

文章编号: 1004-0374(2010)08-0736-07

## 植物 MAPK 级联途径参与调控 ABA 信号转导

张茂迎, 宗晓娟, 李德全\*

(山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

**摘要:** 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联途径信号通路在真核生物细胞信号的转换和放大过程中起重要作用。MAPK级联途径由三个成员组成,分别是MAPK、MAPKK及MAPKKK,此三个信号组分按照MAPKKK-MAPKK-MAPK的方式依次磷酸化将外源信号级联放大向下传递。大量研究表明,植物MAPK级联途径参与调控脱落酸(ABA)信号转导。因此,该文就ABA和MAPK的生物学功能、ABA信号转导中的磷酸化与去磷酸化以及MAPK级联途径与ABA信号转导之间的关系等方面的研究进展进行综述,以便进一步认识MAPK和ABA信号转导的分子机制。

**关键词:** MAPK级联途径;脱落酸(ABA)信号转导;植物;环境胁迫

**中图分类号:** Q945.18; Q945.78 **文献标识码:** A

## Mitogen-activated protein kinase cascade is involved in abscisic acid signal transduction in plant

ZHANG Mao-ying, ZONG Xiao-juan, LI De-quan\*

(College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** The mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade plays an important role in signal conversion and amplification of extracellular stimuli in eukaryotic organisms. The MAPK cascade is composed of MAPK, MAPKK and MAPKKK. They transfer signals through phosphorylation of MAPKKK-MAPKK-MAPK in turn. Evidences indicated that MAPK cascades were involved in the regulation of plant ABA signalling. This paper reviews the recent progress in the biological functions of ABA and MAPK, phosphorylation/dephosphorylation in ABA signal transduction and the relation between MAPK cascades and ABA signal transduction in order to provide insights into the molecular mechanism of MAPK and ABA signal transduction.

**Keywords:** MAPK cascades; ABA signal transduction; plants; environment stress

植物在进化过程中形成了许多生理生化机制,并通过调节自身的新陈代谢来适应多变的环境。植物将外界刺激传递到细胞内部而引发细胞响应,其中一个普遍的机制是促分裂原活化蛋白激酶级联途径(mitogen-activated protein kinases cascades, MAPK cascades)的激活。这种蛋白激酶级联途径在真核生物中是高度保守的,包括3种蛋白激酶:即MAPKKK, MAPKK和MAPK,这3种激酶通过各种途径将上游的信号受体和下游的效应器联系起来。MAPK能够被MAPKK磷酸化,磷酸化位点位于T-loop的苏氨酸和酪氨酸残基;而MAPKKK是这个磷酸化途径的第一部分,它能够通过磷酸化丝氨酸和苏氨酸残基

来激活MAPKK。

MAPK级联途径是在动物、植物和酵母系统中普遍存在的保守的信号传导通路。当植物遭受非生物和生物胁迫时,MAPK就会被激活。这些胁迫包括:低温、干旱、机械损伤以及植物体与病原菌之间的相互作用(病原体感染)。自1993年从植物中分离鉴定出第一个MAPK基因,到目前已经从拟南

收稿日期: 2010-01-14; 修回日期: 2010-03-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871457); 教育部长江学者和创新团队发展计划(IRT0635)

\*通讯作者: E-mail: dqli@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8249137

芥、苜蓿、烟草等多种植物中分离到许多MAPK级联组份。MAPK级联途径在植物信号传导中的作用受到人们广泛的重视。大量研究表明, 植物MAPK不但可以被多种生物胁迫和非生物胁迫所激活, 而且同时也参与激素信号以及细胞分裂和发育的进程。关于植物MAPK的研究, 最初主要集中在新基因的克隆, 应用以MBP为底物的凝胶内激酶活性分析(in-gel MAPK activity assay)技术、Northern blot技术、免疫沉淀技术以及通过激酶抑制剂(PD98059, U0126)将MAPK级联途径与某种刺激信号联系起来的技术等<sup>[1]</sup>。近几年, 酵母双杂交技术、病毒诱导的基因沉默(VIGS)技术、RNA干涉(RNAi)技术、反向遗传技术(reverse genetic approaches)、功能缺失型突变体、功能获得型突变体以及其他一些新技术的应用, 使MAPK级联途径在具体的信号传导过程中的功能得以逐步阐明。

