

# 植物保卫细胞的激素信号转导网络研究进展

陈德龙<sup>1</sup> 叶映微<sup>2</sup> 刘丽红<sup>1</sup> 张敏<sup>1</sup> 刘天宇<sup>1</sup> 汪俏梅<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 浙江大学园艺系/农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 浙江 杭州 310029; <sup>2</sup> 浙江大学经济学院, 浙江 杭州 310029)

**摘要:**保卫细胞可以感知并整合多种信号,以调节膨压和气孔运动,是研究植物激素信号互作的模式体系。本文对保卫细胞中植物激素脱落酸信号转导及其与其他植物激素的互作进行了综述,以期全面介绍保卫细胞植物激素信号转导网络的最新进展,并对今后的研究及其在作物生产中的潜在应用价值进行了展望。

**关键词:**保卫细胞;植物激素;信号网络;气孔运动

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2016.01.0065

高等植物的气孔由1对保卫细胞包围而成。保卫细胞能够灵敏而准确地响应一系列外源和内源的刺激,如光、干旱以及植物激素等,并通过复杂的信号转导网络改变其膨压使气孔处于最适宜的开闭状态,进而调节植物与环境间的水分和气体交换<sup>[1]</sup>。因此,保卫细胞是单细胞水平上研究高等植物细胞信号转导途径及其网络的模式体系和良好实验系统<sup>[2]</sup>。

在气孔运动的过程中,植物激素起着重要的调控作用,保卫细胞中内源激素的含量也随着气孔的运动而呈现出规律性的消长变化。脱落酸(abscisic acid, ABA)是一种萜类化合物,除了促进种子休眠、调节生长发育外,还在气孔关闭和植物干旱胁迫适应性中起主导作用。茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)和油菜素甾醇类物质(brassinosteroids, BR)均能促进气孔的关闭。目前JA与ABA的互作及其在保卫细胞ABA信号转导网络中的作用位点已得到鉴定<sup>[3-4]</sup>。尽管BR在植物干旱胁迫适应性中的作用已被很多实验所证实,但迄今为止BR在保卫细胞ABA信号转导中的作用位点仍不清楚,且研究发现植物体内BRs和ABA在保卫细胞中的互作可能具有种属特异性。了解不同信号之间的相互作用对于理解植物细胞内复杂的信号转导网络体系越来越重要,这一类研究也已成为信号转导领域的研究

热点。本文主要介绍保卫细胞这一独特的体系中,植物激素ABA的信号转导途径及其与其他植物激素的互作研究进展。

## 1 保卫细胞中ABA的信号转导途径

ABA是诱导气孔关闭的主要植物激素,被公认为是干旱胁迫下重要的反应因子。保卫细胞感受到ABA信号后,膨压和容量会由于阴离子、钾离子的流出以及葡萄糖转化成淀粉而变小,从而引起气孔关闭。目前,多种ABA生物合成和分解代谢相关的酶已得到鉴定,ABA代谢的分子机制也已经确定。干旱胁迫下植物根细胞中产生大量的ABA,并通过蒸腾流运送到叶片细胞,ABA被保卫细胞上的受体感知,通过跨膜转运,由胞内第二信使[钙信使、质子信使、1,4,5-三磷酸肌醇(IP3)和脂酸甘油等]转导,激活多种离子通道以及和生理生化反应相关的酶类,调控气孔的运动,最终导致气孔关闭。

### 1.1 ABA的受体和早期信号转导元件

ABA信号转导研究最突出的进展之一是ABA受体PYR/PYL/RCAR蛋白的鉴定,以及下游蛋白激酶和蛋白磷酸酶参与的蛋白质磷酸化系统的发现。PYR/PYL/RCAR蛋白处于ABA信号通路最上游,可

收稿日期:2014-11-25 接受日期:2015-01-06

基金项目:国家自然科学基金(31171951)

