

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201604018

引文格式: 何文平, 张旭强, 杨鹏军, 等. 低温胁迫下脱落酸对线粒体膜磷脂酶 D 活性的影响 [J]. 广西植物, 2017, 37(6):742-748

HE WP, ZHANG XQ, YANG PJ, et al. Effects of abscisic acid on PLD activity in mitochondrial membrane under low temperature stress [J]. Guihaia, 2017, 37(6):742-748

低温胁迫下脱落酸对线粒体膜磷脂酶 D 活性的影响

何文平, 张旭强, 杨鹏军, 仇奕之, 王新霞, 杨 宁

(西北师范大学 生命科学院, 兰州 730070)

摘 要: 高山离子芥 (*Chorasporea bungeana*) 是一种稀有高山冰缘植物, 其生活环境具有低温、强紫外线等胁迫因子。PLD 在膜磷脂降解及磷脂信号转导过程中发挥着重要作用, 但其活性往往受到多种因素的影响。该研究以高山离子芥试管苗为材料, 研究了 4 ℃、0 ℃ 和 -4 ℃ 胁迫下, ABA 对高山离子芥试管苗叶中线粒体膜结合态 PLD 活性的影响。结果表明: 10、50 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 脱落酸 (ABA) 处理高山离子芥后, 线粒体膜结合态 PLD 活性均较未添加 ABA 的处理组线粒体膜结合态 PLD 活性高, 其中以 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 对离子芥叶中线粒体膜结合态 PLD 活性的促进作用最为显著; 外施 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ABA 合成抑制剂钨酸钠处理高山离子芥后, 线粒体膜结合态 PLD 活性较对照组线粒体膜结合态 PLD 活性降低; 在 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA + 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA 处理组中, 高山离子芥叶中线粒体膜结合态 PLD 活性低于未添加 EGTA 处理组线粒体膜结合态 PLD 活性; 在 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钨酸钠 + 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 处理组中, 高山离子芥叶中线粒体膜结合态 PLD 活性高于未添加 CaCl_2 处理组线粒体膜结合态 PLD 活性。由此推测, 低温胁迫下 ABA 可能通过 Ca^{2+} 介导影响高山离子芥叶中线粒体膜结合态 PLD 的活性。

关键词: 低温胁迫, 高山离子芥, 脱落酸, 磷脂酶 D, 信号转导**中图分类号:** Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)06-0742-07

Effects of abscisic acid on PLD activity in mitochondrial membrane under low temperature

HE Wen-Ping, ZHANG Xu-Qiang, YANG Peng-Jun,
QIU Yi-Zhi, WANG Xin-Xia, YANG Ning

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *Chorasporea bungeana* is a kind of rare alpine periglacial plant. The environment that *C. bungeana* lives in has many stress factors such as low temperature, strong ultraviolet. PLD plays an important role in degradation of membrane phospholipids and signal transduction of phospholipids. But the activity of PLD is affected by many factors usually. In this study, the plantlets of *C. bungeana* was used as experimental materials to study the effects of abscisic acid (ABA) on the mitochondrial membrane bound-PLD activity in the leaves of plantlets of *C. bungeana* under low temperature (4, 0 and -4 ℃). The results indicated that when plantlets of *C. bungeana* was treated by 10, 50 and 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA, the mitochondrial membrane bound-PLD activity was higher than that in the group without ABA. Among these concentra-

收稿日期: 2016-06-15 修回日期: 2016-08-11

基金项目: 国家自然科学基金(31360061) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31360061)].

作者简介: 何文平 (1987-), 男 (苗族), 贵州凯里人, 硕士, 主要从事植物细胞信号转导方面的研究, (E-mail) 1059617267@qq.com。

*通信作者: 杨宁, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事植物分子细胞生物学研究, (E-mail) xbsd-yn@163.com。

tions of ABA, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA was more effective to promote the mitochondrial membrane bound-PLD activity compared with ABA of other concentrations. Sodium tungstate was an inhibitor of endogenous ABA biosynthesis and EGTA was a chelating agent of Ca^{2+} , both of them had an important role in researching the signal transduction of ABA and Ca^{2+} . When the plantlets of *C. bungeana* was treated by $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sodium tungstate, the mitochondrial membrane bound-PLD activity in the leaves of plantlets of *C. bungeana* was lower than that in the control without sodium tungstate. When the plantlets of *C. bungeana* was treated by $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA + $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA, the mitochondrial membrane bound-PLD activity in the leaves of plantlets of *C. bungeana* was lower than that in the group without EGTA. When the plantlets of *C. bungeana* was treated by $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium tungstate + $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 , the mitochondrial membrane bound-PLD activity in the leaves of plantlets of *C. bungeana* was higher than that in the group without CaCl_2 . From above results, ABA could affect on the mitochondrial membrane bound-PLD activity in the leaves of plantlets of *C. bungeana* by Ca^{2+} under low temperature.

