+} 撤退的反馈机制。当细胞质基质中的 Ca^{2+} 浓度增加到 1 mol·L^{-1}时, 增加的Ca^{2+} 就与CaM 结合, 对质膜和液泡膜上的钙泵 Ca^{2+}-ATPase 起激活作用, 从而将增加的Ca^{2+} 又泵回到细胞外及液泡Ca^{2+}库中, 使细胞内的 Ca^{2+} 又恢复到刺激前的低水平, 保证了Ca^{2+} 增加是一个短暂性过程(Jian et al., 1999, 2000a, 2000d)。

2.2 Ca^{2+}信号的传递

Ca^{2+}信号的产生是短暂瞬时性的, 而Ca^{2+}信号的传递则是一个有序的持续性过程, 最终达到对刺激信号作出相应的反应与适应。Ca^{2+} 信号传递的第一步是 Ca^{2+} 与 CaM 结合, 形成 Ca^{2+}-CaM 复合体, 使 CaM 从非活化构象转变成活化构象, 从而介导和协调细胞内各种依赖 Ca^{2+} 的生理生化过程。Ca^{2+} 信号传递的第二步是通过 Ca^{2+}-CaM 复合体从2个方面发挥作用, 一是直接作用于效应系统, 例如 Ca^{2+}-CaM 复合体激活质膜和液泡膜 Ca^{2+}-ATP 酶, 使增加的 Ca^{2+} 撤退; 二是 Ca^{2+} 信号还可以不经过CaM, 直接作用于效应系统, 产生调控作用, 例如增加的 Ca^{2+} 激活质膜 K^+ 外流通道, 促使 K^+ 外流。Ca^{2+}-CaM 复合体传递信号的另一条途径是通过对蛋白激酶和蛋白磷酸酶的激活, 促使效应蛋白质磷酸化和去磷酸化。这是一条极其重要的信号传递途径, 它调节着抗逆性基因的表达。例如 Monroy 等(1993, 1998)揭示, 在低温诱导苜蓿细胞 Ca^{2+} 流入和 *CAS15* 基因表达中, 一种15 kDa蛋白的磷酸化水平比低温处理前提高10多倍; 此外, 当催化蛋白磷酸化的蛋白激酶受到抑制剂 staurosporine 抑制时, 抗冻基因的表达水平也被强烈地抑制。他们的实验还揭示, 在 25°C 非低温条件下, 应用 Ca^{2+} 载体及Ca^{2+} 通道促活剂促进细胞的Ca^{2+}流入, 会引起蛋白磷酸酶(PP2A)活性降低; 或应用抑制剂 okadaic acid 抑制 PP2A 的活性, 也能诱发抗冻基因 *CAS15* 的表达(Monrog and Dhindsa, 1995; Monroy et al., 1998)。在低温引起的 Ca^{2+} 流入过程中, 苜蓿和拟南芥中依赖 Ca^{2+} 的蛋白激酶的转录水平也升高(Monroy and Dhindsa, 1995; Tahtiharju et al., 1997)。

3 Ca^{2+}充当低温信号的传递分子诱导抗寒锻炼

近年来发现, 低温引发的细胞内 Ca^{2+} 水平升高, 在抗寒锻炼中起着十分重要的作用。Ca^{2+} 充当低温信号的传递信使, 启动抗寒锻炼, 诱导抗寒基因的表达(Monroy and Dhindsa, 1995; Knight, 2000)。

3.1 冷诱导细胞质基质(cytosol)Ca^{2+}水平的升高

通过放射性 Ca^{2+}($^{45}Ca^{2+}$)示踪技术显示, 在 2°C 低温处理下, $^{45}Ca^{2+}$ 迅速进入小麦根细胞, 导致细胞质基质 Ca^{2+} 水平的升高(Erlandson and Jensen, 1989)。在玉米根细胞内也观测到同样的结果, 并揭示这种Ca^{2+}流入是由于低温提高了质膜钙通道的透性。应用 Ca^{2+} 通道阻断剂 La 处理, 会强烈地抑制 Ca^{2+}浓度增加(Rincon and Hauson, 1986; de Nisi and Zocchi, 1996)。4°C 冷低温处理也能诱导钙($^{45}Ca^{2+}$)进入苜蓿原生质体。同样, 应用各种Ca^{2+}通道阻断剂和 Ca^{2+}螯合剂BAPTA也都抑制放射性 Ca^{2+} 的进入(Monroy and Dhindsa, 1995)。通过采用 Ca^{2+} 结合受体蛋白 —— 水母发光蛋白的转基因植物测定Ca^{2+}浓度, 显示在整体植株上冷诱导的Ca^{2+}流入和细胞质基质中的短暂性Ca^{2+}增加, 并对比多种 Ca^{2+} 通道阻断剂的抑制效应。用这种方法测试的植物包括烟草(Knight et al., 1991, 1992, 1993)、拟南芥(Knight et al., 1996; Lewis et al., 1997)和苔藓(Russell et al., 1996)等。所有结果都进一步揭示和证实, 低温下的Ca^{2+}流入是由于质膜上电压门控Ca^{2+}通道(voltage-gated Ca^{2+} channel)的开放所导致的。

Minorsky 和 Spanswick(1989)曾利用微电极测试黄瓜根的单个皮层细胞在迅速冷却过程中膜的去极化, 结果显示, 膜的去极化是随着温度降低的速度和幅度逐步发展的, 暗示植物细胞具有一种冷感应机制。Ding和 Pickard(1993a, 1993b)曾鉴定出质膜上存在一种机械冷敏感性的 Ca^{2+} 通道, 其活性随着温度的降低而增加。Lewis等(1997)采用水母发光蛋白的转基因拟南芥, 对冷诱导的膜去极化和细胞质基质中的 Ca^{2+} 增加进行了平

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

行测定，结果显示，几乎所有刺激都引起膜的去极化和细胞内 Ca^{2+} 增加。在用阴离子通道抑制剂 NPBB 处理后，冷冲击引起的去极化减少，但 Ca^{2+} 的流入不受影响。当细胞质基质 Ca^{2+} 浓度达到 $mmol \cdot L^{-1}$ 量级时，阴离子通道活性增加，并延长去极化作用。这些结果进一步指出，质膜 Ca^{2+} 通道是冷低温最初的感应器，冷低温首先使质膜去极化，活化质膜 Ca^{2+} 通道，引起 Ca^{2+} 内流。

在对水母发光蛋白转基因拟南芥的测试中还发现，冷诱导细胞质基质的 Ca^{2+} 增加，除来源于胞外 Ca^{2+} 流入外，还有经三磷酸肌醇(IP_3)介导的液泡 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 释放参与(Knight et al., 1996)。在玉米根的低温冷处理中也发现，低温能引发磷脂酰肌醇水解，产生 IP_3 (de Nisi and Zocchi, 1996) 。冬油菜幼苗在低温下，其叶片细胞中也发现 IP_3 的积累(Smoleuska and Kacperska, 1996)。这些结果进一步证明，IP_3 引发液泡 Ca^{2+} 库中 Ca^{2+} 的释放，是细胞质基质中 Ca^{2+} 增加的另一个来源。

