

# 磷酸肌醇特异性磷脂酶C在植物生长发育中的作用

李辉 杨宁\* 刘锐锐 周亚萍 高润 杜雅琴

(西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070)

**摘要** 磷脂酶C(phospholipase C, PLC)广泛存在于原核生物和真核生物中, 是信号传导途径中一类重要的别构效应酶。PLC水解磷脂酰肌醇头部基团的磷酸二酯键产生甘油二酯(diacylglycerol, DAG)和三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP<sub>3</sub>)。PLC及其水解产物DAG和IP<sub>3</sub>会参与到种子萌发、幼苗生长、花发育以及果实成熟等植物发育的不同阶段。根据作用底物的不同, 植物中有生物活性的PLC分为磷脂酰肌醇特异性PLC和磷脂酰肌醇非特异PLC。不同的PLC在结构、激活条件、底物特异性、水解产物等方面均存在差异。PLC的失活或者突变都会对植物造成严重的损伤。该文就植物PLC的结构特征、分类、特异性表达进行概述, 重点就PI-PLC应答非生物和生物胁迫的过程中发挥的作用以及与植物激素的互作进行了论述。

**关键词** PLC; 生长发育; 生物和非生物胁迫; 植物激素

## The Role of Phosphoinositide-Specific PLC in Plant Growth and Development

LI Hui, YANG Ning\*, LIU Ruirui, ZHOU Yaping, GAO Run, DU Yaqin

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

**Abstract** PLC (phospholipase C) is an important allosteric enzyme in signal transduction pathway, which exists widely in prokaryotes and eukaryotes. PLC can produce DAG (diacylglycerol) and IP<sub>3</sub> (inositol triphosphate) by hydrolyzing the phosphodiester bond on the phosphatidylinositol head group. PLC and its hydrolysates DAG and IP<sub>3</sub> are involved in different stages of plant development, such as seed germination, seedling growth, flower development and fruit ripening. Based on various substrates, PLC with the biological activity is divided into NPC (non-specific PLC) and PI-PLC (phosphoinositide-specific PLC) in plants. There are differences in structure, activation conditions, substrate specificity, hydrolyzed products in different PLCs. The inactivation or mutation of PLC can cause serious damage to plants. This paper summarizes the structural characteristics, classification and specific expression of plant PLC, and role of PI-PLC in response to abiotic and biological stress and its interaction with plant hormones are discussed emphatically.

**Keywords** PLC; growth and development; abiotic and biological stress; plant hormones

磷脂酰肌醇家族(phosphatidylinositol, PtdIns)是一类重要的磷脂, 占全部膜脂的1%, 其肌醇环的3、4、5位的羟基可被磷脂酰肌醇磷酸激酶(phos-

phoinositide phosphate kinases, PIPKs)磷酸化形成磷酸肌醇(inositol phosphate, IP)。磷酸肌醇以磷脂酰-4-单磷酸(phosphatidylinositol-4-monophosphate, PIP)

收稿日期: 2020-06-29 接受日期: 2020-08-17

国家自然科学基金(批准号: 31660061)和西北师范大学研究生科研资助项目(批准号: 2019KYZZ012048)资助的课题

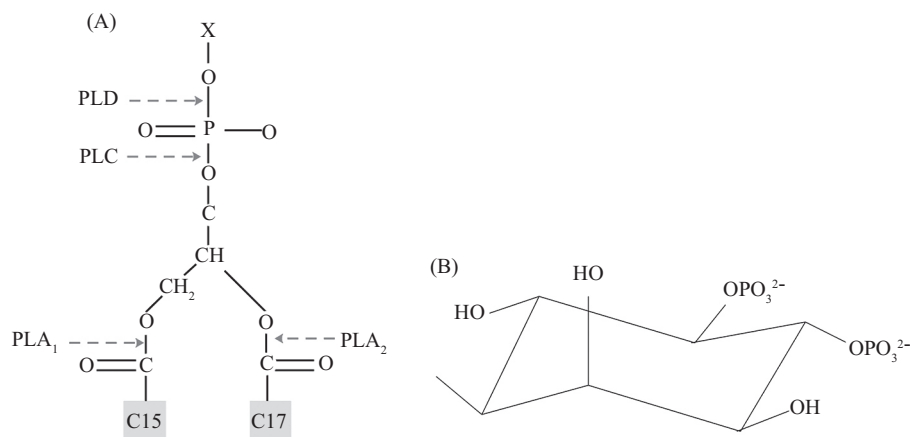
\*通讯作者。Tel: 18609319830, E-mail: xbsd-yn@163.com

Received: June 29, 2020 Accepted: August 17, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31660061) and Postgraduate Research Project of Northwest Normal University (Grant No.2019KYZZ012048)

\*Corresponding author. Tel: +86-18609319830, E-mail: xbsd-yn@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5411>



A: 不同的磷脂酶以及它们的水解位点; B: PIP2的头取代基。X代表不同的头部取代基团; PLD(phospholipase D)、PLA1(phospholipase A1)、PLA2(phospholipase A2)和PLC(phospholipase C)。

A: different phospholipases and their hydrolysis sites; B: head substituents of PIP2. X represents different head substituents; PLD (phospholipase D), PLA1 (phospholipase A1), PLA2 (phospholipase A2) and PLC (phospholipase C).