Key words: low temperature stress, *Choraspora bungeana*, abscisic acid (ABA), phospholipase D, signal transduction

适宜的温度是植物生长的必要条件,而低温能对植物的生长产生显著的胁迫影响。 0°C 以下低温胁迫和 0°C 以上低温胁迫均能对农作物产生不同程度的低温冻害和低温冷害(王向辉,2011)。因此,在植物体中有关植物抗寒的分子机制和生理功能备受人们的关注。在植物的细胞膜中广泛分布着磷脂,而磷脂对生物膜的活性及机体正常代谢具有重要的调节作用(杨志彪,2008)。植物的抗寒能力与膜磷脂有关,且生物膜结构的稳定性及功能的完整性直接与植物抗寒机制相联系(许英等,2015)。因此,磷脂对于植物的抗寒性来说意义重大。PLD 是一类酯键水解酶,催化磷脂分子的水解。在植物磷脂降解反应中 PLD 被认为是起始酶类。PLD 催化磷脂水解的产物之一是磷脂酸(PA),而 PA 极不稳定,一部分易转化为二酰基甘油(DAG)参与下游反应,剩余部分又参与膜的重建(Meijer et al,2003)。因此,PLD 既参与膜的降解又参与膜的重建,又在植物抗逆性中如低温、干旱等方面发挥重要作用(Moreno et al,2010)。PLD 酶促反应的产物 PA 是一个重要的第二信使,参与多种信号转导事件,而 PLD 活性调节又与 Ca^{2+} 等因素有关,因此 PLD 是一个很重要的信号酶。脱落酸(ABA)具有的生理功能较广泛,在植物发育调控中占有重要位置(Mundy et al,1990)。ABA 对植物发育事件的调控主要通过 ABA 的信号转导来进行(霍妙娟等,2007)。低温胁迫会造成机体中 ABA 的积累,在植物中 ABA 含量与植物抗寒性有关(张严伟,2013)。此外,ABA 与抗氧化系统的关系密切,在水分胁迫和盐胁迫中用 ABA 合成抑制剂处理植物,会对植物抗氧化系统的诱导产生抑制(Jiang & Zhang, 2002; BellAaire,

2000)。在信号转导过程中,ABA 能促进胞内 Ca^{2+} 水平升高,但也会引起胞内 Ca^{2+} 水平下降(Bush, 1995),表明 ABA 对 Ca^{2+} 信号的产生及 Ca^{2+} 稳态的改变起一定的调控作用。Lee(1996)研究表明,外源 ABA 能使蚕豆细胞中 IP_3 的浓度在短时间内迅速增加,并产生类似于 Ca^{2+} 震荡的现象,这可能从另外一个角度说明细胞产生钙震荡现象的原因。

关于 PLD 与 ABA 之间的相互作用已有报道,但这些报道大多是关于 PLD 对 ABA 的作用。例如在植株叶片中反义抑制 *PLD α 1*,则减弱了 ABA 引起的叶片衰老(Fan et al,2004);Zhang et al(2004)研究表明 PLD 催化磷脂水解的产物 PA 能调节 ABA 信号负调控因子 ABI1;以往的研究还发现 PLD 和 PA 对 ABA 的调控可能存在对立和统一的关系(张群,2009)等。而关于 ABA 对 PLD 作用机制的研究报道较少,很多细节问题还需要进一步探讨。本研究以高山离子芥试管苗为材料,研究低温(4°C 、 0°C 、 -4°C)胁迫下 ABA 对 PLD 的作用,以期为以后研究 ABA 与 PLD 之间的信号转导提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料培养与处理

高山离子芥(*Choraspora bungeana*)来自于新疆天山乌鲁木齐河源区。将去皮的种子用 70%乙醇浸泡,再用 0.1%升汞浸泡 5~8 min,无菌水冲洗 3 次,种子直接接种于含有 3%蔗糖的 MS 培养基中,于 25°C 、2 000 lx、12 h 光周期条件下培养。待种子萌发,长至一定高度后,将试管苗接种于培养基($\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $7.8 \text{ g} \cdot$

L⁻¹琼脂,pH 5.8)中,培养 15 d。

ABA 的处理:将生长旺盛、长势良好的高山离子芥试管苗接种于含不同浓度(10、50、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ABA 的培养基中,每瓶至少接种 3 株,每处理 3 个平行。**钨酸钠的处理:**将 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钨酸钠混匀于不含 ABA 的培养基中然后将生长旺盛、长势良好的高山离子芥试管苗接种于该培养基中。**EGTA 的处理:**5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA 喷施于生长在含有 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 培养基中的高山离子芥试管苗叶片上。**CaCl₂处理:**将 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂ + 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钨酸钠混匀于不含 ABA 的培养基。

以上处理的材料均置于人工培养箱中,分别在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 中低温培养 6~72 h。