应用焦锑酸钾沉淀的细胞化学方法进行形象化定位，显示水稻、黄瓜、玉米、小麦、小偃麦、雀麦草以及几种越冬木本植物杨树、桑树和云杉等在人工冷低温(2°C - 4°C)和短日照(8 小时光周期)处理条件下，或在自然日照缩短和秋季降温过程中，都明显地发生细胞内 Ca^{2+} 水平的升高，并显示核内 Ca^{2+} 增加快于细胞质基质中的 Ca^{2+} 增加。同时还证实，细胞质基质中的 Ca^{2+} 增加来源于2个方面：胞外 Ca^{2+} 的进入和液泡 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 释放(王红等，1994；张红等，1994；Jian et al., 1997a, 1997b, 1999, 2000a, 2000b, 2000d, 2000e, 2003, 2004a, 2004b)。

3.2 低温诱导细胞内 Ca^{2+} 增加的时空特征

由于获得了水母发光蛋白的转基因植株，因而可以在完整植株的基础上，观测低温诱导的 Ca^{2+} 流入在植株的不同部位、不同组织器官中以及不同时间上的动态变化。例如烟草幼苗在逐步降温的过程中，根和植株地上部分表现敏感性不同，当温度从 25°C 降到 17°C - 18°C 时，引发出根细胞质基质 Ca^{2+} 水平的升高；当温度进一步降低到 10°C 时，则在子叶中观察到细胞质基质的 Ca^{2+} 增加；当温度降到 2°C 时，根终止了反应，但子叶仍在继续(Campbell et al., 1996)。在拟南芥中也观测到类似的动态变化(Campbell et al., 1996)。总之，无论是烟草还是拟南芥，均表现为根在较高温度下发生反应，地上部分则在较低温度下发生反应。

当成年烟草植株受到低温作用时，先是在叶柄中显示细胞质 Ca^{2+} 增加，然后发展到整个叶片。这说明 Ca^{2+} 信号可以在组织间位移(Campbell et al., 1996)。

通过同龄苗的比较实验，烟草和拟南芥对冷冲击的 Ca^{2+} 反应也是类似的，但启动 Ca^{2+} 增加的时间烟草比拟南芥稍长，即烟草的反应速度稍慢(Knight et al., 1996)。这说明烟草和拟南芥对冷的敏感性不同，拟南芥是抗冷植物，而烟草是冷敏感性的。进而发现抗冷的拟南芥对冷刺激具有记忆力(memory)，例如其幼苗每天用 4°C 低温处理 3 小时，连续 3 天，过夜恢复，结果经预处理的植株最终 Ca^{2+} 增加的持续时间延长，反应早期的刺激信息仍然被保留，而冷敏感型的烟草则没有保留这种信息。这可能有利于冷锻炼中抗冷基因的表达(Knight, 2000)。

3.3 Ca^{2+} 在冷诱导基因表达中的调节作用

关于 Ca^{2+} 调节冷诱导基因的表达已有不少证据，例如细胞质中的 Ca^{2+} 增加对于苜蓿培养细胞的冷锻炼和抗冻基因的表达是必需的，用 Ca^{2+} 螯合剂或 Ca^{2+} 通道阻断剂处理后，冷基因的表达和抗冻性的提高明显受到抑制；反之，用 Ca^{2+} 载体 A23187 和 Ca^{2+} 通道促活剂 Bay K8644 促进细胞的 Ca^{2+} 流入，则在 25°C 非低温条件下，也能诱导抗冻基因 *CAS15* 和 *CAS18* 表达(Monroy and Dhindsa, 1995)。拟南芥抗冻基因 *KIN1* 和 *KIN2* 的表达也同样受细胞质内 Ca^{2+} 水平的调节，用 Ca^{2+} 通道阻断剂 La 或 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 降低细胞内的 Ca^{2+} 流入，则强烈地抑制了抗冻基因的表达；通过显微注射增加细胞内的 Ca^{2+} 浓度，则显著地促进抗冻基因 *KIN2* 的表达(Knight et al., 1996; Tahtihaju et al., 1997; Wu et al., 1997)。抗冷植物冬小麦和小偃麦的幼苗或培养细胞在 4°C 低温处理中，核和细胞质基质中的 Ca^{2+} 水平发生短暂性升高。低温处理 5 天后，无论是冬小麦幼苗还是培

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

养的小偃麦细胞其抗冻性均从 -3°C 提高到 -7°C，说明细胞内 Ca^{2+} 浓度的增加启动了植株和细胞的冷锻炼及抗冻基因的表达(Jian et al., 1997b, 1999, 2000d)。在柑橘原生质体培养的冷处理中也显示 Ca^{2+} 与抗冻基因表达有密切关系。在无 Ca^{2+} 的培养基中，原生质体的抗冻基因在低温锻炼中得不到充分表达；若用 Ca^{2+} 载体 A23187 处理原生质体，则其抗冻性明显提高(李卫等, 1997)。用含有 Ca^{2+} 成分的 CR-4 抗寒剂或 Ca^{2+} 溶液对水稻和黄瓜进行浸种处理，萌发后的幼苗细胞内的 Ca^{2+} 水平增加，提高了质膜 H^+-ATPase 和 5'核苷酸酶以及抗氧化酶(如 SOD、CAT 和 POD)在低温逆境中的活性，降低了膜脂过氧化，维护膜的稳定性，增加了低温胁迫中幼苗的存活率(简令成等, 1994; 李美如等, 1996)。

3.4 Ca^{2+} 流入导致冷敏感植物细胞受毒害

Minorsky(1985)首先阐述了低温引起冷敏感植物细胞的 Ca^{2+} 流入及其导致的伤害作用。这种伤害作用表现为细胞质川流活动的停止；细胞骨架的破坏；内质网和高尔基体空泡化；形成磷酸钙沉淀，从而抑制呼吸作用；抑制卡尔文循环中几种关键酶的活性，相继引起 NADP 水平的降低及活性氧增加；激活多种水解酶，如核酸内切酶和磷脂酶，最终引起核内染色质断裂和膜结构的破坏等。Jian 等(1999, 2000d)、王红等(1994)和张红等(1994)对多种冷敏感植物(如水稻、黄瓜和玉米等)在冷胁迫下细胞内 Ca^{2+} 水平的变化及细胞结构的伤害进行了研究，尤其注重与抗冷 / 冻植物 Ca^{2+} 动态的对比。研究结果表明，冷敏感植物在 2 - 4°C 低温胁迫下，与抗冷植物发生的短暂性 Ca^{2+} 增加不同，它们细胞内 Ca^{2+} 水平的升高是持续性的，不发生撤退，长时间细胞内高水平 Ca^{2+} 会造成细胞毒害。冷敏感植物与抗冷植物在低温下 Ca^{2+} 的动态变化不同，其关键的作用机制是质膜(PM)钙泵 Ca^{2+}-ATP 酶在低温下活性状态不同，抗冷植物 PM Ca^{2+}-ATP 酶具有抗冷性，在 2°C - 4°C 低温下不会受到伤害，仍能保持其活性。当细胞质内 Ca^{2+} 浓度升高到 $mmol \cdot L^{-1}$ 量级时，Ca^{2+} 就对 PM Ca^{2+}-ATP 酶产生反馈作用，Ca^{2+} 与细胞内的受体蛋白相结合激活 Ca^{2+}-ATP 酶，使之启动泵的工作，将增加的 Ca^{2+} 又泵回到细胞外，因而低温诱导抗冷植物的 Ca^{2+} 增加是短暂性的。相反，冷敏感植物的 PM Ca^{2+} 泵 Ca^{2+}-ATP 酶也是冷敏感的，在 2 - 4°C 低温下会丧失其活性，失去了泵的效能，因而增加的 Ca^{2+} 不能对它起反馈作用，以致不能使增加的 Ca^{2+} 撤退，造成细胞内长时间保持高浓度 Ca^{2+}，结果引起 Ca^{2+} 毒害(Jian et al., 1999, 2000d)。