作者简介:陈德龙,男,主要从事蔬菜生理生化与代谢研究。E-mail: cdlxj.072@163.com

通讯作者:汪俏梅,女,教授,主要从事植物激素与次生代谢研究。E-mail: qmwang@zju.edu.cn

以识别 ABA 信号,直接与 ABA 结合并启动信号转导<sup>[1-3]</sup>。之后的研究发现,PYR/PYL/RCAR 蛋白负调控下游 PP2C 蛋白,而 PP2C 又负调控 SnRK2,串联建成 ABA 信号转导的核心系统。ABA-Insensitive1 (*ABI1*) 和 *ABI2* 是最早被分离和鉴定的编码 PP2C 的基因<sup>[4]</sup>。PP2C 基因的功能缺失突变体表现出对 ABA 的超敏感性,表明 PP2C 蛋白在 ABA 信号途径中起负调控作用<sup>[5]</sup>。SnRK2 是一类在 ABA 信号反应中发挥关键作用的蛋白激酶。对拟南芥 SnRK2 家族的研究表明,不同亚类的 SnRK2 被诱导激活的方式有差异。拟南芥中,第 III 亚类共包括 3 个成员,分别是 SRK2D/SnRK2.2、SRK2E/OST1/SnRK2.6 和 SRK2I/SnRK2.3,它们可以迅速地被 ABA 激活,说明其对启动 ABA 信号反应具有重要作用<sup>[6]</sup>。SnRK2 的生理作用最早在保卫细胞中得到证实,ABA 信号启动后,SRK2E/OST1/SnRK2.6 正向调控气孔的关闭<sup>[7]</sup>。拟南芥第 III 类 SnRK2 的三突变体 *srk2d/srk2e/srk2i* 抑制了 ABA 诱导激活的蛋白激酶的活性,弱化了 ABA 调节的气孔运动,表现出对 ABA 的不敏感,说明第 III 亚类的 SnRK2 是保卫细胞 ABA 信号转导途径中的 1 个调控枢纽<sup>[8-9]</sup>。综上,植物受环境诱导产生 ABA 之后,ABA 结合 PYR/PYL/RCAR 蛋白,与 PP2C 相互作用来抑制 PP2C 的蛋白磷酸酶活性,从而解除 PP2C 对蛋白激酶 SnRK2 的抑制,被激活的 SnRK2 继而磷酸化下游的转录因子,开启 ABA 信号通路的下游反应。

## 1.2 ABA 信号转导过程中的活性氧

许多第二信使参与了 ABA 信号转导的调节,包括活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、NO、磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)、3-磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol-3,4,5-( $PO_4$ )<sub>3</sub>, PIP3)、3-磷酸肌醇 (inositol 1,4,5-trisphosphate, IP3)、6-磷酸肌醇 (inositol hexaphosphate, IP6)、鞘脂类物质和钙离子等。过量的 ROS 引起细胞死亡,然而低浓度的 ROS 能够作为信号分子调控植物的胁迫反应。近年来,美国佛罗里达大学陈思学教授实验室运用先进的蛋白组学方法对油菜保卫细胞 ABA 信号转导网络进行了研究,不仅鉴定到一些新的组分,而且发现 ROS 信号途径在 ABA 信号转导网络中起主导作用 (图 1)<sup>[10]</sup>,它直接或间接地与其他信号途径,如 NO,JA,乙烯和芥子油苷等途径存在复杂的互作<sup>[11]</sup>。分裂素激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 引起的过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 的产生,可能起到对 ABA 信号放大的作用<sup>[12]</sup>。在 ABA 诱导的气孔关闭过程中,ROS 是必不可少的信号分子。ABA 与  $H_2O_2$  通过蛋白磷酸

化、NADPH 氧化酶、细胞质内自由态  $Ca^{2+}$  浓度 ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ )、NO、细胞质的 pH 值和细胞的氧化还原状态调控保卫细胞信号<sup>[13]</sup>。