脱落酸(abscisic acid, ABA)是植物中研究较早的逆境激素和信号分子。随着研究的深入, 人们发现ABA并非器官脱落的主要控制因子, 而是有其自身特殊的功能, 特别是作为“逆境激素”, 在植物抗旱、抗寒和抗盐中具有重要作用。ABA调节植物的生长发育进程, 促使种子内蛋白质和脂类合成, 促进种子休眠, 抑制种子萌发及萌发后生长, 抑制植物由营养生长向生殖生长的转变<sup>[2]</sup>。ABA还作为一种重要的逆境信号分子, 将外界不良环境刺激转化为细胞可识别信号, 诱导胁迫相关基因的表达, 引发相应的生理反应<sup>[3-11]</sup>。研究发现, 植物遭受干旱、高盐、低温、机械伤害、病害等刺激后, 体内迅速积累大量ABA, 引起气孔关闭。ABA调控气孔运动的信号转导过程极为复杂,  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、NO以及多种激酶、磷酸酶、磷脂酶等信号分子都参与其中<sup>[2]</sup>。大量试验表明,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 在MAPK级联途径调控的ABA信号转导过程中起第二信使作用。近年来关于ABA作用机制的研究取得显著进展, 对ABA信号转导途径的研究也越来越多, 特别是对影响和参与ABA信号转导途径各成分及相互关系的研究已成为探究的热点。人们普遍认为在干旱、高盐或低温条件下, 可能存在的机制是: 缺水胁迫首先引起体内ABA的积累效应, 然后内源ABA再至少通过两种途径分别诱导某些基因的表达。从胁迫刺激到植物作出反应实际是一系列复杂的信息传递过程: 感受细胞或组织对原初信号(环境刺激)的感知传导和反应, 结果产生胞间信号; 胞间信使在细胞或组织间传递, 并最终到达受体细胞的作用位点;

受体细胞对胞间信使的接受、转导和反应, 结果导致受体组织中生理生化和功能的最优化组合, 最终体现为植物对环境刺激或逆境的适应或抗性。

## 1 MAPK可以被ABA激活

十多年前就已提出MAPK参与植物体内ABA信号转导的证据, 其中比较有力的证据是在大麦糊粉粒细胞中ABA可以激活以MBP为底物的蛋白, 该蛋白能与抗-ERK1抗体发生免疫沉淀, 并且与ERK1有着相同的相对分子质量, 还能与抗-酪氨酸-抗体发生免疫沉淀, 这就说明ABA确实能造成大麦糊粉粒细胞MAPK的短暂激活<sup>[12]</sup>。Mori和Muto<sup>[13]</sup>证明其他MAPK也参与ABA信号转导, 来自蚕豆(*Vicia faba*)的3种蛋白在保卫细胞原生质体中具有活性, 其相对分子质量分别为46 k、48 k和49 k。其中, 48 k蛋白由ABA强烈诱导, 在刺激10 min后达到最大活力。不过该蛋白不能用抗-磷酸化-酪氨酸抗体免疫沉淀, 表明它不是MAPK。而46 k、49 k有活性时可经抗-磷酸化-酪氨酸免疫沉淀, 表明它们是MAPK。不过它们只能由ABA轻微诱导, 所以对于ABA介导的气孔关闭显得不那么重要。Kobayashi等<sup>[14]</sup>从水稻基因组中分离到10个*SnRK2(SNFK1-related kinase 2)*基因, 进一步实验证实其中有3个可以被ABA所激活。Xiong等<sup>[15]</sup>从水稻中分离到的*OsMAPK5*基因可以在外源施加ABA时被激活, 并且该基因可正调控与干旱、高盐和低温相关基因以及负调控*PR*基因的表达。许多实验也证实MAPK参与了ABA信号转导过程, 而ABA也激活相关MAPK基因的表达, 进而调控其他相关基因的表达。当然ABA对于MAPK的激活不是直接的, 它需要经过一系列复杂的信号传递过程来间接激活MAPK级联途径。James等<sup>[16]</sup>通过实验证明了拟南芥MPK9和MPK12在保卫细胞中优先表达并且正向调控由活性氧介导的ABA信号途径, MPK9和MPK12位于活性氧、 $\text{Ca}^{2+}$ 通道的下游以及阴离子通道的上游。此外, 结合2009年最新的研究结果可总结出一条由ROS(reactive oxygen species)介导的保卫细胞中ABA信号途径工作模型: ABA结合其受体PYR/PYL, 使其与PP2C结合, 从而抑制了PP2C的磷酸酶活性, 使得SnRK2能够磷酸化下游的组分, 然后以NADPH oxidase (AtrbohD&F)—ROS— $\text{Ca}^{2+}$  channels— $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 的顺序激活MPK9和MPK12, 最后激活阴离子通道从而引起气孔的关闭, 但是其中有些细节还不是很清楚, 需要进一步地研究。