4 细胞内高水平 Ca^{2+} 持久性调控越冬木本植物的生理休眠

越冬木本植物的生理休眠对于促进其抗冻能力和保证安全过冬具有十分重要的作用(Jian et al., 1997a)。Nitsch(1957)和 van Huystee 等(1967)揭示，木本植物越冬中进入生理休眠的动因与光周期有关。Jian 等(1997a)通过实验证实在温暖条件下(21°C - 25°C)，单一的短日照(8 小时光周期)能诱导杨树植株进入生理休眠。这个实验的重要意义在于揭示了短日照引发细胞内 Ca^{2+} 增加与生理休眠时序性进程的密切关系。当植株受到 20 天短日照处理时，细胞质基质和核内的 Ca^{2+} 浓度开始升高；当短日照处理 28 天时，则观察到生理休眠开始发育及抗冻性提高。随着短日照的持续，细胞内 Ca^{2+} 浓度持续增加，到 35 天和 49 天，细胞内 Ca^{2+} 浓度达到最高峰，此时植株进入深度生理休眠，并获得高抗冻性。这表明细胞内 Ca^{2+} 的增加可能起着诱导生理休眠发育的作用。为了进一步探讨 Ca^{2+} 的功能，我们进一步观测了杨树、桑树和云杉等木本植物在天然条件下细胞内 Ca^{2+} 水平的季节性动态与生理休眠的关系(Jian et al., 2000e, 2003, 2004b)。实验结果进一步揭示和证实，细胞内(核与细胞质)的 Ca^{2+} 进入不仅起着传递短日照信号的作用及诱导生理休眠的起始，而且高水平的核 / 质 Ca^{2+} 浓度还起着发展和保持深度生理休眠的作用。当增加的 Ca^{2+} 撤退后，生理休眠也随之终止。

我们的实验材料取自美国明尼苏达大学(University of Minnesoda)校园，位于北纬 45°，最长日照在 6 月下旬，到 8 月 8 日，日照长度缩短 1 小时 20 分钟，在此时采集的样品的超薄切片中，即观察到细胞内的 Ca^{2+} 流入。12 天后(8 月 20 日)，芽的生理休眠开始发育，此时

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

的日照长度缩短 1 小时 40 分钟。从 9 月初到 11 月底和 12 月初，细胞质和核内的 Ca^{2+} 浓度增加并维持高水平，与此同时，芽的生理休眠也达到高峰(11月)，芽休眠的时序性进程也与 Champagnat(1989)测试的结果相一致。在12月中旬采集的样品中，原先在细胞质和核内增加的 Ca^{2+} 已明显撤退；12 月 25 日测试显示芽的生理休眠已经结束。

在对缩短日照的反应上，越冬草本植物(如雀麦草和冬小麦等)与木本植物不同(Jian et al., 2003)，它们对日照缩短不敏感，夏末的日照缩短不能引发细胞内的Ca^{2+}增加。它们细胞内的 Ca^{2+} 流入只有在秋季低温的诱导下才发生，而且是暂时性的，由此启动抗寒锻炼和抗寒性的提高。越冬草本植物在进入寒冬过程中，其细胞内不发生持久性的高水平的Ca^{2+}增加，这可能是它们没有发育生理休眠的一个重要原因。

放慢生长速度或停止生长，进入休眠状态是越冬植物进行抗寒锻炼、提高抗冻性的前提条件。木本植物在对自然环境漫长的适应和演化过程中选择光周期变化(日照变短)而不是温度变化作为生理休眠的诱导因子，是它们避免寒冬冻害、安全越冬的最佳适应方式。众所周知，在季节变化过程中，各年降温情况是不稳定的，有些年份低温来得早，有些年份则可能晚。植物如果不能如期进入休眠，将得不到稳定的抗寒锻炼。然而光周期的变化在季节的转变中，年复一年始终是恒定的。例如在明尼苏达州圣保罗地区，每年到 8 月 20 日，日照长度会缩短 1 小时 40 分钟，就会引发木本植物进入生理休眠，相继进行抗寒锻炼并提高抗冻能力，保证它们安全越冬。

关于细胞内高水平 Ca^{2+} 的持久性对生理休眠的调节机制，目前尚缺乏深入的研究。一个简单的设想是(简令成等, 2004)，高浓度 Ca^{2+} 的一部分可能与细胞质和细胞核内的磷酸根(PO_4^{3-}或PO_4^{2-})结合，形成磷酸钙($Ca_3(PO_4)_2$)或磷酸氢钙($CaHPO_4$)；另一部分可能与 ATP 螯合，形成Ca^{2+}-ATP螯合物；还有一些可能与某些蛋白质结合，形成 Ca^{2+} 束缚蛋白。磷酸根、ATP 和蛋白质原本都是细胞生命活动能量和物质代谢所必需的，它们与 Ca^{2+} 结合后，成为不可利用态物质，其结果必然导致生长活动的变慢或停止，直至休眠。然而，这些物质的结合又是可逆性的，它们在细胞整体生理时序性进程中(可能受基因的时序性调控)，又能恢复各自的游离态，释放后游离的高浓度Ca^{2+}可对质膜和液泡膜上的钙泵 Ca^{2+}-ATPase 起反馈作用，激活 Ca^{2+}-ATPase，使高浓度的 Ca^{2+} 被泵回细胞外和液泡 Ca^{2+} 库中，生理休眠也随之终结。

5 Ca^{2+}对干旱、盐渍化及其渗透胁迫的调节作用

已有诸多证据表明，与对低温反应一样，Ca^{2+} 在植物细胞对干旱和盐胁迫的反应中也起着重要的信使作用。

5.1 干旱和盐胁迫引发细胞内Ca^{2+}浓度增加

Lynch 等(1989)揭示，盐胁迫引发玉米根细胞原生质体内 Ca^{2+} 水平的升高。Ca^{2+} 的存在能消除 Na^+ 盐的毒害，因而减轻和消除 Na^+ 对植物生长的抑制。例如 100 mmol·L^{-1} NaCl 严重地抑制大豆根尖的生长，但在 5 mmol·L^{-1} $CaCl_2$ 存在时，200 mmol·L^{-1} NaCl 也不能抑制这种根的正常生长(Liu et al., 2000)。通过用 Ca^{2+} 探针氯化四环素(CTC)的测定显示，在 Na^+ 盐胁迫下，质膜上被束缚的 Ca^{2+} 可能被 Na^+ 所取代，使结合于膜上的酶脱落，膜磷脂降解，从而破坏了质膜的结构(Matsumoto and Yamada, 1984)。外界溶液中适当的 Ca^{2+} 存在可能会减轻和消除 Na^+ 对膜束缚 Ca^{2+} 的取代。