1.2 方法

1.2.1 高山离子芥磷脂酶 D 的制备 磷脂酶 D 的制备根据 Mao et al(2007)的方法,略作改变。取 0.2 g 高山离子芥置于预冷的研钵中研磨,以 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.0 的 HEPES 为提取缓冲液,研制成 10% 的匀浆,转入到离心管中于高速台式离心机(Beckman,型号:Allegram64R)以 1 000 $\times g$ (Rotor: F1010) 离心 15 min 去掉碎片。上清液以 15 000 $\times g$ (Rotor: F1010) 的离心力离心 60 min 得到线粒体膜蛋白,所得到的这些蛋白融于 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.5 的 DMG 中,此时的溶液为线粒体膜结合态 PLD 酶液。

1.2.2 磷脂酶 D 活性的测定 磷脂酶 D 活性的测定用酶联免疫法(Yong et al,1997),在离心管中配 200 μL 的反应体系,其中 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DMG(pH 6.5), 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl₂, 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂, 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚油酸, 20 μL 酶液以及 12 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PC(最后加入)。反应体系于 30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 30 min,然后在沸水浴中反应 15 min 以终止反应。冷却后加入显色液 800 μL ,在 30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 60 min,待色泽稳定后加入脱蛋白液,摇匀,用 0.22 μL 孔径的滤膜滤去杂蛋白,最后于紫外可见分光光度计(Agilent,型号:G1115A)中在 500 nm 处测 OD 值。

1.2.3 数据分析 用 SPSS 17.0 对统一处理随时间变化的差异性多重比较采用 LSD 法分析,在 Microsoft Excel 2003 中作图。图片用 Power point 整合。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 ABA 对线粒体膜结合态 PLD 活性的影响

在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,不同浓度 ABA 对

PLD 活性的影响如图 1 所示。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 时,未添加 ABA 处理(对照组)的高山离子芥叶片中线粒体膜结合态 PLD 活性在 0~72 h 过程中持续升高(图 1:A);而在 0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,PLD 活性在 0~6 h 过程中增加,随后降低(图 1:B,C)。当施加不同浓度 ABA 处理后,在三个温度下 PLD 活性较对照组均普遍升高(图 1:A,B,C),说明各浓度 ABA 均能促进 PLD 活性增加。但是不同浓度 ABA 对 PLD 活性的促进作用具有差异性:在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ > 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ > 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 1:A,B);而在 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下时,则表现出 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ > 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ > 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 1:C)。4 $^{\circ}\text{C}$ 和 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下各浓度 ABA 对 PLD 活性的促进作用规律不同于 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的,推测低温刺激强度的增加可能改变 PLD 对 ABA 的敏感性,其中以 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 对 PLD 活性的影响最显著,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,当胁迫处理到 48 h 时 PLD 活性最大,分别高出对照组 111.6% 和 300.9%;而在 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,当胁迫处理到 72 h 时 PLD 活性达到最大值,此时高出对照组 623.1%。

2.2 钨酸钠对线粒体膜结合态 PLD 活性的影响

在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,用 0.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钨酸钠处理高山离子芥后,其叶中线粒体膜结合态 PLD 活性的变化如图 2 所示。在三个低温条件下,钨酸钠处理组 PLD 活性较对照组均出现不同程度降低(图 2:A,B,C),且在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 72 h 时,与对照组相比,PLD 活性较其他时间点下降最低,分别下降了 13.8% 和 26.9%;在 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 48 h 时,与对照组相比,PLD 活性较其他时间点下降最少,下降了 15.9%。说明在低温胁迫下,钨酸钠抑制了 PLD 活性。其中 4 $^{\circ}\text{C}$ 时,钨酸钠处理组的 PLD 活性的变化规律与对照组非常相似(图 2:A);而 0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 时,钨酸钠处理组的 PLD 活性的无明显变化规律(图 2:B,C)。

2.3 ABA 和 ABA+EGTA 处理对线粒体膜结合态 PLD 活性的影响

在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,用 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA + 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA 处理高山离子芥后其 PLD 活性的变化如图 3 所示。加入 EGTA 处理后的 PLD 活性均较未添加 EGTA 处理的 PLD 活性低(图 3:A,B,C);且在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 6 h,与未添加 EGTA 处理的处理组相比,PLD 活性较其他时间点而言下降最少,分别下降了 55.7% 和 20.5%;在 -4