## 2 磷酸化、去磷酸化与 ABA 信号转导的关系

蛋白质的磷酸化与去磷酸化是许多信号转导途径中的重要步骤,植物中已确定了许多蛋白激酶和磷酸酶。在 ABA 信号转导中磷酸化与去磷酸化过程同样有着非常重要的意义。Leung 等<sup>[17]</sup>采用 ABA 不敏感型的拟南芥研究 ABA 应答基因 *abi1*, 并对其克隆, 结果发现它能编码一种信号蛋白, 此种蛋白的羧基端控制区是 Ser/Thr 磷酸酯酶 2C, 氨基端延伸出 EF 手形的  $Ca^{2+}$  结合位点, 这表明 *abi1* 蛋白是一种  $Ca^{2+}$  调节的磷酸酯酶, 它通过磷酸化反应连接 ABA 到  $Ca^{2+}$  之间的信号传递。Meyer 等<sup>[18]</sup>与 Leung 等<sup>[17]</sup>同时发现, *abi1* 基因编码产物与经典的 Ser/Thr 蛋白磷酸酯酶有同源序列, 并有 ATP (或 GTP) 结合位点和氨基端延伸出的  $Ca^{2+}$  结合位点。Leung 等<sup>[19]</sup>以另一种 ABA 不敏感型突变体为材料进一步证实 *abi2* 基因与 *abi1* 一样能编码涉及信号转导的 PP2C。Heimovaara-Dijkstra 等<sup>[20]</sup>的实验表明, 有 3 种磷酸酯酶抑制剂能明显抑制 ABA 诱导的基因表达, 同时使膜上两种相对分子质量接近 40 k 的蛋白质超磷酸化。他们以抗-磷酸-酪氨酸的抗体证实, 这两种蛋白的等电点变化与两种酪氨酸蛋白等电点变化一致, 因此认为 ABA 信号转导除含 Ser/Thr 的蛋白外, 还有含酪氨酸的蛋白质磷酸化/去磷酸化参与。蛋白质去磷酸化过程对于 ABA 诱导的气孔关闭至关重要, *ABI1* 和 *ABI2* 编码蛋白磷酸酶, 是 ABA 信号转导的负调控因子, *abi1-1* 和 *abi2-1* 对 ABA 调控的气孔关闭表现不敏感<sup>[20]</sup>。最近 RCAR/PYR (regulatory components of ABA receptor/ pyrabactin resistance) 家族蛋白已经被确认为是 ABA 的受体, 并且能够以 ABA 介导的模式抑制 PP2C 活性。首先 PP2C 与 SnRK2 的 C 末端结构域 II 相互作用, 这种相互作用是稳定的且不需要 ABA 的参与。当不存在 ABA 时, PP2Cs 通过去磷酸化使 SnRK2s 失活来抑制 ABA 信号途径; 当存在 ABA 时 (ABA 被环境或者其他因素诱导), RCAR/PYR 与 PP2C 结合, 并且 SnRK2 从依赖于 PP2C 的负调控过程中释放, 这就使得 SnRK2 去磷酸化下游的底物, 包括 bZIP 转录因子 (AREB/ABFs) 等等, 来激活 ABA 响应的基因表达或者其他的响应。相反, PP2C 的主要突变体, 例如 *abi1-1*, 能够使该蛋白避免与 RCAR/PYR 结合, 就会使 SnRK2 组成型的失活<sup>[22-25]</sup>。另外, MAPK 与它的负调控因子 MKP (MAPK phosphatase) 可以调控相同的生理过程, MKP 能够使 MAPK 脱磷酸化从而起到一

个反向调节作用。MAPK 磷酸酶 2 能够使得 MPK3 和 MPK6 脱磷酸化并且失活, 从而正向调控氧化胁迫信号途径<sup>[26]</sup>。其他的 MAPK 磷酸酶, IBR5 最近也被证实能够与 MPK12 相互作用并且使其失活。这种磷酸酶-激酶模型能够负调控生长素的信号途径却对根部的 ABA 响应却不起作用, 尽管 *ibr5* 突变体显示了减弱的 ABA 敏感性。生长素处理同样可以导致 MPK12 的激活。这些结果指出了在一个潜在的由 MPK12 介导的生长素以及 ABA 信号途径之间的“交谈”(cross-talk)。因此, 检测 MKP2 和 IBR5 是否参与保卫细胞的 ABA 途径是非常有研究价值的, 这个发现将会帮助我们完善整个 MPK9/MPK12 的调节通路<sup>[27]</sup>。在拟南芥中磷脂酶  $D\alpha 1$  (PLD $\alpha 1$ ) 参与了 ABA 对气孔的调控, PLD $\alpha 1$  水解膜定位的脂类生成磷脂酸 (PA), PA 结合蛋白磷酸酶 ABI1 后, 抑制了 ABI1 的蛋白磷酸酶活性, 同时防止其由细胞质到细胞核的移动, 从而消除了 ABI1 对 ABA 信号转导的负调控作用, 导致气孔关闭; 同时 PLD $\alpha 1$  和 PA 能与 G 蛋白异源三聚体的  $G\alpha$  亚基 (GPA1) 结合, 最终抑制气孔的开放<sup>[28]</sup>。中断 PA 与 ABI1 的结合并不影响 ABA 诱导的活性氧的产生, 但是 PA-ABI1 的相互作用对于 ABA 诱导的气孔关闭是必需的<sup>[29]</sup>。