外加 Ca^{2+} 可增加盐胁迫下绿豆根细胞的液泡膜 H^+-ATP 酶活性，缓解焦磷酸酶(H^+-PPase)活性的下降，降低根细胞的 H^+ 分泌和细胞质中的 Na^+ 浓度(Nakamura et al., 1992)。在大麦的盐胁迫实验中，外加 Ca^{2+} 能使根细胞质膜和液泡膜 H^+-ATPase 以及 Na^+/H^+ 反向运输活性得到保护，增加了根细胞对 K^+ 的选择性吸收和对 Na^+ 的外排作用；并通过液泡膜的 Na^+/H^+ 反向运输，将细胞质中的 Na^+ 转移到液泡中并积累，减少了 Na^+ 向地上苗的运输，降低了叶片中的 Na^+/K^+ 比，从而消除 Na^+ 毒害(章文华和刘友良, 1993; 钱骅和刘友良, 1995)。用含有 Ca^{2+} 为主要成分的CM-6抗逆剂对玉米进行浸种处

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

理, 维护了萌发后幼苗在干旱逆境中质膜H^+-ATPase活性和核骨架的稳定性, 使玉米植株根系发育良好, 地上部茎叶粗壮, 增加产量(未发表资料)。

通过对放射性标记 Ca^{2+}($^{45}Ca^{2+}$)的测定, 显示由于细胞膨压的升高会引发轮藻的 Ca^{2+} 流入增加(Reid et al., 1993); 也显示在盐胁迫下, 单细胞盐藻的胞外 Ca^{2+} 流入增加, 并且 Ca^{2+} 内流的强度依赖于盐胁迫的程度(Ko and Lee, 1995)。盐诱导细胞质基质 Ca^{2+} 水平的升高, 在用荧光染料 Indo-1 和 Fluo-3 测定大麦根原生质体和小麦糊粉层细胞的 Ca^{2+} 流入中也得到证实(Bittisnich et al., 1989; Bush, 1996)。在应用完整的水母发光蛋白转基因烟草和拟南芥植株的测试中, 也表明盐和渗透胁迫引发细胞质的Ca^{2+}增加; 且Ca^{2+}增加的来源与冷诱导类似, 除来自胞外 Ca^{2+}, 也有由 IP_3 介导的液泡 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 释放(Knight, 2000)。有报道指出, 轻度干旱会引起 Ca^{2+} 受体蛋白钙调素(CaM)水平的升高(黄国存等, 1995)。

5.2 细胞质Ca^{2+}增加诱导抗旱和抗盐基因表达

Pardo 等(1998)报道, 转基因烟草在盐胁迫下表达一种磷脂酶修饰型 Calcineurin, 它在 Ca^{2+}-CaM 激活下表现出较高的磷脂酶活性, 从而提高植株的抗盐性。拟南芥和绿豆在干旱和盐胁迫下, 一种依赖 Ca^{2+} 的蛋白激酶(calcium-dependent protein kinases, CDPKs)基因被表达, 它的转录体(mRNA)和酶活性水平被提高(Urao et al., 1994; Botella et al., 1996)。高粱根经渗透胁迫 1 小时后, CDPK 活性增高, 通过催化蛋白质的磷酸化, 引发抗性基因表达(Knight, 2000)。水稻细胞在渗透胁迫的悬浮培养中, 用 Ca^{2+} 通道阻断剂处理, 结果显示降低了 ABA 诱导的抗渗基因的表达(Leonardi et al., 1995)。在烟草和番茄中, 盐胁迫提高了内质网Ca^{2+}-ATP酶基因的转录水平, 以保证增加的Ca^{2+}及时撤退(Perez-part et al., 1992; Wimmer et al., 1992)。Ca^{2+} 通过对质膜水通道蛋白磷酸化的修饰作用, 调节植物根细胞在渗透胁迫下的吸水活性(Johansson et al., 1996)。拟南芥幼苗在盐和渗透胁迫下, 随着细胞内 Ca^{2+} 的暂时性增加, 表达一种盐和干旱诱导的 *AtP5CS* 基因, 导致脯氨酸积累和抗盐 / 抗旱性增强(Knight et al., 1997)。通过 EGTA 或 Ca^{2+} 通道阻断剂处理, *AtP5CS* 基因的表达水平也降低(Knight et al., 1997)。这些结果说明, 如同抗寒基因表达一样, 抗盐和抗旱基因的表达也需要 Ca^{2+} 的流入。

6 Ca^{2+}参与气孔开关运动的调节

关闭气孔防止水分流失是植物适应干旱、盐渍化和低温胁迫的一种普遍而共同的适应方式。大量研究表明, 调控气孔开关运动的因素和途径有多种类型, 如 K^+、Ca^{2+}、ABA、CO_2、质膜 H^+-ATPase 活性及活性氧等。目前已揭示并已为人们所认同, 保卫细胞中 K^+ 的输入和输出是气孔开关运动的重要调控机制。在正常条件下, 白天大量的 K^+ 从邻近的表皮细胞进入保卫细胞, 随即引起水的流入, 使保卫细胞的膨压增大。由于保卫细胞背面的细胞壁较薄, 因而在这里产生较大的膨胀度, 致使保卫细胞变成弓形, 气孔张开。黑夜 K^+ 和水从保卫细胞中外流, 致使膨压降低, 结果气孔关闭。

进一步的问题是, 什么因素调控着质膜K^+通道的活性——K^+的输入和输出。经研究发现, 保卫细胞中Ca^{2+}水平调控着质膜 K^+ 通道的活性, 引发 K^+ 跨质膜流动的方向性改变, 从而调控气孔的张开与关闭(Schroeder et al., 2001; Allen et al., 2001)。当保卫细胞中 Ca^{2+} 浓度增加时, 一方面抑制质膜 K^+ 内流通道的活性; 另一方面, 通过钝化质膜质子泵 H^+-ATPase 活性, 使质膜去极化, 导致质膜K^+外流通道的活化, 引起K^+从保卫细胞中外流, 从而使气孔关闭。如上所述, 低温、干旱和盐胁迫等刺激都会引起细胞内的 Ca^{2+} 流入和 Ca^{2+} 水平的升高, 保卫细胞也是如此(Allen et al., 2000; Wood et al., 2000; Knight, 2000)。因此, 当植物受到低温、干旱和盐渍化胁迫时, 就会导致气孔关闭的适应性反应。

保卫细胞内 Ca^{2+} 水平的动态变化也与正常生境中昼夜气孔的开关相符合。在光照条件(白天)下, 由于叶绿体的光合作用, 细胞质基质中的一些Ca^{2+}被吸引进入叶绿体内, 降低了细胞质基质中的Ca^{2+}水平, 使质膜H^+-ATPase 活化, 重建跨质膜的电化学梯度, 打开 K^+ 内流