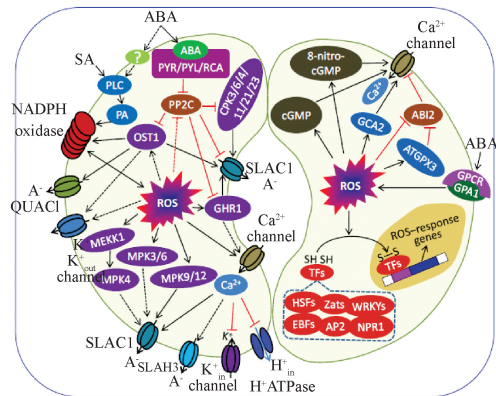


图 1 保卫细胞中 ROS 及其作用靶基因

Fig. 1 Reactive oxygen species sensors and targets in guard cells

## 1.3 ABA 信号转导过程中的钙信号

ABA 结合受体 PYR/PYL/RCAR 后通过一系列的变化使得细胞质 pH 值升高,发生超极化,激活  $Ca^{2+}$  通道的打开。同时,ABA 激活磷酸酯酶产生 IP3,增加细胞质内 IP6 和环腺苷二磷酸核糖 (cADP) 的含量,使液泡膜上的  $Ca^{2+}$  通道打开,进一步增加  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  浓度<sup>[14]</sup>。 $Ca^{2+}$  浓度的升高能够促进植物 NO 关键合成酶 NOS 的表达<sup>[15]</sup>。植物拥有几个家族的  $Ca^{2+}$  传感器来连接上游  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  的提高与下游事件。钙依赖性蛋白激酶 (calcium-dependent protein kinases, CDPKs) 作为感受器响应激酶与  $Ca^{2+}$  结合在同一个多肽中<sup>[16]</sup>。钙调磷酸酶 B 类似蛋白 (calcineurin B-like proteins, CBLs) 是一种感受器中转蛋白,当与  $Ca^{2+}$  结合后,便与 CBLs 互作蛋白激酶 (CBL-interacting protein kinases, CIPKs) 结合并调节其活性<sup>[16]</sup>。CBLs 与 CIPKs 的互作导致分子水平上非生物胁迫与植物激素信号转导途径的交叉。 $Ca^{2+}$  结合蛋白的功能冗余性的出现显示了保卫细胞信号转导网络的复杂性,目前认为,在  $Ca^{2+}$  依赖的 ABA 信号转导过程中,CDPKs 作为正向调控因子<sup>[17]</sup>,而 CBLs/CIPKs 是负向调控因子<sup>[18]</sup>。

## 1.4 离子通道

除了钙离子通道,ABA 诱导气孔关闭过程还涉及其它 2 种离子通道,即阴离子通道和钾离子通道。保卫细胞上阴离子通道的激活被看作是气孔关闭过程中比较重要的一步,控制离子流通的膜蛋白在保卫细胞

运动中发挥着重要的作用。其中, S 型阴离子通道 SLAC1 和  $K_{in}^+$  通道 KAT1 受 PP2C 和 SnRK2 调节。在 PP2C 的调控下, SRK2E/ OST1/SnRK2.6 通过磷酸化作用激活 SLAC1, 使质膜长时期保持去极化状态, 进而激活  $K_{out}^+$  通道而促进  $K^+$  外流<sup>[19-20]</sup>。SRK2E/OST1/SnRK2.6 还可以通过磷酸化抑制 KAT1 的活性, 阻止胞外  $K^+$  进入保卫细胞<sup>[21]</sup>。SRK2E/ OST1/SnRK2.6 对这 2 种通道蛋白的磷酸化作用都导致保卫细胞内  $K^+$  浓度的下降, 细胞膨胀程度降低, 继而促使气孔关闭<sup>[22]</sup>。 $Ca^{2+}$  浓度的升高能够促使  $K_{in}^+$  通道活性下降, 外向阴离子慢通道活性上升, 促使气孔关闭<sup>[23]</sup>。

## 2 保卫细胞中 ABA 与其他植物激素途径的互作

保卫细胞可感受外界环境及内源激素的变化, 并通过复杂的信号转导网络, 调控气孔的开闭。近年来, 有关其他植物激素, 如 JA、BR、生长素、细胞分裂素 (cytokinin, CTK)、SA 及乙烯 (ET) 与 ABA 互作共同调控气孔开闭的研究也日渐增多。

### 2.1 JA 与 ABA 在调控气孔开闭过程中的互作

JA 在植物的抗性反应及生长发育过程中都发挥重要作用。JA 与 ABA 互作调控气孔运动的研究主要利用外源处理和相关激素突变体, 分析茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 和 ABA 的重要信号转导因子在促进气孔关闭过程中的上下游关系。MeJA 可诱导兜兰<sup>[24]</sup>、蚕豆<sup>[25]</sup>、拟南芥<sup>[26]</sup> 等多种植物叶片的气孔关闭, 诱导机制与 ABA 相似。一方面, ABA 诱导的气孔关闭在 *jar1-1* (JA 不敏感突变体) 中被部分抑制, JA 诱导的气孔关闭在 *ost1-2* (ABA 不敏感突变体) 中被部分抑制, 说明两者信号通路间存在交叉, 且 JA 和 ABA 均可激活钙调蛋白激酶 CaM 和  $K^+$  外流通道, 从而改变胞内  $Ca^{2+}$  浓度、胞质 pH 值并产生  $H_2O_2$ , 诱导气孔关闭<sup>[27]</sup>。另一方面, 测定 JA 受体突变体 *coi1* 及其野生型中的第二信使, 如 ROS、NO 的产量、离子通道的激活情况, 表明 COI1 位于 ABA 与 JA 互作过程中交叉点的上游, ROS 和 NO 以及  $I_{Ca}$  位于交叉点的下游<sup>[28]</sup>。蛋白磷酸酶 2A 亚基突变体 *rcn1* 经 MeJA 处理后分析其 ROS 的产量、 $K_{in}^+$  通道的激活情况和气孔关闭状况, 表明 RCN1 在互作过程中位于 ABA 和 JA 交叉点下游以及 ROS 上游<sup>[29-30]</sup>。此外, 通过分析拟南芥 CDPK 突变体对 MeJA 的响应发现, CPK6 是保卫细胞中 MeJA 信号转导的正向调节因子, 而 CPK6 已被证明参与了 ABA 诱导的气孔关闭过程<sup>[31]</sup>。进一步以