## 3 MAPK 级联途径参与调控 ABA 信号转导过程

### 3.1 MAPK 级联途径参与调控 $H_2O_2$ 介导的 ABA 信号转导

ABA 和  $H_2O_2$  能激活拟南芥、豌豆中相同的 MAPK, 且 MAPK 均能介导 ABA、 $H_2O_2$  诱导的气孔关闭<sup>[30]</sup>, 这表明 MAPK 级联通路可能是 ABA 和  $H_2O_2$  信号转导的共有途径。MAPK 级联途径对蚕豆保卫细胞中 ABA 诱导  $H_2O_2$  的产生具有调节作用的研究, 为这一推断提供了有力证据<sup>[31]</sup>。但是, ABA、MAPK、 $H_2O_2$  三者关系如何, MAPK 级联途径如何调控  $H_2O_2$  介导的 ABA 信号转导, 仍是一个值得探讨的问题。另外, Zhang 等<sup>[32]</sup>发现在玉米叶片中用 ABA 或者  $H_2O_2$  处理都可以诱导激活一个相对分子质量约为 46 k 的 MAPK, 编码抗氧化酶的基因 *CAT1*、*cAPX*、*GRI* 转录水平表达上调, CAT、APX、GR、SOD 等抗氧化酶总酶活也明显升高。关于 ABA 诱导叶片内  $H_2O_2$  积累的动力学研究表明, PD98059 和 U0126 (MAPK 抑制剂) 预处理玉米材料, 明显减弱了 ABA 处理 2 h 后的  $H_2O_2$  的积累, 而对 ABA 处理 1 h 内的  $H_2O_2$  的产生无影响。所以, 关于 ABA、 $H_2O_2$ 、MAPK 的关系大致可以概括为: ABA 诱导玉米叶片

内 $H_2O_2$ 的产生, 进而激活MAPK, 诱导编码抗氧化酶基因表达水平上调, 使得总酶活升高, 启动活性氧清除机制。同时MAPK的激活促进了 $H_2O_2$ 的产生, 对ABA诱导的 $H_2O_2$ 积累存在正反馈调节作用, 可见MAPK参与ABA、 $H_2O_2$ 信号传递是非常复杂的。其他物种中也有关于MAPK级联途径参与调节 $H_2O_2$ 产生的报道。过表达烟草的MAPKK诱导*NbrbohB*表达上调, 促进 $H_2O_2$ 产生<sup>[33]</sup>。拟南芥AtMEK1突变体*mek1*则完全抑制了胁迫刺激诱导的 $H_2O_2$ 的积累和过氧化氢酶编码基因*CAT1*的表达, 过表达AtMEK1则显著增强*CAT1*的表达, 促进 $H_2O_2$ 的积累, 说明在胁迫诱导*CAT1*表达以及 $H_2O_2$ 积累的过程中, AtMEK1起介导作用<sup>[34]</sup>。Zong等<sup>[35]</sup>从玉米中分离得到一个C组的MAPK基因——*ZmMPK7*, 发现它的转录可以被内源ABA和 $H_2O_2$ 所诱导, 而DMTU、咪唑等活性氧清除剂却抑制了这种诱导, 这说明 $H_2O_2$ 可能是*ZmMPK7*介导的ABA的信号途径所必需的。以上证据初步证明MAPK级联途径参与调控 $H_2O_2$ 介导的ABA信号转导, 但究竟是哪种MAPK的编码基因参与该信号途径, 尚需进一步的工作证实。

### 3.2 MAPK级联途径参与抑制种子萌发及萌发后生长的ABA信号转导

ABA可以抑制种子萌发及植株生长, 这种生物学效应常被用于鉴定ABA信号组分的研究, 但关于ABA抑制种子萌发后植株生长的机制报道较少。Lopez-Molina等<sup>[36]</sup>研究发现, 一种拟南芥的转录因子ABI5在种子萌发过程中表达逐渐降低, 外源施加ABA可增强ABI5转录水平和蛋白水平的表达, 抑制降解ABI5的蛋白系统, 抑制种子萌发后的生长。这一证据表明, 转录因子ABI5是ABA抑制种子萌发过程中的重要信号组分。ABA通过何种机制将抑制萌发后生长的信号传递给ABI5。Lu等<sup>[37]</sup>对此作了详细解释, 外源ABA激活野生型拟南芥和ABA超敏感型突变体*hyl1*中两个相对分子质量为42 k和46 k的MAPK。相比较野生型拟南芥, *hyl1*突变体中这两种MAPK的激活对ABA浓度更敏感。免疫检测分析证明, 该相对分子质量为42 k的MAPK为拟南芥AtMPK3。已有研究证明, ABI5是ABA抑制萌发后生长的信号转导的参与者。以ABI5作为磷酸化底物, 通过凝胶内激酶活性分析, ABI5可被相对分子质量为42 k和46 k的蛋白激酶磷酸化激活, 这与ABA激活的两种MAPK相对分子质量相同。ABA激活MAPK的动力学效应与ABA诱导ABI5表达的动