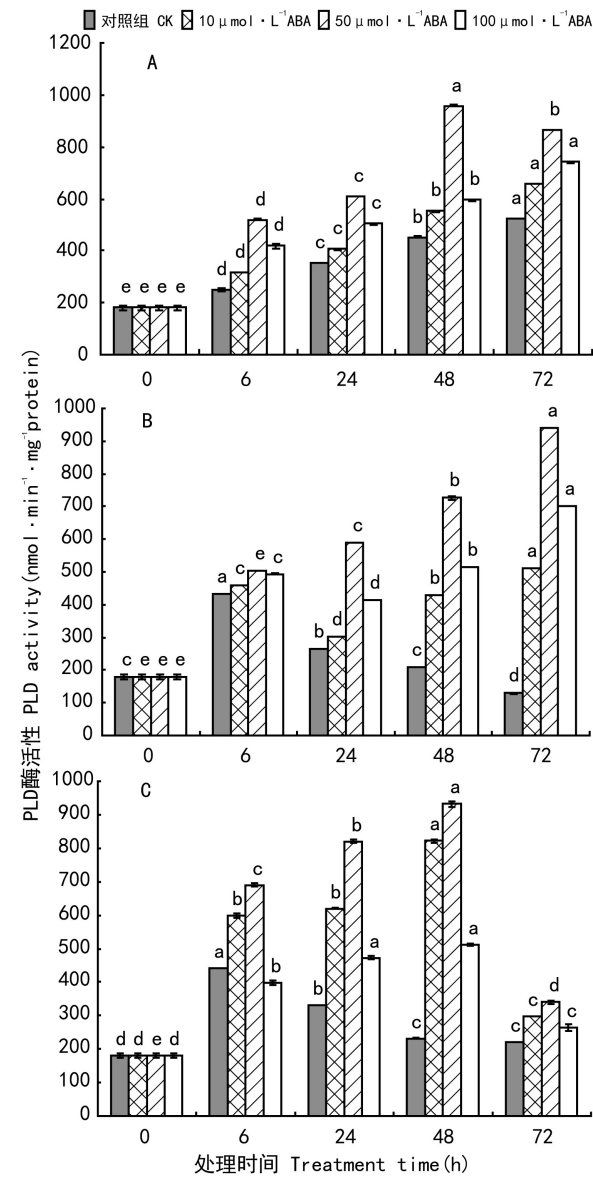


图1 低温胁迫下不同浓度ABA对线粒体膜结合态PLD活性的影响 纵坐标表示线粒体膜结合态PLD活性，横坐标表示处理时间。不同字母表示在差异显著性 ($P<0.05$),短柱为标准差。下同。

Fig. 1 Effects of different concentrations ABA on the mitochondrial membrane bound-PLD activity under 4, 0 and -4 °C The ordinate represented the mitochondrial membrane bound-PLDActivity and the abscissa represented treatment time. Different letters represent different significances ($P<0.05$), puncheon was standard deviation. the same below.

℃条件下72 h时,与未添加EGTA处理的处理组相比,PLD活性较其他时间点而言下降最少,下降了52.1%。表明在低温条件下EGTA能降低ABA诱导的线粒体膜结合态PLD活性。

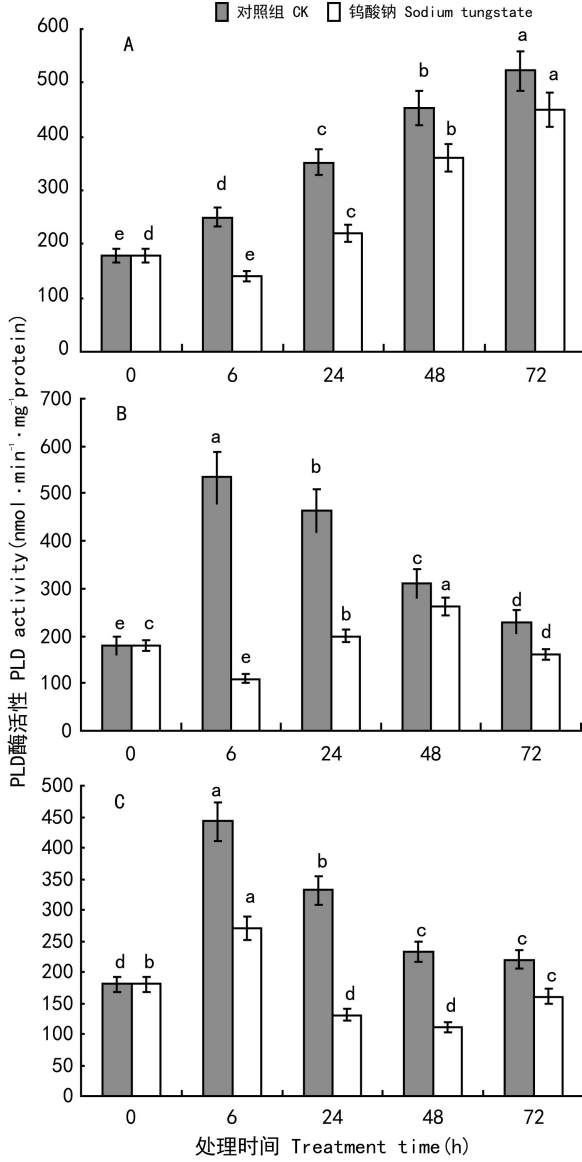


图2 低温胁迫下钨酸钠对线粒体膜结合态PLD活性的影响

Fig. 2 Effects of sodium tungstate on the mitochondrial membrane bound-PLD activity under 4, 0 and -4 °C