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

的电压门通道，导致保卫细胞的 K^+ 流入，从而使气孔张开(Schroeder et al., 2001)。在黑夜，可能由于叶绿体和线粒体功能的改变，它们基质中的一些Ca^{2+}又释放到细胞质基质中，提高了细胞质基质中的 Ca^{2+} 浓度，从而抑制了质膜H^+-ATPase活性，又因此使质膜去极化，而导致保卫细胞中的 K^+ 外流，结果造成气孔关闭(Schroeder et al., 2001; Allen et al., 2001)。

目前还发现(Allen et al., 2001)，保卫细胞中Ca^{2+}浓度的短暂性升高和多次性升高对气孔的关闭运动有着不同的作用。迅速的短暂性 Ca^{2+} 增加，引起气孔的短时间关闭；而多次性的Ca^{2+}升降振荡则引起长时间稳定状态的气孔关闭。由此看来，低温、干旱和盐胁迫引起的气孔关闭并非是短时间的，所以它们引起的保卫细胞内的Ca^{2+}增加，也应该是多次性的Ca^{2+}升降振荡；正常条件下黑夜过程中的气孔关闭，也应该是多次性的 Ca^{2+} 升降振荡。

关于 ABA、CO_2 和活性氧引起的气孔关闭，实质上也都要通过保卫细胞内 Ca^{2+} 水平的升高起作用。无论是 ABA，还是高浓度的 CO_2 和活性氧，都是通过活化质膜Ca^{2+}透性通道，实现保卫细胞Ca^{2+}内流，然后引发如上所述的 Ca^{2+} 的调控过程，因此它们都是 Ca^{2+} 信号的上游调节者(Pei et al., 2000; Park et al., 2003)。

由于低温、干旱和盐胁迫能迅速引起细胞内 Ca^{2+} 水平的增加，而且是普遍存在的。同时，Ca^{2+} 作为外界刺激信号的传递和介导者也是广泛存在和极其有效的。因此可以说，通过保卫细胞内Ca^{2+}水平的变化调控气孔关闭，是植物适应低温、干旱和盐渍化胁迫的最佳途径。Ca^{2+} 反应速度快，应急性强，有利于植物对水分的保护性反应与适应。

7 Ca^{2+}参与细胞壁加固和加厚的调节作用

细胞壁的加厚和加固是植物适应低温、干旱和盐胁迫等逆境的一个重要特性。生长在逆境中的植物，总会更多地合成纤维素、木质素及一种糖蛋白(伸展蛋白，extensin)并沉淀于细胞壁中，以加厚和加固细胞壁。不少研究结果揭示，Ca^{2+} 是细胞壁加厚和加固的调节者。Eklund 和 Eliasson (1990)及 Eklund (1991)报道，Ca^{2+} 浓度影响细胞壁成分的合成，低的细胞质Ca^{2+}浓度降低细胞壁内木质素和非纤维素多糖的沉积；高的细胞质Ca^{2+}浓度则增加非纤维素多糖和木质素的合成及其在细胞壁中的沉积。Ca^{2+} 刺激植物细胞分泌过氧化物酶到细胞壁中，并提高其活性(Penner and Neher, 1988)。通过过氧化物酶的催化作用，使渗入细胞壁中的伸展蛋白形成异二酪氨酸双酚酯桥，导致伸展蛋白分子间以及伸展蛋白与多糖分子间的连接，从而加强细胞壁的牢固性(Wilson and Fry, 1986)。杨树、桑树和云杉在秋季和初冬的短日照和低温诱导的休眠和抗寒性提高的过程中，细胞内的 Ca^{2+} 浓度显著增加，并且持续达 4 个月之久(从 8 月中旬到 12 月下旬)。在这期间，与分泌活动有关的质膜外 Ca^{2+}-ATP 酶(PM ecto-Ca^{2+}-ATPase)被活化(Jian et al., 2000b)；与此同时，细胞壁不断加厚，木质化程度提高。这说明，细胞内的高浓度 Ca^{2+} 激发了多糖和木质素的合成，并在质膜外Ca^{2+}-ATP酶的参与下，分泌并沉积于细胞壁中，使细胞壁得到加厚与加固，以抵抗寒冬时期的冰冻伤害(Jian et al., 1997, 2000b, 2004a, 2004b)。

Ca^{2+}还是直接参与细胞壁中胞间连丝口径大小的调节者。通过显微技术向细胞内注入 Ca^{2+} 结合荧光染料(Ca^{2+}-BAPTA)，结果显示，在细胞含有高浓度 Ca^{2+} 时，能阻止荧光染料在胞间连丝中的通过；而在对照细胞中(只注入荧光染料，没有结合Ca^{2+})，荧光染料则可以通过胞间连丝从一个细胞扩散到另一个细胞(Tucker, 1988, 1990)。在冬季，巨型轮藻由于细胞内有着较高的 Ca^{2+} 水平，胞间交通受阻，生长停止，处于休眠状态；到春季，细胞内 Ca^{2+} 浓度降低，胞间通道畅通，则恢复生长。用含有丰富 Ca^{2+} 和 Ca^{2+} 载体 A23187 的溶液进行培养，或通过显微注射直接注入Ca^{2+}溶液，提高春天轮藻细胞内的 Ca^{2+} 浓度，其细胞间交流通道又返回到冬季的状态(Shepherd and Goodwin, 1992)。Holdaway-Clarke 等(2000)通过冷处理或 Ca^{2+} 载体溶液培育及显微注射，提高细胞质的 Ca^{2+} 浓度，结果引起胞间连丝孔道迅速关闭。Jian 等(2000c, 2004a, 2004b)通过细胞超微结构

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

观察，进一步证实 Ca^{2+} 与胞间连丝结构变化的关系。杨树在短日照诱导的休眠和抗寒力提高的过程中，当细胞内 Ca^{2+} 含量明显升高时，伸入胞间连丝的内质网(endoplasmic reticulum, ER)发生收缩，中断了 ER 的胞间联系，胞间连丝孔道周围的质膜相互融合，封闭了孔口。或者由于高浓度 Ca^{2+} 引起细胞壁加厚，使胞间连丝孔道受挤压而缩小，甚至完全封闭(Jian et al., 1997a)。细胞质的高水平 Ca^{2+} 也刺激胼胝质的合成及其在胞间连丝孔口的沉积，从而封闭胞间连丝孔道(Cleland et al., 1994; Rinne and van der Schoot, 1998; Jian and Wang, 2004a)。

8 结论与展望

综上所述，Ca^{2+} 信使在植物细胞对低温、干旱和盐胁迫的反应与适应中的调节作用不仅是多方面的，而且它的信号发生与传递途径也是比较明确的(图1)，尽管在 Ca^{2+} 信号下游的级联反应途径中尚有许多细节有待揭示。