图1 磷脂酶水解位点图

Fig.1 Diagram of phospholipase hydrolysis site

和磷脂酰肌醇(4,5)二磷酸(phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate, PIP2)及其他多种磷酸化的形式存在, PIP2是动植物细胞内一种重要的磷脂信号<sup>[1]</sup>。PIP2能够调控影响细胞生长发育的蛋白, 最常见的是其参与肌动蛋白骨架重塑, 已证明PIP2通过与肌动蛋白结合蛋白Profilin相互作用直接促进肌动蛋白聚合。除此之外, PIP2作为磷酸肌醇激酶、磷酸酶和磷脂酶的底物能够影响几种酶的活性<sup>[1-2]</sup>。

植物体内广泛分布着水解磷脂的4种磷脂酶, 这些酶作用于磷脂分子中不同的酯键, 在细胞调控和代谢中起着重要作用, 如信号转导、细胞骨架和囊泡运输等<sup>[3]</sup>。磷脂酶A<sub>1</sub>(phospholipase A<sub>1</sub>, PLA<sub>1</sub>)作用于SN-1位酰基, 产生脂酸和溶血磷脂2; 磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)水解SN-2位酰基, 产生溶血磷脂和多不饱和脂肪酸。PLC作用于水解SN-3相连的磷酸基, PLD(phospholipase D)则水解磷酸取代基间酯键<sup>[4-7]</sup>(图1)。植物中已经发现的具有生物活性的PLC根据底物特异性和细胞中的功能特异性可分为两组: 磷酸肌醇非特异性PLC(non-specific PLC, NPC)作用于常见的膜磷脂产生甘油二酯(diacylglycerol, DAG), 如磷脂酰胆碱(phosphocholine, PC)和磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE); 磷酸肌醇特异性磷脂酶C(phosphoinositide-specific phospholipase C, PI-PLC)简称PLC是肌醇磷脂信号系统中的关键酶之一, 特异性水解磷酸肌醇<sup>[3,8]</sup>。PLC将质膜上的PIP2水解为DAG和三磷酸肌醇(inositol

triphosphate, IP<sub>3</sub>)。DAG/PKC(protein kinase C)和IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup>构成的“双信使系统”, 在G蛋白偶联受体的介导下引发细胞信号级联放大反应实现细胞对外界信号的响应<sup>[5]</sup>。已经证明, G蛋白α亚基能够与PLC1的C2结构域结合, WU等<sup>[9]</sup>通过酵母双杂交实验证明, 在烟草表皮组织中表达小麦PLC1与GA3(异三聚体G蛋白的典型Gα亚基)相互作用。PLC的产物IP<sub>3</sub>是Ca<sup>2+</sup>调节剂, 其磷酸化产物IP<sub>6</sub>(inositol hexaphosphate)是内质网钙库中Ca<sup>2+</sup>释放的主要因素。Ca<sup>2+</sup>也是重要的第二信使, 它可以引起钙调蛋白构象和活性的改变, 从而激活下游Ca<sup>2+</sup>相关的蛋白激酶。另一产物DAG能够被甘油二酯激酶(diacylglycerol kinase, DGK)转化成磷脂酸(phosphatidic acid, PA), PA本身是一种磷脂信号, 同时又是其他多种磷脂生物合成的前体<sup>[10-12]</sup>。

## 1 NPC参与的植物生长发育过程

NPC是一种与细菌磷脂酰胆碱特异性磷脂酶C同源的植物磷脂裂解酶。通过与细菌中存在的NPC进行序列比对分析, 在拟南芥中发现了6种NPC, 分别由NPC1到NPC6这6种基因编码<sup>[13]</sup>。研究发现, 拟南芥NPC1能够裂解PC, npc1突变体相比于野生型对热胁迫更加敏感, 过表达NPC1植株比野生型更加耐热, 这证明NPC1参与了对热胁迫的应激反应<sup>[14]</sup>; NPC2和NPC6在拟南芥根尖中高表达, 并且NPC2和NPC6的敲除突变体出现晚花表型, 两者都和种子萌