2.4 钨酸钠和钨酸钠+CaCl₂处理对线粒体膜结合态PLD活性的影响

在4℃、0℃和-4℃条件下,用0.3 mmol·L⁻¹钨酸钠+10 mmol·L⁻¹CaCl₂处理高山离子芥后,PLD活性的变化如图4所示。在0.3 mmol·L⁻¹钨酸钠+10 mmol·L⁻¹CaCl₂处理组中,线粒体膜结合态PLD活性均较未添加CaCl₂处理的处理组表现出不同程度的升高(图4:A,B,C);且在4℃、0℃和-4℃条件下,分别在72,48和24 h时,与钨酸钠处理

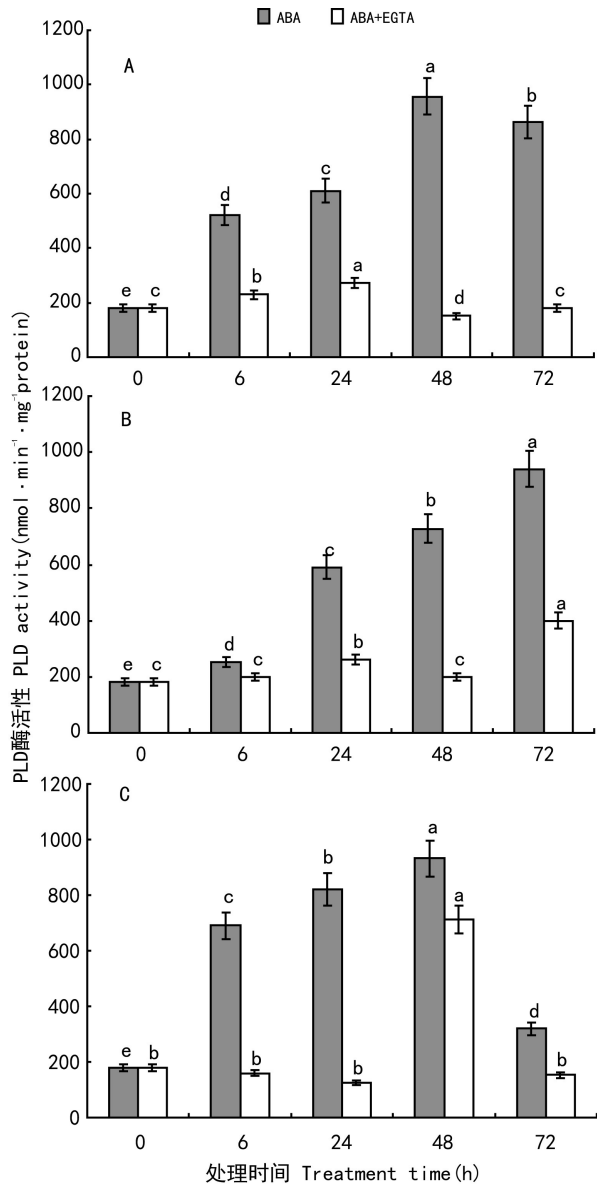


图 3 低温胁迫下 ABA 和 ABA+ EGTA 处理对线粒体膜结合态 PLD 活性的影响
Fig. 3 Effects of ABA and ABA+EGTA on the mitochondrial membrane bound-PLD activity under 4, 0 and -4 °C