力学效应相似, 以上证据表明, ABI5可能在ABA抑制种子萌发后生长的过程中作为相对分子质量为42 k和46 k MAPK的直接或间接底物。PD98059的应用更进一步证明, MAPK级联途径参与这一过程的ABA信号转导。PD98059降低了野生型拟南芥对外源ABA的敏感性, 减弱了*hyl1*突变体对ABA超敏感的表型, 说明MAPK级联途径是ABA抑制种子萌发后生长信号转导的主要调控通路。这项研究留下几个问题没有回答, ABI5在整个ABA的信号转导过程中是MAPK直接底物还是间接底物? 拟南芥突变体*abi1*、*abi2*在种子萌发过程中对ABA不敏感, ABI1、ABI2是拟南芥同源的PP2C, 对ABA的信号转导起负调控作用, 而PP2C类蛋白磷酸酶通常对MAPK级联途径有负调控作用。因此, 在ABA抑制种子萌发后生长的信号转导过程有无PP2C或其它蛋白磷酸酶的参与? 此外, ABA对于幼苗的发育也是必需的<sup>[36]</sup>。这似乎与前面的结论有些矛盾, 不过低浓度( $< 1 \mu\text{mol/L}$ )的ABA确实可以刺激幼苗根部的生长。Xing等<sup>[38]</sup>发现 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 的ABA处理可以轻微刺激拟南芥幼苗根部的伸长, 而*mkk1 mpk6*和所有的单突变体(*mkk1*和*mpk6*)却没有发生这种变化。当用高浓度的ABA( $5\sim 50 \mu\text{mol/L}$ )处理后, 发现根的伸长及生物量积累均受到抑制, 这又与前面的结论一致, ABA对于幼苗生长的影响存在着剂量效应。尽管如此, 关于种子萌发过程中ABA信号转导研究的报道仍然很少, 很多问题还有待进一步探究。

### 3.3 MAPK级联途径参与调控保卫细胞ABA的信号转导

气孔控制植物与外界大气的气体交换, 影响光合作和蒸腾过程, 保卫细胞接受信号刺激, 控制气孔开闭的过程迅速而直观, 因此, 保卫细胞成为研究细胞信号转导的良好材料<sup>[39-47]</sup>。研究证明, ABA具有促进气孔关闭及抑制光下气孔张开的作, 在保卫细胞的ABA信号转导过程中ROS起到第二信使的作用。拟南芥双基因突变体*atrbohD atrbohF*抑制了ABA诱导的ROS的积累、 $Ca^{2+}$ 通道的激活以及气孔的关闭, 而这些效应在施加外源 $H_2O_2$ 后均能恢复。AtrbohD (*Arabidopsis thaliana* respiratory burst oxidase protein D)和AtrbohF (*Arabidopsis thaliana* respiratory burst oxidase protein F)是拟南芥保卫细胞质膜结合的NADPH氧化酶的催化亚基<sup>[48]</sup>。此外, 茉莉酸甲酯也能促进气孔关闭, 同ABA分子一样, 在促进气孔关闭的过程中, 依