发以及花形态的发育有关<sup>[15-16]</sup>。*NPC3*的敲除突变体由于生长素信号被破坏,在磷酸盐缺乏时侧根密度明显低于野生型<sup>[3]</sup>;一方面,*NPC5*似乎也与生长素信号有关,这主要体现在*NPC5*敲除突变体对生长素介导的根系生长的敏感性降低<sup>[17]</sup>; *NPC4*受盐胁迫诱导后表达并定位于根尖,过表达*NPC4*的转基因植株在盐胁迫下生长活力明显高于野生型。相比于野生型, *NPC4*基因敲除突变体在根系生长、种子萌发中对盐胁迫更加敏感,这可能是由于*NPC4*的敲除破坏了ABA(abscisic acid)信号引起的<sup>[18-19]</sup>。在膜中通过NPC产生的DAG可以改变脂质与蛋白质相互作用,改变表面膜受体的位置,膜中不对称的DAG分布还可能促进膜结构域和功能性脂质筏的形成<sup>[20]</sup>。另一方面,水稻NPC家族与拟南芥NPC家族属于同一进化支, NPC基因在两种不同的植物物种中具有较高的序列同源性、共同的祖先性和相似的进化路径<sup>[21]</sup>。此外,植物NPC可能还参与影响植物生长发育的膜重塑、激素生成、外界胁迫等过程。随着各种植物转录组数据库的建立, NPC基因家族在不同植物物种中的表达的大量信息现已获得,但还有很多关于NPC在细胞调控和信号传递中的延伸作用的性质有待阐明。

## 2 PLC的分类和结构

在动物细胞中, PLC所有同工酶的功能和作用机制已经研究清楚<sup>[11]</sup>。相关实验证明,动物细胞中 PLC的作用与激活DAG蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和IP<sub>3</sub>信号通路介导的细胞内Ca<sup>2+</sup>释放有关。由于植物质膜上PIP<sub>2</sub>的含量较低且植物细胞内还未发现IP<sub>3</sub>直接作用的受体,植物PLC的作用机制和信号途径尚未明确阐述,与动物中的作用机制是否一致并不清楚<sup>[11,22]</sup>。已经发现的哺乳动物体内有13种PLC的同工酶,分为不同的六个PLC家族(PLCβ、γ、δ、ε、η和ζ)<sup>[11]</sup>,其中PLCζ的结构域与其他几类明显不同,它与植物PLC都没有PH结构域<sup>[23]</sup>。包括拟南芥在内的各种植物都有多种PLC,已经在水稻、小麦、番茄、大豆、马铃薯、豌豆、甘蓝、燕麦等中成功克隆得到PLC<sup>[3,24]</sup>。例如,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中已经克隆得到9个PLC基因,按*AtPLC1*到*AtPLC9*依次命名(暂时没有克隆得到*AtPLC6*的序列),番茄基因组中发现6个编码PLC的基因,水稻中也成功获得4个编码PLC的基因<sup>[21,25]</sup>。

大多数的植物PLC含有EF、X、Y和C2四个结构域。保守的X和Y结构域构成影响其磷酸酯酶活性的TIM桶状折叠结构,植物PLC的催化活性被认为严格依赖于X/Y结构域<sup>[3]</sup>,并不是所有活性的PLC都有完整的X/Y结构域。拟南芥*AtPLC8*和*AtPLC9*与*AtPLC*家族中的其他酶成员类相比,在Y区有很长的缺失<sup>[22]</sup>。C2结构域也是一个保守的结构域,主要负责靶向结合磷脂和激活PLC, Ca<sup>2+</sup>可能参与这一过程<sup>[26]</sup>;大多数的PLC都可以自主地靶向到质膜,但是Vr-PLC3(*vigna radiata* L. phospholipase C3)只有当EF手型结构域存在时, C2结构域才参与膜靶向<sup>[27]</sup>。N-端的EF手型结构域并不保守,具有多样性,在哺乳动物中, EF手型结构域由4个螺旋折叠结构组成,作为1个负责结合Ca<sup>2+</sup>和脂类的调节域<sup>[28]</sup>。而植物中EF手型结构域只有两个螺旋基序,负责酶的靶向作用,可以提高磷脂酶和底物的亲和性<sup>[4,11,22]</sup>。并不是所有的植物都含有这样规律的四个结构域,在*AtPLC2*中就不含有EF手型结构域,但仍然具有催化活性<sup>[29-30]</sup>。研究发现, *AtPLC2*的催化活性与Ca<sup>2+</sup>有关, 1 μmol/L游离的Ca<sup>2+</sup>即可以使*AtPLC2*发挥最大的催化活性<sup>[31]</sup>。大多数植物PLC中都含有EF手型结构域,如大豆和拟南芥(*AtPLC2*除外)<sup>[32]</sup>。也有植物PLC没有EF手型基序的,如马铃薯<sup>[33]</sup>。