Ca^{2+} 信使是通过细胞质基质和细胞核基质中的游离

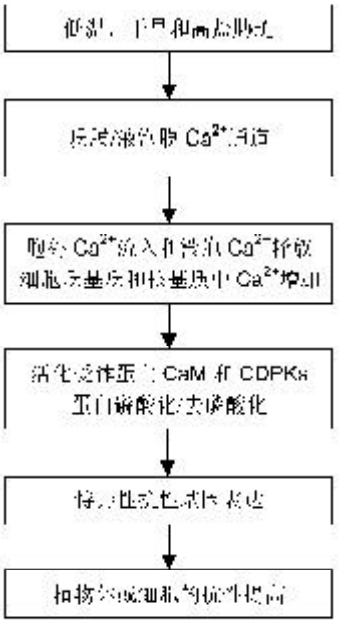

图 1 Ca^{2+} 信使传递低温、干旱和盐胁迫信号的主要途径

Figure 1 The main pathways of Ca^{2+} signal in low temperature, drought and salt signal transduction

Ca^{2+} 浓度的升降行使其信使功能的，即细胞质基质和核基质中 Ca^{2+} 浓度的升降是 Ca^{2+} 作为第二信使传递信号功能的基础。

低温、干旱和高盐胁迫引起植物细胞质基质和核基质 Ca^{2+} 水平升高而产生的 Ca^{2+} 信号是普遍存在的，它是植物对逆境反应和适应的一条最佳途径。同时已经揭示，细胞质基质和核基质中的 Ca^{2+} 增加，是来源于胞外 Ca^{2+} 的流入和液泡 Ca^{2+} 库中的 Ca^{2+} 释放。

质膜(plasma membrane, PM) Ca^{2+} 通道(Ca^{2+} channels)，还可能包括液泡膜(vacuole membrane, VM) Ca^{2+} 通道是外界刺激(如低温、干旱和高盐胁迫等)的感应器(sensor)。如低温胁迫可能通过影响 PM 的去极化、膜的流动性以及与 PM 连接的周质细胞骨架，使 PM 和 VM 的电压门控通道活化(打开)，从而导致胞外 Ca^{2+} 流入和液泡库中 Ca^{2+} 释放。

如上所述，Ca^{2+} 作为信号传递分子的介导途径有多种类型，但主要是通过细胞质基质和核基质中的 Ca^{2+} 增加来活化受体蛋白钙调素(CaM)和依赖 Ca^{2+} 的蛋白激酶(CDPKs)，引发其下游的蛋白磷酸化和去磷酸化，进而诱导特异性抗性基因的表达。Ca^{2+} 在气孔关闭运动中的信使作用，其受体蛋白则是 PM H^+-ATPase，Ca^{2+} 使这种 H^+ 泵钝化 $\rightarrow$PM 去极化 $\rightarrow$PM K^+ 外流通道活化 $\rightarrow$ 保卫细胞 K^+ 外流 $\rightarrow$ 气孔关闭。Ca^{2+} 在参与细胞壁加固和加厚的调节中，其受体蛋白(靶蛋白)则是合成木质素和伸展蛋白的酶；在对胞间连丝(plasmodesma, PD)口径大小的调节中，其受体蛋白可能是PD的结构蛋白，如肌动蛋白和肌球蛋白。此外，Ca^{2+} 还可直接渗入细胞壁，通过它与细胞壁的多糖组分和结构蛋白的交联作用，直接加固细胞壁。

Ca^{2+} 信号介导各种蛋白激酶的级联反应并引发其下游的蛋白磷酸化和去磷酸化，进而启动抗性基因的表达，这已被认知且是研究的热点，然而其中的许多细节尚有待进一步揭示。显然，对这一段下游反应的研究难度较大，还需要一个较长时间的探索过程。分子生物学的蓬勃发展，例如已发现转录因子 CBF 结合到 CRT/DRE 基序上并诱导了*COR*基因的表达(Haake et al., 2002)，给问题的解决带来了新的希望。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

参考文献

黄国存, 崔四平, 马春红, 周红显 (1995). **水分胁迫下小麦幼苗中CaM水平变化及其与SOD活性的关系**. **植物生理学通讯 31**, 335-337.

简令成, 孙龙华, 卫翔云, 王红, 张红 (1994). **从细胞膜系统的稳定性与植物抗寒性关系的研究到抗寒剂的研制**. **植物学通报 11** (**特刊**), 1-22.

简令成, 卢存福, 邓江明, 李积宏, Li PH (2004). **木本植物休眠的诱导因子及其细胞内Ca^{2+}水平的调节作用**. **应用与环境生物学报 10**, 1-6.

李美如, 刘鸿先, 王以柔, 曾韶西, 郭俊彦 (1996). **钙对水稻幼苗抗冷性的影响**. **植物生理学报 22**, 379-384.

李卫, 章文才, 马湘涛, 刘道宏 (1997). **钙与钙调素对柑橘原生质体抗冻性的影响**. **植物生理学报 23**, 262-266.

钱骅, 刘友良 (1995). **盐胁迫下钙对大麦根系质膜和液泡膜功能的保护效应**. **植物生理学通讯 31**, 102-104.

王红, 简令成, 张举仁 (1994). **低温逆境中水稻幼苗细胞内Ca^{2+}水平的变化**. **植物学报 36**, 587-591.

张红, 简令成, 李广敏 (1994). **低温逆境中黄瓜幼苗细胞内钙离子水平变化的细胞化学研究**. **实验生物学报 27**, 419-427.

章文华, 刘友良 (1993). **盐胁迫下钙对大麦和小麦离子吸收分配及H^+-ATP酶活性的影响**. **植物学报 35**, 435-439.

张云, 薛绍白 (1990). **钙和细胞功能**. 见: **郑国锠**, **翟中和主编**. **细胞生物学进展** (**第2卷**). **北京**: **高等教育出版社**. pp. 160-210.

Allen GJ, Chu SP, Schumacher K, Shimazaki CT, Vafeados D, Kemper A, Hawke SD, Tallman G, Tsien RY, Harper JF, Chory J, Schroeder JI (2000). Alternation of stimulus-specific guard cell calcium oscillations and stomatal closing in Arabidopsis *det3* mutant. *Science* **289**, 2338-2342.

Allen GJ, Chu SP, Schumacher K, Shimazaki CT, Vafeados D, Kemper A, Hawke SD, Tallman G, Tsien RY, Harper JF, Chory J, Schroeder JI (2001). A defined rang of guard cell calcium oscillation parameters encodes stomatal movements. *Nature* **411**, 1053-1057.

Bittisnich D, Robison D, Whitecross M (1989). Membrane-associated and intracellular free calcium levels in root cells under NaCl stress. In: Dainty J, de Michelis MI, Marre E, Rasi-Caldogno F, eds. Plant Membrane Transport: The Current Position. Proceedings of the Eighth International Workshop on Plant Membrane Transport. Venice: Elsevier. pp. 681-682.

Botella JR, Arteca JM, Somodevilla M, Arteca RN (1996). Calcium-dependent protein kinase gene expression in response to physical and chemical stimuli in mungbean (*Vigna radiata*). *Plant Mol Biol* **30**, 1129-1137.

Bush DS (1995). Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **46**, 95-122.

Bush DS (1996). Effects of gibberellic acid and environment factors on cytosolic calcium in wheat aleurone cells. *Planta* **199**, 89-99.

Campbell AK, Trewavas AJ, Knight MR (1996). Calcium imaging shows differential sensitivity to cooling and communication in luminous transgenic plants. *Cell Calcium* **19**, 211-218.