ABA 缺失突变体 *aba2*、ABA 合成抑制剂为材料, 验证了 MeJA 诱导的气孔关闭过程有内源 ABA 的参与。

在生物胁迫下, 植株通过增加 ABA 来促进气孔关闭抑制病原菌的侵入, 如用假单孢杆菌侵染 ABA 转导途径突变体 *ost1* (open stomata 1) 和 ABA 合成缺失突变体 *aba3-1* 时, 并不能诱导 *ost1* 和 *aba3-1* 突变体气孔的关闭, 说明 ABA 合成代谢路径在响应病原菌诱导气孔关闭过程中是必需的<sup>[32]</sup>。

假单孢杆菌会产生一种冠菌素 (coronatine, COR) 来模拟植物激素 JA 的作用, 与 JA 受体 SCF<sup>COI1</sup> - JAZ 结合, 促进抑制 JA 代谢的 JAZ 蛋白被降解, 开启响应 JA 调节的基因表达, 活化转录因子 MYC2 所调控的 3 个 NAC 同源家族基因 NAM, ATAF1.2 和 CUC2 的表达, 这些蛋白抑制细胞 SA 的积累, 阻止 SA 的生物胁迫响应<sup>[33,34]</sup>。而在番茄中, 植株通过 2 个 NAC 同源的转录因子 JA2 (jasmonic acid 2) 和 JA2L (JA2-like) 来调控假单孢杆菌诱导的气孔响应。JA2 主要通过调节 ABA 合成相关基因来调控气孔的开闭, 而 JA2L 主要调节 COR/JA 来再次开启气孔打开, 抑制 SA 合成相关代谢来降低 SA 的积累<sup>[35]</sup>。

### 2.2 BR 和 ABA 在调控气孔开闭过程中的互作

BR 对气孔开闭的调节及其与 ABA 的互作在很多植物种类中都有报道, 短叶松幼苗经油菜素内酯 (brassinolide, BL) 处理后, 在干旱胁迫下表现出气孔关闭的延迟<sup>[36]</sup>; BR 外源处理可恢复 ABA 超敏感突变体 *sax1* 在气孔运动上的表型<sup>[37]</sup>, 说明 BR 与 ABA 在上述过程中具有拮抗作用。然而, 对比 ABA 单独处理, 表油菜素内酯 (epibrassinolide, eBL) 和 ABA 共同处理可显著提高高粱植株的抗旱性<sup>[38]</sup>。BL 也可以促进蚕豆表皮上气孔的关闭, 且可通过抑制钾离子内流通道来抑制气孔的打开<sup>[39]</sup>, 但在 BL 和 ABA 共同作用下, 气孔对 ABA 的响应并无变化。在番茄中, 低浓度 eBL 诱导叶片上气孔打开, 高浓度 eBL 诱导气孔关闭, 该过程与保卫细胞中  $H_2O_2$  的动态变化和氧化还原状态密切相关。ABA 的缺失使得 eBL 对气孔关闭的诱导作用消失, 但并不影响 eBR 对气孔打开的诱导作用。以上研究表明, 植物体内 BR 和 ABA 在保卫细胞中的互作可能具有种属特异性<sup>[40-42]</sup>。

### 2.3 生长素、CTK 与 ABA 在调控气孔开闭过程中的拮抗作用

ABA 和生长素在对气孔开闭的调控中起相反的作用, 生长素能抑制 ABA 诱导的鸭拓草的气孔关闭<sup>[24]</sup>, 苯乙酸 (naphthalene acetic acid, NAA) 和 ABA 共同处理拟南芥叶片表皮也得到了类似的结果。CTK

对植物气孔的调控作用尚不明确,很多物种中,外源 CTK 与生长素一样均可抑制 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[43-44]</sup>。韧皮部 CTK 浓度的升高可促进气孔的打开并降低 ABA 的活性,干旱胁迫能抑制 CTK 的合成及运输,从而导致气孔的关闭<sup>[45-46]</sup>。