## 3 PLC在植物中的表达特征

### 3.1 PLC的组织特异性表达

哺乳动物的PLC在各种器官以及细胞器中定位的研究已经较为成熟,植物中各种PLC在组织以及细胞的定位尚未被完全发现。已经证明, *AtPLC*在营养生长和有性生长阶段均会表达,同时我们利用转录组数据库 GENEVESTIGATOR(<https://genevestigator.com>)对已经发现的*AtPLC*的表达进行了归纳分析(图2)<sup>[29]</sup>。在对*AtPLC*家族亚型的组织特异性表达的研究中指出,除了*AtPLC6*在根中不表达外,其他8种亚型在茎、叶、根和花中均有表达<sup>[31]</sup>,并且相关研究指出, *AtPLC1*、*AtPLC3*、*AtPLC5*以及*AtPLC9*在根中高表达<sup>[31,34]</sup>。用PLC的专一性抑制剂U73122和新霉素处理拟南芥幼苗时, U73122和新霉素以浓度依赖性的方式显著抑制根伸长和破坏根形态,根中的皮层微管和肌动蛋白微丝出现紊乱和解聚的现象<sup>[35]</sup>。肌动蛋白和微管细胞骨架在PLC抑制作用下被破坏可能是由于根柱中生长素的横向不对称分

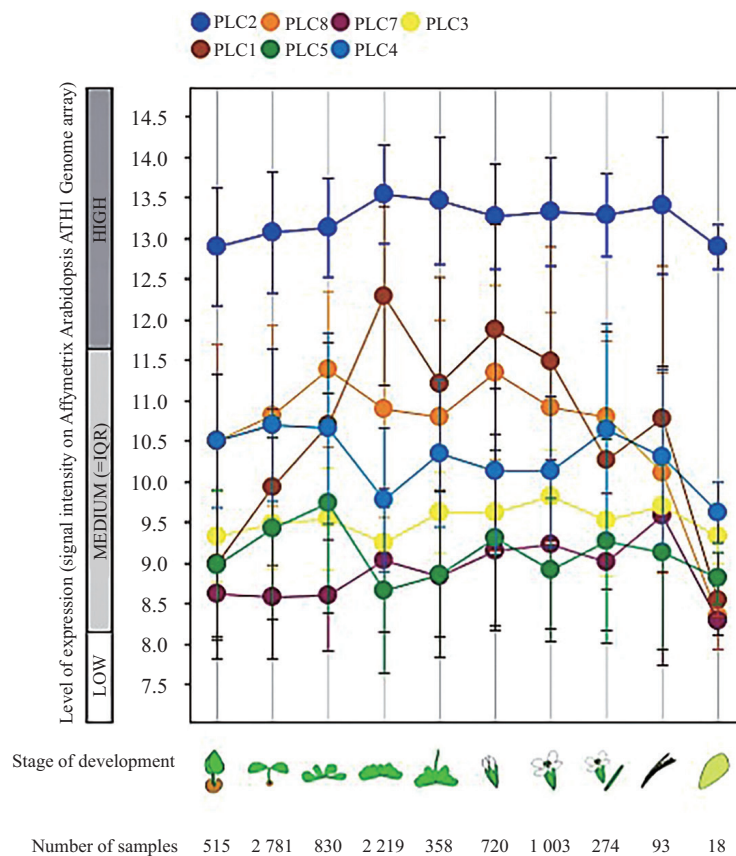


布和信号传递机制被破坏所致,在重力刺激下生长素在根柱中的这种横向分布主要由生长素外排调节因子PIN3(PIN-FORMED3)蛋白的极性靶向作用调控,而肌动蛋白和微管蛋白正好是PIN3蛋白发挥作用所必须的<sup>[35-37]</sup>。已经通过遗传学方法证明,在拟南芥和水稻中,植物主根长度、次生根密度和根系生长方向和干旱适应性相关<sup>[38]</sup>。AtPLC5在根和叶中的特异性表达受干旱胁迫的诱导,过表达AtPLC5使胞内AtPLC活性增强,PIP、PIP2水平和PA含量增加,同时导致初生和次生根生长减少、根毛发育迟缓以及气孔孔径减小,进而提高了耐旱性<sup>[34]</sup>。在同为双子叶植物的大豆基因组中鉴定得到了12个编码GmPLC(glycine max phospholipase C)的基因。RT-PCR表达模式分析表明,PEG、NaCl和盐碱处理可诱导GmPLCs在根和叶中的表达,并且ABA处理

后GmPLC转录产物在根中特异性积累。进一步分析发现,GmPLC7在茎和幼嫩的果荚等器官中具有均高水平的表达,GmPLC3、GmPLC5、GmPLC10和GmPLC11具有中等转录水平,而GmPLC1、GmPLC6、GmPLC8和GmPLC9的表达水平较低<sup>[39]</sup>。对单子叶植物水稻全基因组阵列数据分析发现,水稻PLC(oryza sativa phospholipase C, *OsPLC*)编码基因在水稻生长发育的11个阶段(6个穗期和5个种子发育阶段)也都有表达,OsPLC1和OsPLC3在所有组织中均有高表达,同时在各组织中OsPLC2的表达量较低<sup>[21]</sup>。PLC在植物生长的各阶段特异性表达的同时如何发挥作用,还需要进一步去研究。