赖  $H_2O_2$  的产生, 并且伴随着胞质的碱化, 双突变体 *atrbohD atrbohF* 同样抑制了茉莉酸甲酯诱导气孔关闭的过程<sup>[49]</sup>。大量证据表明, 多种蛋白激酶及蛋白磷酸酶参与 ABA 诱导气孔关闭的信号转导。例如, 保卫细胞内 ABA 激活特异 Ser/Thr 蛋白激酶 AAPK (ABA-activated protein kinase), 在 ABA 诱导的气孔关闭过程中起作用, 因为缺失突变 AAPK, 阴离子通道活性降低, 抑制 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[50]</sup>。现在有越来越多的证据表明, MAPK 级联途径参与气孔口径的调节。一项在豌豆中的研究揭示了 MAPK 在保卫细胞中的作用, MAPK 在豌豆中正向调节 ABA 诱导的气孔关闭, ABA 引起一种相对分子质量为 43 k 的 MAPK—AMBPK 的瞬时激活, AMBPK 具有 MAPK 所有的特征, 包括酪氨酸磷酸化。而 MAPK 抑制剂 PD98059 可以抑制 MAPK 的活性, 它可以在一定程度上抑制 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[51]</sup>。同样 PD98059 也可以抑制蚕豆保卫细胞中 ABA 诱导的  $H_2O_2$  的产生<sup>[52]</sup>。另一项生理学上的研究显示 PD98059 触发的 MAPK 活性的抑制是通过减少液泡离子的释放, 这就通过 MAPK 信号通路将 ABA 与液泡膜离子流量联系起来<sup>[53]</sup>。运用表皮生物学分析和激光共聚焦扫描技术发现, MAPK 级联途径对蚕豆保卫细胞中 ABA 诱导  $H_2O_2$  的产生具有调节作用, PD98059 处理蚕豆叶片下表皮, 抑制了 ABA 诱导保卫细胞内  $H_2O_2$  的产生和气孔关闭。ABA 和  $H_2O_2$  诱导气孔关闭后, 再用 PD98059 处理, 关闭的气孔重新开放, PD98059 处理使 ABA 诱导的  $H_2O_2$  探针荧光强度降低<sup>[31]</sup>。以上证据表明, 保卫细胞中  $H_2O_2$  作为第二信使介导 ABA 的信号通路, MAPK 级联途径调节  $H_2O_2$  的产生。James 等<sup>[16]</sup>发现 MPK9 和 MPK12 在拟南芥保卫细胞中优先表达, 并且正向调控由活性氧介导的 ABA 信号途径。研究表明 *mpk 9-1* 和 *mpk 12-1* 单突变体依然保持着对 ABA 的敏感性, 而 *mpk9-1/12-1* 双突变体却失去了对 ABA 的敏感性, 说明 MPK9 和 MPK12 功能冗余并且都参与拟南芥保卫细胞的 ABA 信号途径。通过 RNAi 将 *mpk9* 和 *mpk12* 的转录物分别沉默得到了与双突变体相同的表型, 利用 MPK12-YFP-HA 融合蛋白进行的表型互补恢复试验, 也验证了双突变体对 ABA 的不敏感的确是由于两者的突变引起的。另外, MPK12 的活性也被 ABA 和 ROS 所调控, 通过 ABA 和  $H_2O_2$  处理发现 MPK12 的活性得到明显的增强。尽管由于干旱、高盐或低温等造成的渗透胁迫能诱导许多基因表达, 其中有些基因的表达只有在 ABA 积累到一定程度才能实现。

但在同样的胁迫条件下, 拟南芥 *aba* 和 *abi* 突变株的一些基因则仍能表达, 说明渗透胁迫条件下基因表达的调节是多途径的。近年来许多实验室研究上述胞内两条信号转导途径的结果证明,  $Ca^{2+}$ /钙调蛋白、pH、环腺苷二磷酸核糖 (cADPR)、依赖  $Ca^{2+}$  的蛋白激酶 (CDPKs)、MAPK 等均参与 ABA 和 / 或渗透胁迫介导的信号转导途径。

此外, Xing 等<sup>[54]</sup>发现 MKK1-MPK6 信号通路参与 ABA- 依赖的 *CAT1* 基因的表达以及  $H_2O_2$  的产生。*CAT1* 的转录在 T-DNA 插入突变体 *mkk1* 中被抑制, 而在过表达植株中却被增强, 并且  $H_2O_2$  的产生也增多。同样相似的表型在 *mpk6* 突变体植株以及在 MPK6 过表达植株中也被观察到, 同时 AtMPK6 活性的增加是由 ABA 以 AtMKK1- 依赖的模式来完成的。Xing 等<sup>[38]</sup>进一步研究了葡萄糖诱导的 ABA 的增加是不是由 AtMKK1 以及 AtMPK6 所介导的。通过实验发现, 经过葡萄糖处理野生型以及 MKK1 和 MPK6 过表达植株, NCED3 表达急剧的增加, 并且在过表达植株中的表达量要高于野生型植株。而在所有的突变体植株中, NCED3 表达量被大幅度的抑制了, 特别是在双突变体植株 *mkk1 mpk6* 中。ABA 的另一个生物合成基因 *ABA2* 的表达模式与 *NCED3* 非常相似。Zhang 等<sup>[32]</sup>的研究发现, 水分胁迫下玉米叶片一个相对分子质量约为 46 k 的 MAPK 活性显著增加, 以 ABA 缺失突变体 *vp5* 为材料证实, 其活性的增加是水分胁迫下积累的内源 ABA 所引起的。因此, 玉米叶片中 MAPK 级联途径可能是通过参与 ABA 信号途径来对细胞的氧化损伤起作用的, 不过这还需要进一步研究证实。

#### 4 结语

ABA 调节植物生长发育的许多进程, 包括种子贮藏蛋白的合成、种子萌发、内源性的反蒸发作用以及对逆境胁迫的响应等生理过程。而 MAPK 级联途径作为真核生物中进化上保守的信号通路, 在细胞外刺激的转换与放大方面起着重要的作用。两者对于植物的许多生理过程都有着重要的意义, 所以对于两者之间关系方面的研究已成为当今生物学界的一大热点。

在大麦糊粉粒细胞中, 由 ABA 激活的 MAPK 是参与 ABA 信号转导的第一个证据, 并且有证据表明其他的 MAPK 也参与 ABA 反应, 这可以通过 ABA 能轻微激活蚕豆保卫细胞中两种 MAPK 来得到进一步验证。MAPK 级联途径参与了植物中很多生理过程