## 2.4 SA 与 ABA 在气孔防御过程中的协同作用

外源施加 SA 能诱导蚕豆和鸭拓草中 ROS 的产生并导致气孔关闭<sup>[47]</sup>。另一方面,SA 通过促进气孔关闭抑制病原菌的入侵,游离 SA 含量下降的转基因植物 *NahG* 及 SA 缺失突变体 *eds16-2* 中,并未出现假单孢杆菌入侵导致的气孔关闭,说明 SA 对气孔的防御功能是必要的。上述病原菌感染过程中,参与 JA 诱导气孔关闭的 3 个转录因子也可直接调控 SA 的合成与代谢基因,降低 SA 的产量。由于 SA 的合成位于 ABA 诱导气孔关闭的通路的上游<sup>[33,48-49]</sup>,因此,假单孢杆菌产生的 COR 可以利用内源激素 JA、SA 和 ABA 信号通路间的互作来调控植物气孔的响应(图 2)。

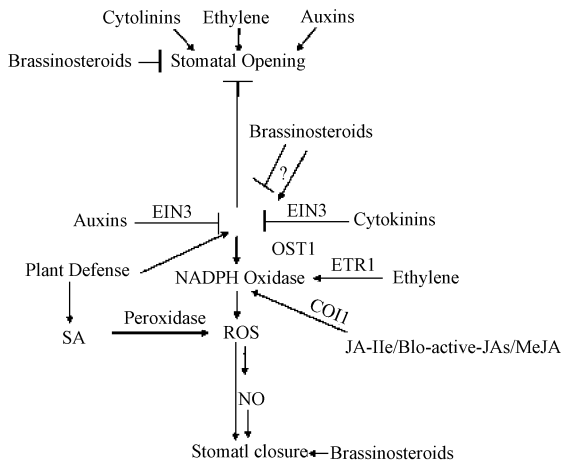


图 2 气孔内植物激素间的相互作用模式图<sup>[50]</sup>

Fig. 2 A proposed model of hormonal interaction in guard cell

## 2.5 乙烯和 ABA 在调控气孔开闭过程中的互作

乙烯(ET)可通过与 ABA 互作而影响气孔的开闭,但得到的结果却稍有差异。ET 处理使拟南芥气孔对 ABA 不敏感,说明 ET 可能对 ABA 诱导气孔关闭的过程有抑制作用<sup>[51]</sup>。ET 过量突变体 *eto1* 在干旱胁迫下气孔关闭比野生型要慢,并且对 ABA 更不敏感,将 *eto1* 突变体及其野生型的表皮用 ET 以及 ABA 单独或共同处理后发现,ET 能独立诱导  $H_2O_2$  的合成,但当用 ABA 预处理后,ET 表现出对气孔关闭的抑制作用。

此外,ABA 浓度的提高可能限制 ET 的产生<sup>[52-53]</sup>,而 ET 调控的气孔关闭过程依赖于  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  也是 ABA 诱导气孔关闭过程中的重要因子<sup>[3]</sup>。ET 对气孔关闭的抑制作用可能是为使植物的气孔在胁迫条件下保持半开放状态,从而保证最小  $CO_2$  吸收量,以进行必要的光合作用<sup>[2]</sup>。

## 3 小结

保卫细胞是研究植物细胞的各种信号转导途径及其交叉互作机制的良好体系。近年来,保卫细胞 ABA 信号转导研究取得了较大的进展,ABA 信号转导网络的轮廓已经日渐清晰,特别是揭示了 ABA 调控的下游事件,发现保卫细胞 ABA 信号网络中,  $H_2O_2$ 、NO 和  $Ca^{2+}$  起关键的第二信使的作用。在植物的保卫细胞信号转导网络中,ABA 信号转导起到关键性作用,而其他植物激素信号与 ABA 之间存在不同层次的互作关系,共同调控气孔的开闭,其中关于保卫细胞中 JA 和 ABA 之间的互作关系研究得较为深入,已经揭示了 2 种信号转导途径中一些重要组分在调控气孔关闭中的上下游关系及其交叉互作的分子机制和信号通路;新型植物激素 BR 与 ABA 的互作研究也取得了一些进展,发现这种互作关系是复杂的,不仅其效应因外源激素施加浓度而异,而且可能存在种属特异性;其他植物激素与 ABA 的互作研究虽然也有一些报道,但还没有取得关键性的进展,有待于进一步深入研究。