### 3.2 PLC的亚细胞定位

拟南芥、大豆、油菜和水稻等植物中的PLC在膜系统相关的细胞器(包括细胞质膜、内质网



横坐标从左到右分别代表发芽的种子、幼苗、真叶、发育的莲座、抽薹的莲座、开花、花和种子、成熟的种子、衰老。所有的数据用微阵列分析计算得到纵坐标对应的“高”、“中”和“低”。样本数和微阵列基因表达值由GENEVESTIGATOR收集得到。

The horizontal axis from left to right represents germinated seeds, seedlings, euphyll, developed rosette, flowering, bolting rosette, mature flowers, flower and seeds, mature seeds, and senescence. The “high”, “medium” and “low” in vertical coordinates of all the data were calculated using microarray analysis. These sample numbers and microarray gene expression values are collected by GENEVESTIGATOR.

图2 不同时期AtPLC表达量  
Fig.2 The expression of AtPLC in different stage

膜和线粒体膜等)、细胞质以及细胞核中均有定位, PLC不同的定位意味着它们有不同的功能<sup>[21,40]</sup>。RAM等<sup>[30]</sup>在报道中指出, 在质膜和细胞质中定位的PLC需要被不同浓度级别的 $\text{Ca}^{2+}$ 激活, 它们对底物的选择性也不同。通过PLC特异性抗体和PLC特异性结合的原理, 证明了AtPLC4存在于胞质可溶性组分和膜组分中, 同时通过亚细胞定位发现, AtPLC4在细胞膜和细胞质中共定位, 烟草和大豆的PLC也有同样的现象<sup>[41-43]</sup>, 并且PLC活性所具备的条件是必须与磷酸肌醇所在的细胞膜发生短暂或永久的关联<sup>[30,41]</sup>。部分PLC在细胞质膜和细胞质中共定位, 研究发现, 在植物体内缺少PLC膜锚定的翻译后修饰<sup>[44]</sup>。这说明PLC在植物中的定位是可变的, 已经证明PLC的亚细胞定位在受到外界胁迫时会发生迁移, 没有外界胁迫时GFP(green fluorescent protein)标记的OsPLC1在细胞质膜和细胞质均有定位并且大部分定位在细胞质中; 当用NaCl处理水稻幼苗时发现, 细胞质中的OsPLC1会迁移至细胞质膜, 最终造成OsPLC1在质膜的定位多于细胞质<sup>[45]</sup>。GFP标记的PetPLC1(petunia phospholipase C1)和自身C2结构域共表达时也会发生从细胞质向细胞膜迁移的现象, 并且已经证明膜相关PLC的C2结构域具有膜靶向作用<sup>[46-48]</sup>。PLC的C2结构域在 $\text{Ca}^{2+}$ 调节膜靶向中的关键作用已在植物中得到证实:  $\text{Ca}^{2+}$ 水平的变化是造成细胞质中游离的PLC迁移的主要原因, 应力刺激下 $\text{Ca}^{2+}$ 增加会导致 $\text{Ca}^{2+}$ 结合的C2结构域暴露疏水表面然后C2结构域靶向膜去响应 $\text{Ca}^{2+}$ 刺激, 然而 $\text{Ca}^{2+}$ 增加后EF手型和XY结构域在疏水性方面并不会产生这样的变化<sup>[27,44]</sup>。关于核定位PLC的作用机理还需要深入的研究。

## 4 PLC对植物生长发育的作用

### 4.1 PLC参与植物对外界胁迫的应答

4.1.1 PLC参与的非生物胁迫 对非生物胁迫的信号研究可以更清楚地了解植物的抗逆能力, 有助于提高作物产量。渗透胁迫是指由于环境因素的变化使植物不能得到充足水分的一种非生物胁迫。植物的PLC积极参与到渗透胁迫的响应中, PLC在植物渗透胁迫信号中活性被诱导增强。一些常见的盐类(NaCl、KCl等)和渗透胁迫诱导剂(甘露醇等)都会引起 $\text{IP}_3$ 水平的迅速增加, 同时添加外源AtPLC1的抑制剂U73122能够使高渗胁迫过程中干旱相关基因的