组相比,PLD 活性较其他时间点而言上升最少,分别高出钨酸钠处理组 11.2%、35.4%和 76.7%。

结合图 2 结果说明,在低温胁迫下钨酸钠能抑制线粒体膜结合态 PLD 活性,而 CaCl₂的加入能缓解钨酸钠对线粒体膜结合态 PLD 活性的抑制效果。

3 讨论

在植物中 PLD 是一类磷脂水解酶,不仅能催化

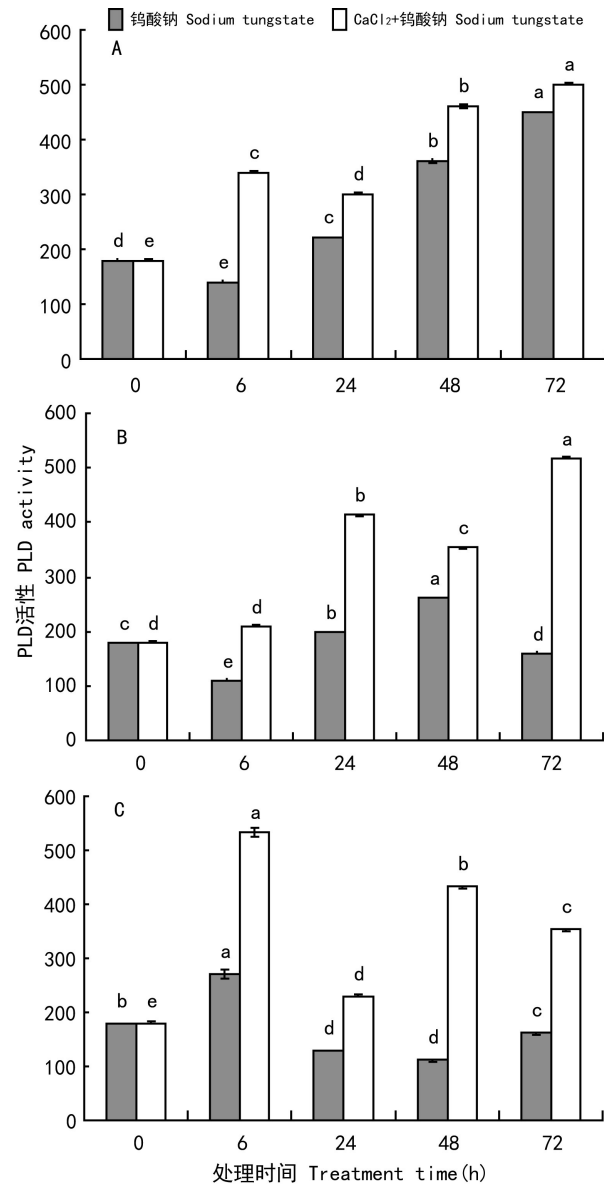


图 4 低温胁迫下钨酸钠和钨酸钠+CaCl₂处理对线粒体膜结合态 PLD 活性的影响
Fig. 4 Effects of sodium tungstate and sodium tungstate + CaCl₂ on the mitochondrial membrane bound-PLD activity under 4, 0 and -4 °C

磷脂的水解,而且在维持膜结构和功能方面均发挥着重要的作用(崔德才等,2000)。ABA 在植物生长发育及抗逆性方面具有重要意义,其与细胞中的信号分子如 Ca²⁺关系密且(杨洪江,2001)。植物的膜系统一般认为是低温伤害对植物产生作用的最初部位(滕中华等,2001), PLD 在膜的降解及稳定性的调控中起到非常重要的作用,因此关注 PLD 活性调控对于研究植物抗寒性具有重要意义。

ABA作为植物激素中的一种,与植物信号转导息息相关,具有广泛的生理功能。在本研究中,不同低温条件下,ABA均能促进PLD活性的增加。钨酸钠是一种ABA合成的抑制剂(Hansen & Grossmann, 2000)。本研究中,当用钨酸钠处理高山离子芥后降低了其叶中线粒体膜结合态PLD活性,说明低温胁迫下ABA参与线粒体膜结合态PLD活性的调控,ABA合成与否直接影响PLD活性。在低温下,植物一般会启动ABA合成系统而合成大量的ABA(刘红娟等, 2008),合成的ABA能引起一系列的生理生化事件来调控植物气孔的关闭。此外植物对激素所作出的反应一般认为是通过细胞质中 Ca^{2+} 浓度变化来实现的(宋秀芬等, 2001)。许涛等(2007)研究表明,乙烯对番茄花柄脱落的诱导作用可被 Ca^{2+} 螯合剂EGTA所抑制;而ABA对气孔打开的抑制作用被EGTA所抑制(Suhita et al, 2003);细胞分裂素诱导长春花生物碱的合成依赖于 Ca^{2+} (Merillon et al, 1991);进一步的研究表明, Ca^{2+} 对ABA信号通路的调控可能是通过 Ca^{2+} 依赖于蛋白激酶磷酸化ABA信号通路上的转录因子如ABF1, ABF4来实现(Zhu et al, 2007)。本研究中,在4℃, 0℃和-4℃条件下,用ABA和 Ca^{2+} 螯合剂EGTA处理高山离子芥后,此时线粒体膜结合态PLD活性较未添加EGTA处理的处理组低;此外,用钨酸钠处理高山离子芥后再用 CaCl_2 处理,则线粒体膜结合态PLD活性较未添加 CaCl_2 处理的高。说明在低温胁迫下,ABA对高山离子芥叶中线粒体膜结合态PLD活性的调控与 Ca^{2+} 有紧密的联系。

在低温胁迫下植物往往会增加细胞膜的渗透压(Boudsocq & Lauriere, 2005),细胞膜渗透压的升高可以引起胞外 Ca^{2+} 内流造成胞质内 Ca^{2+} 浓度的增加(Chinnusamy et al, 2004)。而ABA能激活细胞内向钙离子通道(Gilory & Trewvaas, 1994)和质膜上非选择性离子通道(Dang et al, 1995);由此胞外 Ca^{2+} 能顺着浓度梯度进入胞质中。此外胞内钙离子还可以通过胞内钙库释放 Ca^{2+} 进入胞质从而增加胞质中 Ca^{2+} 的浓度;而在这条途径中比较典型的是通过第二信使 IP_3 与其特异性受体结合后,在这过程中ABA可能通过调控 IP_3 从而促进胞内钙库释放 Ca^{2+} 。由此可知,ABA可通过多种途径来调控胞内 Ca^{2+} 含量,但在低温胁迫下ABA具体通过什么途径来影响细胞中 Ca^{2+} 水平从而影响PLD活性,目前仍不清楚,需要进一步的研究。