## 4 展望

随着模式植物拟南芥、水稻和番茄基因组测序相继完成,植物基因组学研究成功迈入到功能基因组学研究的时代,这为蛋白质组学的应用与发展奠定了坚实的基础。今后,运用先进的蛋白组学和代谢组学的方法,将有助于进一步鉴定保卫细胞中植物激素信号转导网络组分,阐明保卫细胞中植物激素及其互作调控气孔开闭的分子机制,通过分析蛋白间的相互作用、蛋白质翻译后磷酸化、糖基化和烷基化等与调控气孔运动的相关性,从而揭示在保卫细胞这一激素互作的模式体系中,植物激素通过气孔途径调节植物干旱胁迫适应性、光合作用和防卫反应的分子机理,为通过化学调控和遗传工程的方法提高作物的抗性和产量提供理论依据。

## 参考文献:

[1] Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A,

- Grill E. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors [J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1064 – 1068
- [ 2 ] Park S Y, Fung P, Nishimura N, Jensen D R, Fujii H, Zhao Y, Santiago J, Rodrigues A, Chow T F, Alfred S E, Bonetta D, Finkelstein R, Provart N J, Desveaux D, Rodriguez P L, McCourt P, Zhu J K, Schroeder J I, Volkman B F, Cutler S R. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins [J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1068 – 1071
- [ 3 ] Szostkiewicz I, Richter K, Kepka M, Demmel S, Ma Y, Korte A, Assaad F F, Christmann A, Grill E. Closely related receptor complexes differ in their ABA selectivity and sensitivity [J]. *Plant Journal*, 2010, 61(1): 25 – 35
- [ 4 ] Leung J, Bouvier-Durand M, Morris P C, Guerrier D, Chefdor F, Giraudat J. Arabidopsis ABA response gene ABII: features of a calcium-modulated protein phosphatase [J]. *Science*, 1994, 264(5164): 1448 – 1452
- [ 5 ] Hirayama T, Shinozaki K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA [J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(8): 343 – 351
- [ 6 ] Yoshida R, Umezawa T, Mizoguchi T, Takahashi S, Takahashi F, Shinozaki K. The regulatory domain of SRK2E/ OST1/SnRK2.6 interacts with ABII and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in Arabidopsis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(8): 5310 – 5318
- [ 7 ] Mustilli A C, Merlot S, Vavasseur A, Fenzi F, Giraudat J. Arabidopsis OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(12): 3089 – 3099
- [ 8 ] Fujita Y, Nakashima K, Yoshida T, Katagiri T, Kidokoro S, Kanamori N, Umezawa T, Fujita M, Maruyama K, Ishiyama K, Kobayashi M, Nakasone S, Yamada K, Ito T, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Three SnRK2 protein kinases are the main positive regulators of abscisic acid signaling in response to water stress in Arabidopsis [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(12): 2123 – 2132
- [ 9 ] Nakashima K, Fujita Y, Kanamori N, Katagiri T, Umezawa T, Kidokoro S, Maruyama K, Yoshida T, Ishiyama K, Kobayashi M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Three Arabidopsis SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(7): 1345 – 1363
- [ 10 ] Yu S, Yu C M, Chun P S. Behind the scenes: the roles of reactive oxygen species in guard cells [J]. *New Phytologist*, 2014, 201(4): 1121 – 1140
- [ 11 ] Zhu M M, Brigitte S, Ning Z, David G, Chen S X. Analysis of abscisic acid responsive proteins in Brassica napus guard cells by multiplexed isobaric tagging [J]. *Journal of Proteomics*, 2010, 73(4): 790 – 805
- [ 12 ] Kinoshita T, Nishimura M, Shimazaki K. Cytosolic concentration of Ca<sup>2+</sup> regulates the plasma membrane H<sup>+</sup> – ATPase in guard cells of fava bean [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(8): 1333 – 1342
- [ 13 ] Wang P, Song C P. Guard-cell signalling for hydrogen peroxide and abscisic acid [J]. *New Phytologist*, 2008, 178(4): 703 – 718
- [ 14 ] Wang X Q, Ullah H, Jones A M. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in Arabidopsis guard cells [J]. *Science*, 2001, 292(5524): 2070 – 2072
- [ 15 ] Guo F Q, Okamoto M, Crawford N M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling [J]. *Science*, 2003, 302(5642): 100 – 103
- [ 16 ] Cheng S H, Willmann M R, Chen H C, Sheen J. Calcium signaling through protein kinases. The Arabidopsis calcium-dependent protein kinase gene family [J]. *Plant Physiology*, 2002, 129(2): 469 – 485
- [ 17 ] Mori I C, Murata Y, Yang Y, Munemasa S, Wang Y F. CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca<sup>2+</sup> – permeable channels and stomatal closure [J]. *PLoS Biology*, 2006, 4(10): 1749 – 1762
- [ 18 ] Cheong Y H, Pandey G K, Grant J J, Batistic O, Li L. Two calcineurin B – like calcium sensors, interacting with protein kinase CIPK23, regulate leaf transpiration and root potassium uptake in Arabidopsis [J]. *Plant Journal*, 2007, 52(2): 223 – 239
- [ 19 ] Geiger D, Scherzer S, Mumm P, Stange A, Marten I, Bauer H, Ache P, Matschi S, Liese A, Al-Rasheid K A S, Romeis T, Hedrich R. Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(50): 21425 – 21430
- [ 20 ] Lee S C, Lan W Z, Buchanan B B, Luan S. A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(50): 21419 – 21424
- [ 21 ] Sato A, Sato Y, Fukao Y, Fujiwara M, Umezawa T, Shinozaki K, Hibi T, Taniguchi M, Miyake H, Goto D B, Uozumi N. Threonine at position 306 of the KAT1 potassium channel is essential for channel activity and is a target site for ABA-activated SnRK2/OST1/SnRK2.6 protein kinase [J]. *Biochemical Journal*, 2009, 424(3): 439 – 448
- [ 22 ] Hubbard K E, Nishimura N, Hitomi K, Getzoff E D, Schroeder J I. Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions [J]. *Genes & Development*, 2010, 24(16): 1695 – 1708
- [ 23 ] Ward J M, Schroeder J I. Calcium-activated K<sup>+</sup> channels and calcium-induced calcium release by slow vacuolar ion channels in guard cell vacuoles implicated in the control of stomatal closure [J]. *Plant Cell*, 1994, 6(5): 669 – 683
- [ 24 ] Suhita D, Kolla V A, Vavasseur A, Raghavendra A S. Different signaling pathways involved during the suppression of stomatal opening by methyl jasmonate or abscisic acid [J]. *Plant Science*, 2003, 164(3): 481 – 488
- [ 25 ] Suhita D, Raghavendra A S, Kwak J M, Vavasseur A. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4): 1536 – 1545