中的ABA信号转导, 不管是种子萌发还是气孔关闭, 同样 $H_2O_2$ 的产生也与两者有着很大的联系。ABA不仅可以激活MAPK, 反过来MAPK还可以介导ABA的生物合成。所有这些让人们有理由认为MAPK的确参与ABA的作用, 然而, MAPK级联途径以及ABA信号转导各自的复杂性表明, 两者之间的“交谈”细节还有待于进一步探究。此外, 关于此类研究多采用药理学的证据, 目前分子遗传学方面的证据还相对欠缺。

### [参 考 文 献]

- [1] Tena G, Asai T, Chiu WL, et al. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(5): 392-400
- [2] Hirayama T, Shinozaki K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. *Trends Plant Sci*, 2007, 12(8): 343-51
- [3] Adie BA, Perez-Perez J, Perez-Perez MM, et al. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(5): 1665-81
- [4] Beck EH, Fettig S, Knake C, et al. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *J Biosci*, 2007, 32(3): 501-10
- [5] Bodenhausen N, Reymond P. Signaling pathways control induced resistance to insect herbivores in *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20(11): 1406-20
- [6] Bruzzone S, Moreschi I, Usai C, et al. Abscisic acid is an endogenous cytokine in human granulocytes with cyclic ADP-ribose as second messenger. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(14): 5759-64
- [7] Garcia-Mata C, Lamattina L. Abscisic acid (ABA) inhibits light-induced stomatal opening through calcium- and nitric oxide-mediated signaling pathways. *Nitric Oxide*, 2007, 17(3-4): 143-51
- [8] Bailly C, El Maarouf Bouteau H, Corbineau F. Seed dormancy alleviation and oxidative signaling. *J Soc Biol*, 2008, 202(3): 241-8
- [9] Ding Y, Kalo P, Yendrek C, et al. Abscisic acid coordinates nod factor and cytokinin signaling during the regulation of nodulation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 2008, 20(10): 2681-95
- [10] Lovisolo C, Perrone I, Hartung W, et al. An abscisic acid-related reduced transpiration promotes gradual embolism repair when grapevines are rehydrated after drought. *New Phytol*, 2008, 180(3): 642-51
- [11] Spoel SH, Dong X. Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses. *Cell Host Microbe*, 2008, 3(6): 348-51
- [12] Knetsch M, Wang M, Snaar-Jagalska BE, et al. Abscisic acid induces mitogen-activated protein kinase activation in barley aleurone protoplasts. *Plant Cell*, 1996, 8(6): 1061-67
- [13] Mori IC, Muto S. Abscisic acid activates a 48-kilodalton protein kinase in guard cell protoplasts. *Plant Physiol*, 1997, 113(3): 833-39
- [14] Kobayashi Y, Yamamoto S, Minami H, et al. Differential activation of the rice sucrose nonfermenting 1-related protein kinase 2 family by hyperosmotic stress and abscisic acid. *Plant Cell*, 2004, 16(5): 1163-77
- [15] Xiong L, Yang Y. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell*, 2003, 15(3): 745-59
- [16] Jammes F, Song C, Shin D, et al. MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(48): 20520-5
- [17] Leung J, Bouvier-Durand M, Morris PC, et al. *Arabidopsis* ABA response gene ABI1: features of a calcium-modulated protein phosphatase. *Science*, 1994, 264(5164): 1448-52
- [18] Meyer K, Leube MP, Grill E. A protein phosphatase 2C involved in ABA signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 1994, 264(5164): 1452-5
- [19] Leung J, Merlot S, Giraudat J. The *Arabidopsis* *ABSCISIC ACID-INSENSITIVE2 (ABI2)* and *ABI1* genes encode homologous protein phosphatases 2C involved in abscisic acid signal transduction. *Plant Cell*, 1997, 9(5): 759-71
- [20] Heimovaara-Dijkstra S, Heistek JC, Wang M. Counteractive effects of ABA and GA3 on extracellular and intracellular pH and malate in barley aleurone. *Plant Physiol*, 1994, 106(1): 359-65
- [21] Allen GJ, Kuchitsu K, Chu SP, et al. *Arabidopsis* *abi1-1* and *abi2-1* phosphatase mutations reduce abscisic acid-induced cytoplasmic calcium rises in guard cells. *Plant Cell*, 1999, 11(9): 1785-98
- [22] Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, et al. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science*, 2009, 324(5930): 1064-8
- [23] Park SY, Fung P, Nishimura N, et al. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 2009, 324(5930): 1068-71
- [24] Umezawa T, Sugiyama N, Mizoguchi M, et al. Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(41): 17588-93
- [25] Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, et al. *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. *Nature*, 2009, 462(7273): 660-4
- [26] Lee JS, Ellis BE. *Arabidopsis* MAPK phosphatase 2 (MKP2) positively regulates oxidative stress tolerance and inactivates the MPK3 and MPK6 MAPKs. *J Biol Chem*, 2007, 282(34): 25020-9
- [27] Lee JS, Wang S, Sritubtim S, et al. *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase MPK12 interacts with the MAPK phosphatase IBR5 and regulates auxin signaling. *Plant J*, 2009, 57(6): 975-85
- [28] Mishra G, Zhang W, Deng F, et al. A bifurcating pathway directs abscisic acid effects on stomatal closure and opening in *Arabidopsis*. *Science*, 2006, 312(5771): 264-6
- [29] Zhang Y, Zhu H, Zhang Q, et al. Phospholipase  $\alpha$  and phosphatidic acid regulate NADPH oxidase activity and