表达被抑制<sup>[49-50]</sup>。AtPLC1还参与了ABA对种子萌发的调控过程, AtPLC1产生的信号分子 $\text{IP}_3$ 在种子萌发过程中传递ABA信号。但AtPLC1对ABA的活性并不是必要的, 过表达AtPLC1不会引起ABA下游响应基因*RD29a*、*KIN2*和*RD22*表达水平的变化<sup>[51-52]</sup>。另外, AtPLC1还参与了ABA控制气孔关闭的调控过程, 添加PLC抑制剂U73122可以抑制ABA引起的气孔关闭和气孔 $\text{Ca}^{2+}$ 振荡, 同样地AtPLC3和AtPLC7也参与了ABA介导的种子萌发和气孔关闭<sup>[53-55]</sup>。PLC在农作物中也会积极响应非生物胁迫。DENG等<sup>[56]</sup>发现, *OsPLC4*缺失突变株中 $\text{IP}_3$ 和细胞质游离 $\text{Ca}^{2+}$ 明显下降, 同时 $\text{Ca}^{2+}$ 传感器和盐胁迫渗透胁迫反应相关基因被抑制, 突变株表现出对渗透胁迫的耐受力明显下降。而补充DAG或PA可以恢复*OsPLC4*突变株对盐胁迫的耐受性, 过表达*OsPLC4*基因可以提高拟南芥幼苗在高盐和缺水的环境中的生长率和存活率<sup>[56]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$ 信号同样在OsPLC1调控水稻中盐胁迫和提高水稻的耐盐性发挥作用, 在受到盐胁迫诱导时OsPLC1能够从细胞质迁移到质膜, 并在那里水解PI4P进而产生DAG和 $\text{IP}_3$ , OsPLC1进一步通过 $\text{IP}_3$ 释放的 $\text{Ca}^{2+}$ 信号控制叶片 $\text{Na}^+$ 积累, 从而建立水稻的耐盐体系<sup>[57]</sup>。

植物热胁迫应答最常见的反应之一是热休克蛋白(heat-shock proteins, HSPs)的产生和积累, HSP的表达受热休克转录因子(heat shock transcription factor, HSF)与热休克启动子元件(heat shock element, HSE)的调控<sup>[58]</sup>。热胁迫感知和信号传递是植物中一种复杂的途径, 高温引起膜流动性的变化, 激活一些未知的 $\text{Ca}^{2+}$ 通道, 从而产生应答<sup>[59]</sup>。LI等<sup>[24]</sup>发现, PLC/ $\text{IP}_3$ 可能参与热胁迫信号转导通路, 进一步通过耐热性实验发现, AtPLC家族中只有AtPLC9能够响应热胁迫, *ATPLC9*缺失突变株中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度会发生降低从而会减弱植株防卫逆境反应的能力<sup>[24]</sup>。在应答热胁迫后, AtPLC9通过诱导细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{IP}_3$ 增加参与到热胁迫调控机制中, 同时通过分析*AtPLC9*启动子的特异性表达证明ATPLC9还会促进HSP的表达<sup>[24]</sup>。植物应答寒冷胁迫, 与微管解聚以及其上游的磷酸肌醇代谢有关, 同时植物PLC也涉及冷胁迫诱导细胞中的信号转导, 一些低温调控基因的表达依赖于PLC的活性, 而PLC的激活依赖于 $\text{Ca}^{2+}$ 进入细胞<sup>[60-61]</sup>。低温处理的小麦在信号转导过程中会出现快速且短暂的 $\text{IP}_3$ 积累, 同时PIP2会伴随着下降<sup>[22]</sup>。除此之外, 植物中的PLC

信号还参与到对重力胁迫、重金属胁迫和内质网胁迫等其他非生物胁迫响应的信号转导过程中<sup>[62-64]</sup>。

**4.1.2 PLC参与的生物胁迫** 在受到生物胁迫时, PLC家族相关基因会被转录激活<sup>[22,65]</sup>。植物细胞中, 植物磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C位于植物天然免疫系统的中心, PLC生成的DAG可能招募和激活免疫信号蛋白来启动免疫防御反应, 而其他DAG分子则被迅速磷酸化到PA, PA反过来可以磷酸化生成焦磷酸二酰甘油(diacylglycerol pyrophosphate, DGPP), DAG、PA和DGPP可能调节下游ROS生成、植物保护素积累和免疫防御相关基因<sup>[66]</sup>。LI等<sup>[75]</sup>在最新的研究中指出, PLC的底物PIP2是植物产生病症的易感性因子。在拟南芥的两大类质膜磷脂肌醇中, 只有PIP2而非磷脂酰肌醇-4-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PI4P), 被特异募集到细胞外膜上进一步协助病原菌吸器外膜的形成, 在病原菌侵染部位中PIP2的含量明显增加, 敲除编码PIP2合成酶的基因可以抑制宿主植物对病原菌侵染的相关病症出现<sup>[75]</sup>。水杨酸(salicylic acid, SA)在植物对低温、热、重金属毒性、干旱、渗透胁迫和盐度等多种非生物胁迫的反应中具有重要作用, 在面对生物胁迫时, 水杨酸作为一种植物防卫激素介导转录水平调控和系统免疫调节之间的关系<sup>[67-68]</sup>。PLC可能通过SA参与到生物胁迫过程中。研究发现, SA对PLC具有抑制作用, PLC通过2种机制参与了SA响应基因的控制: 减轻PLC产物(或其磷酸化形式)的影响以及增加磷酸酶在细胞中的含量, 通过对悬浮培养的拟南芥细胞外施SA发现, SA能够诱导磷酸肌醇的增加而降低PA的产量, 而PA是植物细胞中PLC产物DAG的磷酸化衍生物<sup>[69]</sup>。已经能够精确地确定SA对基因表达的作用: SA通过激活磷脂酰肌醇4-激酶(phosphatidylinositol 4-kinases, PI4Ks)抑制PLC发挥作用。SA对PLC的抑制可能是SA在植物中作用的主要步骤, 特别SA对抑制基因的反应, SA不仅抑制PLC的活性, 还会对其他类磷脂酶信号产生抑制<sup>[69-70]</sup>。同样在辣椒细胞中我们也发现了SA可以直接抑制PLC的表达<sup>[71]</sup>。