- [26] Munemasa S, Oda K, Watanabe-Sugimoto M, Nakamura Y, Shimoishi Y, Murata Y. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in Arabidopsis guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(4): 1398–1407
- [27] Saito N, Munemasa S, Nakamura Y, Shimoishi Y, Mori I C, Murata Y. Roles of RCN1, regulatory A subunit of protein phosphatase 2A, in methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid [J]. *Plant Cell Physiology*, 2008, 49(9): 1396–1401
- [28] Munemasa S, Hossain M A, Nakamura Y, Mori I C, Murata Y. The Arabidopsis calcium-dependent protein kinase, CPK6, functions as a positive regulator of methyl jasmonate signaling in guard cells [J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(1): 553–561
- [29] Zhu S Y, Wang X J, Zhao R, Li Y, Fan R C, Shang Y, Du S Y, Wang X F, Wu F Q, Xu Y H, Zhang X Y, Zhang D P. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in Arabidopsis [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(10): 3019–3036
- [30] Hossain M A, Munemasa S, Uraji M, Nakamura Y, Mori I C, Murata Y. Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in Arabidopsis [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(1): 430–438
- [31] 薄惠, 王棚涛, 董发才, 宋纯鹏. 拟南芥保卫细胞中茉莉酸甲酯诱导的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生与 MAPK 信号转导体系的可能关系 [J]. *植物生理学报*, 2005, 41(4): 439–443
- [32] Maeli M, William U, Jessica K, Kinya N, He S Y. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion [J]. *Cell*, 2006, 126: 969–980
- [33] Zheng X Y, Spivey N W, Zeng W, Liu P P, Fu Z Q, Klessig D F, He S Y, Dong X. Coronatine promotes *Pseudomonas syringae* virulence in plants by activating a signaling cascade that inhibits salicylic acid accumulation [J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 11(6): 587–596
- [34] Song S, Qi T, Huang H, Ren Q, Wu D, Chang C, Peng W, Liu Y, Peng J, Xie D. The Jasmonate-ZIM domain proteins interact with the R2R3–MYB transcription factors MYB21 and MYB24 to affect Jasmonate-regulated stamen development in Arabidopsis [J]. *Plant Cell*, 2011, 23: 1000–1013
- [35] Min M D, Zhai Q Z, Deng L, Li S Y, Li H S, Yan L H, Zhuo H, Wang B, Jiang H L, Huang T T, Li C B, Wei J N, Kang L, Li C Y. Closely related NAC transcription factors of tomato differentially regulate stomatal closure and reopening during pathogen attack [J]. *The Plant Cell*, 2014, 26: 3167–3184
- [36] Rajasekaran L R, Blake T J. New Plant Growth Regulators Protect Photosynthesis and Enhance Growth Under Drought of Jack Pine Seedlings [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1999, 18(4): 175–181
- [37] Ephritikhine G, Fellner M, Vannini C, Lapous D, Barbier-Brygoo H. The sax1 dwarf mutant of Arabidopsis thaliana shows altered sensitivity of growth responses to abscisic acid, auxin, gibberellins and ethylene and is partially rescued by exogenous brassinosteroid [J]. *Plant Journal*, 1999, 18(3): 303–314
- [38] Xia X J, Gao C J, Song L X, Zhou Y H, Shi K, Yu J Q. Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dynamics in brassinosteroid-induced stomatal closure and opening in *Solanum lycopersicum* [J]. *Plant Cell Environment*, 2014, 37(3): 2036–2050
- [39] Haubrick L L, Torsethaugen G, Assmann S M. Effect of brassinolide, alone and in concert with abscisic acid, on control of stomatal aperture and potassium currents of *Vicia faba* guard cell protoplasts [J]. *Physiology Plant*, 2006, 128(1): 134–143