- production of reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21(8): 2357–77
- [30] Desikan R, Cheung MK, Bright J, et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J Exp Bot*, 2004, 55(395): 205–12
- [31] Jiang J, Wang P, An G, et al. The involvement of a P38-like MAP kinase in ABA-induced and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated stomatal closure in *Vicia faba* L. *Plant Cell Rep*, 2008, 27(2): 377–85
- [32] Zhang A, Jiang M, Zhang J, et al. Mitogen-activated protein kinase is involved in abscisic acid-induced antioxidant defense and acts downstream of reactive oxygen species production in leaves of maize plants. *Plant Physiol*, 2006, 141(2): 475–87
- [33] Yoshioka H, Asai S. Roles of MAP kinases and radical burst in plant immunity. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 2007, 52(6 Suppl): 667–72
- [34] Xing Y, Jia W, Zhang J. AtMEK1 mediates stress-induced gene expression of CAT1 catalase by triggering H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 2007, 58(11): 2969–81
- [35] Zong XJ, Li DP, Gu LK, et al. Abscisic acid and hydrogen peroxide induce a novel maize group C MAP kinase gene, *ZmMPK7*, which is responsible for the removal of reactive oxygen species. *Planta*, 2009, 229(3): 485–95
- [36] Lopez-Molina L, Mongrand S, Chua NH. A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(8): 4782–7
- [37] Lu C, Han MH, Guevara-Garcia A, et al. Mitogen-activated protein kinase signaling in postgermination arrest of development by abscisic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24): 15812–7
- [38] Xing Y, Jia W, Zhang J. AtMKK1 and AtMPK6 are involved in abscisic acid and sugar signaling in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Mol Biol*, 2009, 70(6): 725–36
- [39] Fan LM, Zhao Z, Assmann SM. Guard cells: a dynamic signaling model. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(5): 537–46
- [40] Vilela BJ, Carvalho LC, Ferreira J, et al. Gain of function of stomatal movements in rooting *Vitis vinifera* L. plants: regulation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is independent of ABA before the protruding of roots. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(12): 2149–57
- [41] Zhu SY, Yu XC, Wang XJ, et al. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(10): 3019–36
- [42] Casson S, Gray JE. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytol*, 2008, 178(1): 9–23
- [43] Courtois C, Besson A, Dahan J, et al. Nitric oxide signalling in plants: interplays with Ca<sup>2+</sup> and protein kinases. *J Exp Bot*, 2008, 59(2): 155–63
- [44] Sekiya N, Yano K. Stomatal density of cowpea correlates with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO<sub>2</sub> environments. *New Phytol*, 2008, 179(3): 799–807
- [45] Wang P, Song CP. Guard-cell signalling for hydrogen peroxide and abscisic acid. *New Phytol*, 2008, 178(4): 703–18
- [46] Wilson ID, Neill SJ, Hancock JT. Nitric oxide synthesis and signalling in plants. *Plant Cell Environ*, 2008, 31(5): 622–31
- [47] Nadeau JA. Stomatal development: new signals and fate determinants. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(1): 29–35
- [48] Kwak JM, Mori IC, Pei ZM, et al. NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 2003, 22(11): 2623–33
- [49] Suhita D, Raghavendra AS, Kwak JM, et al. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiol*, 2004, 134(4): 1536–45
- [50] Li J, Wang XQ, Watson MB, et al. Regulation of abscisic acid-induced stomatal closure and anion channels by guard cell AAPK kinase. *Science*, 2000, 287(5451): 300–3
- [51] Burnett EC, Desikan R, Moser RC, et al. ABA activation of an MBP kinase in *Pisum sativum* epidermal peels correlates with stomatal responses to ABA. *J Exp Bot*, 2000, 51(343): 197–205
- [52] Pei ZM, Murata Y, Benning G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, 406(6797): 731–4
- [53] MacRobbie EA, Kurup S. Signalling mechanisms in the regulation of vacuolar ion release in guard cells. *New Phytol*, 2007, 175(4): 630–40
- [54] Xing Y, Jia W, Zhang J. AtMKK1 mediates ABA-induced CAT1 expression and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production via AtMPK6-coupled signaling in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2008, 54(3): 440–51