Champagnat P (1989). Rest and activity in vegetative buds of trees. *Ann Sci For* **46** (suppl), 9-26.

Cleland RE, Fujiwara T, Lucas BJ (1994). Plasmedesmal-mediated cell-to-cell transport in wheat roots is modulated by anaerbic stress. *Protoplasma* **178**, 81-85.

de Nisi P, Zocchi G (1996). The role of calcium in the cold shock responses. *Plant Sci* **121**, 161-166.

Ding JP, Pickard BG (1993a). Modulation of mechanosensitive calcium-selective cation channels by temperature. *Plant J* **3**, 713-720.

Ding JP, Pickard BG (1993b). Mechanosensory calcium-selective cation channels in epidermal cells. *Plant J* **3**, 83-110.

Eklund L, Eliasson L (1990). Effects of calcium ion concentration on cell wall synthesis. *J Exp Bot* **41**, 863-867.

Eklund L (1991). Relations between indoleacetic acid, calcium ions and ethylene in the regulation of growth and cell wall composition in *Picea abies*. *J Exp Bot* **42**, 785-789.

Erlandson AG, Jensen P (1989). Influence of low temperature on regulation of rubidium and calcium influx in roots of winter wheat. *Physiol Plant* **75**, 114-120.

Haake V, Cook D, Riechmann JL, Pineda O, Thomashow MF, Zhang JZ (2002). Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis. *Plant Physiol* **130**, 639-648.

Holdaway-Clarke TL, Walker NA, Hepler PK, Overall RL (2000). Physiological elevations in cytoplasmic free calcium by cold or ion injection result in transient closure of higher plant plasmodesmata. *Planta* **210**, 329-335.

Jian LC, Li PH, Sun LH, Chen THH (1997a). Alterations in ultrastructure and subcellular localization of Ca^{2+} in poplar apical bud cells during the induction of dormancy. *J Exp Bot* **48**, 1195-1207.

Jian LC, Li JH, Li PH (1997b). Is Ca^{2+} homeostasis essential in the cold acclimation of winter wheat-seedlings. In: Bold Z, ed. Cereal Adaptation to Low Temperature Stress in Controlled Environments. Martonvasar: Agr Res Inst Hungarian Acad Sci.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

pp. 69-71.

Jian LC, Li JH, Chen WB, Li PH, Ahlstrand GG (1999). Cytochemical localization of calcium and Ca^{2+}-ATPase activity in plant cells under chilling stress: a comparative study between the chilling-sensitive maize and the chilling-insensitive winter wheat. *Plant Cell Physiol* **40**, 1061-1071.

Jian LC, Li JH, Li PH, Chen THH (2000a). Intercellular communication channels and intracellular calcium levels involved in the dormancy development of poplar plants. In: Viemont D, Crabbe J, eds. Dormancy of Plants: From Whole Plant Behavior to Cellular Contron. Wallingford: CABI Press. pp. 291-311.

Jian LC, Li JH, Li PH, Chen THH (2000b). An electron microscopic-cytochemical localization of plasma membrane Ca^{2+}-ATPase activity in poplar apical bud cells during the induction of dormancy by short-day photoperiods. *Cell Res* **10**, 103-114.

Jian LC, Li JH, Li PH, Chen THH (2000c). Structural association of endoplasmic reticulum with other membrane systems in poplar apical bud cells and its alteration during the short day-induced dormancy. *Acta Bot Sin* **42**, 803-810.

Jian LC, Sun LH, Li JH, Wang H, Sun DL, Li PH (2000d). Ca^{2+}-homeostasis differs between plant species with different cold-tolerance at 4°C chilling. *Acta Bot Sin* **42**, 358-366.

Jian LC, Li JH, Li PH (2000e). Seasonal alteration in amount of Ca^{2+} in apical bud cells of mulberry (*Morus bombciz* Koidz): an electron microscopy-cytochemical study. *Tree Physiol* **20**, 623-628.

Jian LC, Deng JM, Li PH (2003). Seasonal alteration of the cytosolic and nuclear Ca^{2+} concentration in over-wintering woody and herbaceous perennials in relation to the development of dormancy and cold hardiness. *J Am Soc Hortic Sci* **128**, 29-35.

Jian LC, Wang H (2004a). Plasmodesmatal dynamics in both woody poplar and herbaceous winter wheat under controlled short day and in field winter period. *Acta Bot Sin* **46**, 230-235.

Jian LC, Sun DL, Deng JM, Song YM, Li PH (2004b). Alterations of intracellular Ca^{2+} concentration and ultrastructure in spruce apical bud cells during seasonal transition. *For Stud China* **6**, 1-9.

Johansson I, Larsson C, Ek B, Kjellbom P (1996). The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca^{2+} and apoplastic water potential. *Plant Cell* **8**, 1181-1191.

Knight MR, Campbell AK, Smith SM, Trewavas AJ (1991). Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytoplasmic calcium. *Nature* **352**, 524-526.

Knight MR, Smith SM, Trewavas AJ (1992). Wind-induced plant motion immediately increases cytosolic calcium. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 4967-4971.

Knight MR, Read ND, Campbell AK, Trewavas AJ (1993). Imaging calcium dynamics in living plants using semi-synthetic recombinant aequorins. *J Cell Biol* **121**, 83-90.

Knight H, Trewavas AJ, Knight MR (1996). Cold calcium signaling in Arabidopsis involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Plant Cell* **8**, 489-503.

Knight H, Trewavas AJ, Knight MR (1997). Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant J* **12**, 1067-1078.

Knight H (2000). Calcium signaling during abiotic stress in plants. *Int Rev Cytol* **195**, 269-324.

Ko JH, Lee SH (1995). Role of calcium in the osmoregulation under salt stress in *Dunaliella salina*. *J Plant Biol* **38**, 243-250.

Lewis BD, Karlin-Neumann G, Davis RW, Spalding EP (1997). Ca^{2+}-activated anion channels and membrane depolarizations induced by blue light and cold in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol* **114**, 1327-1334.

Leonardi A, Heimovaara-Dijkstra S, Wang M (1995). Differential involvement of abscisic acid in dehydration and osmotic stress in rice cell suspension. *Physiol Plant* **93**, 31-37.

Liu T, van Staden J, Cress WA (2000). Salinity induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of soybean roots. *Plant Growth Regul* **30**, 49-54.

Lynch J, Polito VS, Lauchli A (1989). Salinity stress increases cytoplasmic Ca activity in maize root protoplasts. *Plant Physiol* **90**, 1271-1274.

Matsumoto H, Yamaya T (1984). Repression of the K^+ uptake and cation-stimulated ATPase activity associated with the plasma membrane-enriched fraction of cucumber roots due to Ca^{2+} starvation. *Plant Cell Physiol* **25**, 1501-1508.

Monroy AF, Sarhan F, Dhindsa RS (1993). Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression (evidence for a role of calcium). *Plant Physiol* **102**, 1227-1235.

Monroy AF, Dhindsa RS (1995). Low-temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25°C. *Plant Cell* **7**, 321-331.

Monroy AF, Sangwan V, Dhindsa RS (1998). Low temperature signal transduction during cold acclimation: protein phos-

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

phatase 2A as an early target for cold-inactivation. *Plant J* **13**, 653-660.