- [40] Xu H L, Shida A, Futatsuya F, Kumura A. Effects of epibrassinolide and abscisic-acid on sorghum plants growing under soil-water deficit. 2. physiological-basis for drought resistance induced by exogenous epibrassinolide and abscisic-acid [J]. *Japanese Journal of Crop Science*, 1994, 63: 676–681
- [41] Haubrick L L, Assmann S M. Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles [J]. *Plant Cell and Environment*, 2006, 29(3): 446–457.
- [42] Dello L R, Linhares F S, Sabatini S. Emerging role of cytokinin as a regulator of cellular differentiation [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, 11(1): 23–27
- [43] Pospisilova J. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2003, 46(4): 491–506
- [44] Das V S R, Rao I M, Raghavendra A S. Reversal of abscisic-acid induced stomatal closure by benzyl aniline [J]. *New Phytologist*, 1976, 76(3): 449–452
- [45] Pustovoitova T N, Drozdova I S, Zhdanova N E, Zholkovich V N. Leaf growth, photosynthetic rate, and phytohormone contents in *Cucumis sativus* plants under progressive soil drought [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2003, 50(3): 441–443
- [46] Kepinski S. The anatomy of auxin perception [J]. *Bioessays*, 2007, 29(10): 953–956
- [47] Lee J S. The mechanism of stomatal closing by salicylic acid in *Commelina communis* L [J]. *Journal of Plant Biology*, 1998, 41(2): 97–102
- [48] Mori I C, Pinontoan R, Kawano T, Muto S. Involvement of superoxide generation in salicylic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42(12): 1383–1388
- [49] Zeng W, Melotto M, He S Y. Plant stomata: a checkpoint of host immunity and pathogen virulence [J]. *Current Opinion Biotechnology*, 2010, 21(5): 599–603
- [50] Biswa R, Acharya, Sarah M, Assmann. Hormone interactions in stomatal function [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(4): 451–462
- [51] Bleecker A B, Kende H. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants [J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2000, 16(1): 1–18
- [52] Sharp R E. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress [J]. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(2): 211–222

[53] Desikan R, Last K, Harrett-Williams R, Tagliavia C, Harter K, Hooley R, Hancock J T, Neill S J. Ethylene-induced stomatal

closure in *Arabidopsis* occurs via AtrbohF-mediated hydrogen peroxide synthesis [J]. *Plant Journal*, 2006, 47(6): 907–916

## Phytohormone Signaling Network in Plant Guard Cells

CHEN Delong<sup>1</sup> YE Yingwei<sup>2</sup> LIU Lihong<sup>1</sup> ZHANG Min<sup>1</sup> LIU Tianyu<sup>1</sup> WANG Qiaomei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>*Key Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Quality Improvement, Ministry of Agriculture/Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029;*  
<sup>2</sup>*Department of Economics, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029*)

**Abstract:** Guard cell can sense and integrate multiple signals to regulate cell turgor and stomata movements. It is therefore regarded as a model system for studying the cross talk of phytohormones signaling. In this paper, ABA signal transduction and the cross talk of ABA signaling with other phytohormone signalings in guard cells are reviewed, to provide the emerging picture of phytohormone signaling network in guard cells. Future studies and potential application in crop production are also prospected.

**Keywords:** guard cell, phytohormone, signaling network, stomatal movement