参考文献:

- BELLAIRE BA, CARMODY J, BRAUD J, et al, 2000. Involvement of abscisic acid-dependent and independent pathways in the up regulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue [J]. *Free Rad Res*, 33:531-545.
- BOUDSOCQ M, LAURIERE C, 2005. Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families [J]. *Plant Physiol*, 138:1185-1194.
- BUSH DS, 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling [J]. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol*, 46:95-112.
- CHINNUSAMY V, SCHUMAKER K, ZHU JK, 2004. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plants [J]. *J Exp Bot*, 55:225-236.
- CUI DC, WEN FJ, 2000. The role of phospholipase D in plant signal transduction [J]. *J Shandong Agric Univ*, 31(2):115-119.
- [崔德才, 温浮江, 2000. 磷脂酶D(PLD)在植物信号转导中的作用 [J]. *山东农业大学学报*, 31(2):115-119.]
- DANG JL, PREASS D, SEHROEDR J, 1995. Talking through walls signaling in plant development [J]. *Cell*, 83:1071-1077.
- FAN L, ZHENG S, WANG X, 2004. Antisense suppression of Phospholipase D α retards abscisic acid and ethylene-promoted senescence of postharvest *Arabidopsis* leaves [J]. *Plant Cell*, 9:2183-2196.
- GILORY S, TREWVAAS, 1994. A decade of plant signals [J]. *Bio Essays*, 16:677-681.
- HANSEN H, GROSSMANN K, 2000. Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition [J]. *Plant Physiol*, 124:1437-1448.
- HUO MJ, WEI YR, HU JJ, et al, 2007. Regulatory role of abscisic acid in plant somatic embryogenesis [J]. *Chin Biotechnol*, 27(11):92-98. [霍妙娟, 魏岳荣, 胡家金, 等, 2007. 脱落酸在植物体细胞中胚胎发生中的调控作用 [J]. *中国生物工程杂志*, 27(11):92-98.]
- JIANG MY, ZHANG JH, 2002. Role of abscisic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedling [J]. *Free Rad Res*, 26:1005-1015.
- LUI HJ, LUI Y, LUI L, 2008. Progress of research on the influence of abscisic acid in plant resistance [J]. *Biotechnol Bull*, 6:7-9. [刘红娟, 刘洋, 刘琳, 2008. 脱落酸对植物抗逆性影响的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 6:7-9.]
- LEE Y, CHOI YB, SUB CS, et al, 1996. Abscisic acid-induced phosphoinositide turnover in guard cell protoplasts of *Vicia faba* [J]. *Plant Physiol*, 110:987-996.
- MAO LC, PANG HQ, WANG GZ, et al, 2007. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress [J]. *Postharv Biol Technol*, 44(1):42-47.
- MEIJER H J, MUNNIK T, 2003. Phospholipid based signaling in plants [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 54:265-306.
- MERILLON JM, LIU D, HU GUET F, 1991. Effects of calcium entry blockers and calmodulin inhibitors on cytokine-enhanced alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cell cultures [J]. *Plant Physiol Biochem*, 29:289-296.
- MORENO-PEREZ AJ, MARTINEZ-FORDE E, GARCES R, et al, 2010. Phospholipase D from sunflower (*Helianthus annuus*): cloning and functional characterization [J]. *J Plant Physiol*, 167:503-511.
- MUNDY J, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, CHUA NH, 1990. Nu-