已经在多种植物中证明了PLC响应植物的免疫防御反应过程。细胞表面模式识别受体识别MAMPs(microbe-associated molecular patterns)是植物对病原体免疫响应的第一道屏障<sup>[72]</sup>。在拟南芥中细菌鞭毛蛋白(或衍生的flg22肽)参与了MAMPs

触发的反应, 免疫响应过程中flg22肽通过一系列的配体受体识别反应和磷酸化反应, 最终磷酸化质膜NADPH氧化酶RBOHD(respiratory burst oxidase homologue)从而引发ROS防御信号的产生<sup>[73-74]</sup>。研究发现, AtPLC2被沉默时拟南芥植株容易受到丁香假单胞菌和豌豆白粉病的感染, 这可能是因为AtPLC2是充分激活ROS产生和由MAMP-flg22引起的ROS依赖反应所必需的, 并且AtPLC2正向调控拟南芥NADPH氧化酶活性<sup>[74]</sup>。在番茄中外施的抑制剂U73122时发现, SIPLC(solanum lycopersicum phospholipase C)的活性受到抑制时, flg22肽介导的FLS2(flagellin-sensing 2)免疫受体的激活也被抑制, FLS2无法磷酸化进而无法传递免疫信号<sup>[75]</sup>。JACOBSEN等<sup>[25]</sup>进一步发现, SIPLC4和SIPLC6是番茄免疫防御系统必需的组成部分, SIPLC4和SIPLC6均参与对黄腐病抗性的应答机制中。在水稻中受到生物胁迫时ROS防御信号也会积极应答并抑制病原体的生长, 外源合成DAG的加入可诱导快速ROS积累进而水稻细胞中防御相关基因的激活表达<sup>[76]</sup>。总之, 植物PLC在响应不同胁迫的信号转导中起着重要作用, 代表了复杂的细胞调控系统网络中的一个关键枢纽。然而, 对PLC的调控、特定PLC基因的参与、产生的第二信使在非生物和生物胁迫信号和反应中的机制作用需要进一步的研究。

## 4.2 PLC调节植物生长发育

生长素是植物中被发现的第一个激素, 在植物生长旺盛的部分(胚芽鞘、芽和根尖的分生组织、花粉、幼嫩种子等)比较集中, 影响植物个体发育、形态发生, 也参与植物对干旱、盐害和重金属等非生物胁迫的响应<sup>[77]</sup>。植物的世代交替是一个精确的顺序过程, 包括单倍体配子体的产生和二倍体孢子体的发育, 这包括从配子发生到受精, 高度组织和规律的雄性和雌性配子分别产生于花粉粒和胚囊。植物受精后, 由雄配子和雌配子融合而成的二倍体合子, 通过胚胎发生, 产生一个新的孢子体<sup>[78-79]</sup>。研究发现, 纯合的AtPLC2缺失突变株中会出现不寻常的花冠状或雄蕊状结构, 而这些异常的花冠和雄蕊导致了雌雄配子无法正常结合形成孢子体进而导致植株不育。这些花状结构与生长素突变体的表型一致, 并且在atplc2突变体中发现生长素分布发生改变和生长素浓度上升, 这是由于生长素生物合成基因YUCCA的表达水平被上调引起的<sup>[80]</sup>。CHEN



等<sup>[81]</sup>证明, AtPLC2在生长素调节根系发育中也会起作用, 包括初级根伸长、根向性和根毛生长。生长素浓度梯度影响植物个体及其器官的形态建成, 而PIN(pin-formed protein)蛋白决定组织中的生长素流向。atplc2缺失突变体的根伸长对高浓度外源生长素的敏感性较低, 突变体中根毛生长不完整。当外施生长素的抑制剂时, 可以挽救atplc2突变体的根毛生长缺陷。此外, 突变体根表皮细胞的PIN蛋白极性和分布也发生了改变。突变体幼苗中PIN8的过表达可导致根系IAA水平下降。这些结果表明, AtPLC2在生长素介导的根发育中发挥了关键作用<sup>[81-82]</sup>。植物PI-PLC对细胞分裂素的作用也会影响, 来自藓类植物的PLC1敲除突变体显示配子细胞形成显著减少, 同时对细胞分裂素失去敏感性<sup>[83]</sup>。另外发现, 特定的植物PLC不止与一种植物激素有关, 甘蓝型油菜PLC2会引起油菜中众多激素合成基因表达和植物激素分布模式的显著变化(IAA、ABA以及GA)<sup>[84]</sup>。