Minorsky PV (1985). A Heuristic hypothesis of chilling injury in plants: a role for calcium as the primary physiological transducer of injury. *Plant Cell Environ* **8**, 75-94.

Minorsky PV, Spanswick RM (1989). Electrophysiological evidence for a role for calcium in temperature sensing by roots of cucumber seedlings. *Plant Cell Environ* **12**, 137-144.

Nakamura Y, Kasamo K, Sakata M, Ohta E (1992). Stimulation of the extrusion of protons and H^+-ATPase activities with the decline in pyrophosphate activity of the tonoplast in intact mug bean roots under high-NaCl stress and its relation to external levels of Ca^{2+} ions. *Plant Cell Physiol* **33**, 139-149.

Nitsch JP (1957). Photoperiodism in woody plants. *Pro Am Soc Hort Sci* **70**, 526-544.

Pardo JM, Reddy MP, Yang S, Maggio A, Huh GH, Matsumoto T, Coca MA, Paino-D'Urzo M, Koiwa H, Yun DJ, Watad AA, Bressan RA, Hasegawa PM (1998). Stress signaling through Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin mediates salt adaptation in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 9681-9686.

Park KY, Jung JY, Park J, Hwang JU, Kim YW, Hwang I, Lee Y (2003). A role for phosphatidylinositol 3-phosphate in abscisic acid-induced reactive oxygen species generation in guard cells. *Plant Physiol* **132**, 92-98.

Pei ZM, Murata T, Benning G, Thomine S, Klüsener B, Allen G, Grill E, Schroeder JI (2000). Ca^{2+} channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cell. *Nature* **406**, 731-734.

Penner E, Neher E (1998). The role of calcium in stimulus-secretion coupling in excitable and non-excitable cells. *J Exp Biol* **139**, 329-345.

Perez-Prat E, Narasimhan ML, Binzel ML, Botella MA, Chen Z, Valpuesta V, Bressan RA, Hasegawa PM (1992). Induction of a putative Ca^{2+}-ATPase mRNA in NaCl-adapted cells. *Plant Physiol* **100**, 1471-1478.

Reid RJ Tester M, Smith FA (1993). Effects of salinity and turgor on calcium influx in *Chara*. *Plant Cell Environ* **16**, 547-554.

Rincon M, Hanson JB (1986). Controls on calcium ion fluxes in injured or shocked corn root cells: importance of proton pumping and cell membrane potential. *Physiol Plant* **67**, 576-583.

Rinne PLH, van der Schoot C (1998). Symplasmic field in the tunica of the shoot apical meristem cordinate morphogenesis events. *Development* **125**, 1477-1488.

Russell AJ, Knight MR, Cove DJ, Knight CD, Trewavas AJ, Wang TL (1996). The moss, physcomitrella patens, transformed with apoaequorin cDNA responds to cold shock, mechanical perturbation and pH with transient increases in cytoplasmic calcium. *Transgenic Res* **5**, 167-170.

Sanders D, Brownlee C, Harper JF (1999). Communicating with calcium. *Plant Cell* **11**, 691-706.

Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D (2001). Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **52**, 625-658.

Shepherd VA, Goodwin PB (1992). Seasonal patterns of cell-to-cell communication in *Chara corallina* Klein ex Willd. I. Cell-to-cell communication in vegetative lateral branches during winter and spring. *Plant Cell Environ* **15**, 137-150.

Smolenska G, Kacperska A (1996). Inositol-1,4,5-triphosphate formation in leaves of winter oilseed rape plants in reponse to freezing, tissue water and abscisic acid. *Physiol Plant* **96**, 692-698.

Tahtiharju S, Sangwan V, Monroy AF, Dhindsa RS, Borg M (1997). The induction of *KIN* genes in cold-acclimating *Arabidopsis thaliana*. Evidence of a role for calcium. *Planta* **203**, 442-447.

Tsien RY (1984). Measuring and manipulating cytosolic Ca^{2+} with trapped indicators. *Kroc Found Ser* **17**, 147-155.

Tucker EB (1988). Inositol bisphosphate and inositol trisphosphate inhibit cell-to-cell passage of carboxyfluorescein in staminal hairs of *Setcreasea purpurea*. *Planta* **174**, 358-363.

Tucker EB (1990). Calcium-loaded 1,2-bis (2-aminophenoxy) ethane-N,N,N,N-tetraacetic acid blocks cell-to-cell diffusion of carboxyfluorescein in staminal hair of *Setcreasea purpurea*. *Planta* **182**, 34-38.

Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, Yamaguchi-Shinozaki K, Hayashida N, Shinozaki K (1994). Two genes that encode Ca^{2+}-dependent protein kinases are induced by drought and high-salt stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet* **244**, 331-340.

van Huystee RB, Weiser CJ, Li PH (1967). Cold acclimation in *Cornus stolonifera* under natural and controlled photoperiod. *Bot Gaz* **128**, 200-205.

Wilson LG, Fry JC (1986). Extensin—a major cell wall glycoprotein. *Plant Cell Environ* **9**, 239-260.

Wimmers LE, Ewing NN, Bennett AB (1992). Higher plant Ca^{2+}-ATPase: primary structure and regulation of mRNA abundance by salt. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 9205-9209.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146

Wood NT, Allan AC, Haley A, Viry-Moussaid M, Trewavas AJ (2000). The characterization of differential calcium signaling in tobacco guard cells. *Plant J* **24**, 335-344.

Wu Y, Kuzma J, Marechal E, Graeff R, Lee HC, Foster R, Chua NH (1997). Abscisic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants. *Science* **278**, 2126-2130.

Ca^{2+} Signaling in Plant Cell Response and Adaptation to Low Temperature, Drought and Salt Stresses

Lingcheng Jian, Hong Wang*

Key Laboratory of Photosynthesis and Environmental Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract The Ca^{2+} messenger plays important roles in plant growth and development, as well as in plant response and adaptation to the environment. In this review, we analyze the regulation mechanism of Ca^{2+} in plant adaptation to low temperature, drought and salt stress, including (1) Ca^{2+} subcellular localization and distribution, homeostasis in intracellular Ca^{2+} at a lower level acting as the basis of Ca^{2+} signal occurrence; (2) Ca^{2+} signal molecular superiority and its signaling pathway; (3) Cold acclimation and gene expression induced by Ca^{2+} signaling; (4) Physiological dormancy in over-wintering woody plants regulated by lasting high level of intracellular Ca^{2+}; (5) Regulation of Ca^{2+} in drought and salt stresses; (6) Ca^{2+} signal in the regulation of stomatal closure/opening movement; (7) Roles of Ca^{2+} in the regulation of cell-wall thickening and strengthening under environmental stress.

Key words abiotic stress, Ca^{2+}, Ca^{2+} signaling, cold acclimation, physiological dormancy in woody plants, tolerant gene expression

Jian LC, Wang H (2008). Ca^{2+} signaling in plant cell response and adaptation to low temperature, drought and salt stresses. *Chin Bull Bot* **25**, 255–267.

* Author for correspondence. E-mail: wangh@ibcas.ac.cn

(**责任编辑**: **白羽红**)

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-146