- clear proteins bind conserved elements in the abscisic acid-responsive promoter of a rice *rab* gene [J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*; 1406–1410.
- SONG XF, HONG JM, 2001. Spatio-temporal varieties of calcium signals and signals transduction in plant cell [J]. *Chin Bull Bot*, 18(4):436–444. [宋秀芬, 洪剑明, 2001. 植物细胞中钙信号的时空多样性与信号转导 [J]. *植物学通报*, 18(4):436–444.]
- SUHITA D, KOLLA VA, VASSEUR A, et al, 2003. Different signaling pathways involved during the suppression of stomatal opening by methyl jasmonate or abscisic acid [J]. *Plan Sci*, 164:481–488.
- TENG ZH, ZHOU DW, SHI SB, 2001. Relations between membrane permeability and cold resistance of three alpine plants in Qinghai Xizang Plateau [J]. *Grassl Chin*, 23(4):37–47. [滕中华, 周党卫, 师生波, 等, 2001. 青藏高原三种高寒植物的质膜透性变化与抗寒性的关系 [J]. *中国草地*. 23(4):37–47.]
- WANG XH, 2011. Environmental change and sustainable development agricultural in Northwestern China [D]. Yangling: Northwest A & F Univ. [王向辉, 2011. 西北地区环境变迁与农业可持续发展研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学.]
- XU T, LI TL, QI MF, 2007. Physiological regulation of calcium in tomato pedicel in vitro during abscission induced by ethylene [J]. *Acta Horti Sin*, 34(2):366–370. [许涛, 李天来, 齐明芳, 2007. 钙处理对乙烯诱导的番茄离体花柄脱落的抑制作用 [J]. *园艺学报*, 34(2):366–370.]
- XU Y, CHEN JH, ZHU AG, et al, 2015. Research progress on response mechanism of plant under low temperature stress [J]. *Plant Fiber Sci Chin*, 37(1):40–49. [许英, 陈建华, 朱爱国, 等, 2015. 低温胁迫下植物响应机理的研究进展 [J]. *中国麻叶科学*, 37(1):40–49.]
- YONG H, WU XH, IMRAN QS, et al, 1997. Determination of phosphatidyl choline specific phospholipase D using enzyme coupling colorimetric method and its application [J]. *J Shanghai Med*, 24:343–346.
- YANG HQ, JIE YL, LI LG, 2001. The research progress of abscisic acid signal transduction [J]. *Chin Bull Bot*, 18(4):427–435. [杨洪强, 接玉玲, 李林光, 2001. 脱落酸信号转导的研究进展 [J]. *植物学通报*, 18(4):427–435.]
- YANG ZB, 2008. The preparation of PLD and study on the synthetic technique of phosphatidylserine [D]. Xi'an: Northwest University. [杨志彪, 2008. 磷脂酶 D 的制备及催化合成磷脂酰丝氨酸工艺研究 [D]. 西安:西北大学.]
- ZHANG W, QIN C, ZHAO J, et al, 2004. phospholipase D α 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 Phosphatase2C and regulates abscisic acid signaling [J]. *Nat Acad Sci USA*: 9508–9513.
- ZHU SY, YU XC, WANG XJ, 2007. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 19:3019–3036.
- ZHANG YW, 2013. Effects of exogenous ALA and ABA on cold tolerance of *cut chrysanthemum* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [张严伟, 2013. 外源 ALA 和 ABA 对切花菊抗寒性的影响 [D]. 南京:南京农业大学.]
- ZHANG Q, 2009. Mechanisms of the regulation of microtubule maintenance and NADPH oxidase activity by phospholipase D and phosphatidic acid in *Arabidopsis thaliana* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [张群, 2009. 拟南芥磷脂酶 D 和磷酸对微管形态和 NADPH 氧化酶活性调控机制的研究 [D]. 南京:南京农业大学.]

(上接第 693 页 Continue from page 693)

- 85–88.]
- XIANG XM, SONG CX, LI YS, et al, 2004. Microorganism features of *Typhalatifolia* and *Phragmites australis* at rhizosphere [J]. *Environ Prot Sci*, 30(4):35–38. [项学敏, 宋春霞, 李彦生, 等, 2004. 湿地植物芦苇和香蒲根际微生物特性研究 [J]. *环境保护科学*, 30(4):35–38.]
- XU GH, ZHEN HY, 1986. Handbook of analytical methods for soil microbiology [M]. Beijing: Agriculture Press: 102–110. [许光辉, 郑洪元, 1986. 土壤微生物分析方法手册 [M]. 北京: 农业出版社: 102–110.]
- XU GP, SHEN YY, HE CX, et al, 2012. Determinations of nutrient chemical components in eichhorniacrassipessloms-laub from different eutrophic waters in Huixian karst wetlands, Guilin, China [J]. *Chin Agric Sci Bull* [徐广平, 沈育伊, 何成新, 等, 2012. 桂林会仙岩溶湿地不同富营养化水体水葫芦营养成分研究 [J]. *中国农学通报*, 28(26):262–266.]
- ZHANG XH, HU WG, MO C, et al, 2015. Correlation of actinobacteria community diversity in three different rhizospheres and physicochemical properties in natural reserve of Ebinur Lake Wetland [J]. *Environ Sci Technol*, 38(12):22–31. [张晓红, 胡文革, 莫超, 等, 2015. 艾比湖湿地根际放线菌多样性及其环境响应 [J]. *环境科学与技术*, 38(12):22–31.]
- ZHAO XL, ZHOU GS, ZHOU L, et al, 2008. Study on soil microbial number in reed wetland of Panjin [J]. *Chin J Soil Sci*, 39(6):1376–1379. [赵先丽, 周广胜, 周莉, 等, 2008. 盘锦芦苇湿地土壤微生物数量研究 [J]. *土壤通报*, 39(6):1376–1379.]