#### 4.3 PLC介导极性信号对花器官发育的作用

DGK可以将PLC下游产物DAG磷酸化成PA, 在拟南芥中发现了DGK2和DGK4在花粉中高水平表达, dgk2dgk4双突变株系中PA缺失进一步导致花粉管生长缺陷<sup>[85]</sup>。花粉管的生长发育对于植物的受精和繁殖成功是必要的, 植物微管/微丝蛋白相关生长机制的调节因子、极性信号介导的囊泡运输以及细胞质Ca<sup>2+</sup>梯度是花粉管正常生长的关键<sup>[86]</sup>。转录组数据库(<http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de/>)以及相关实验已经表明, 根和花粉是植物PLC转录水平较高的器官, GUS染色检测AtPLC4在花粉和某些花器官特异性表达<sup>[22,31,87]</sup>。SYLVIE等<sup>[48]</sup>从矮牵牛花粉管中克隆到PetPLC1(*Petunia phospholipase C1*)基因, 发现其在花粉管中被沉默后会引发花粉管顶端Ca<sup>2+</sup>浓度呈梯度扩展, 破坏花粉细胞肌动蛋白骨架结构, 进而影响花粉管极性生长<sup>[48]</sup>。在烟草花粉管中, PLC在顶端附近的质膜中积累, 而在顶端不积累, 而PIP2仅在花粉管顶端积累。PLC失活会导致PIP2从其顶端质膜横向扩散, 并破坏花粉管尖端的Ca<sup>2+</sup>梯度<sup>[3]</sup>。TOLSTYKH等<sup>[88]</sup>在动物细胞已经发现, PLC能够引发极性信号并且和细胞肿胀有关。植物细胞中也有同样的现象, PLC抑制剂U73122对花粉管生长有较强的抑制作用, 导致花粉管顶端肿胀, 在花粉管中将表达的PLC沉默或者敲除时, 也会出现同样的效果<sup>[22,26]</sup>。细胞极性被广泛地理解为细胞

内的不对称性, 极性形成是由极化信号引发的<sup>[89]</sup>。Rho(小G蛋白超家族的亚家族成员)家族GTPase(鸟苷三磷酸酶)信号网络整合所有植物特异性和保守性极性信号, 协调极性建立和维持所需的细胞骨架重组和囊泡转运机制。极性信号能引导花粉管生长用于输送雄配子<sup>[90-92]</sup>。Rac/Rop型Rho家族GTP酶是极性细胞膨胀的关键调节因子, 在花粉管的尖端细胞质膜上积累, 该酶过表达使花粉管的生长去极化, 并导致顶端大量膨胀, 而Rac/Rop失活则强烈抑制了这一过程<sup>[93]</sup>。已经证明烟草细胞中PLC的底物PIP2是花粉管Rac/Rop酶的关键效应因子, 可以直接控制花粉骨架肌动蛋白组织和膜运输, PLC的下游产物DAG被烟草花粉管细胞膜内化回收, 处在一种循环状态<sup>[26]</sup>。根据系统发育分析, 拟南芥和其他植物花粉中的PLC家族聚集成不同的类群, 这可能表明在不同类型植物的花粉管中可能存在的PLC活动也不同, 由此推测植物PLC可能通过对细胞极性信号的调控进而影响花器官的形态建成<sup>[31]</sup>。

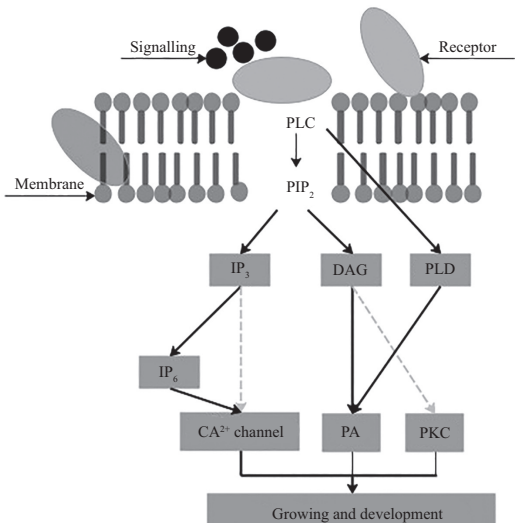
#### 5 PLC作用机理的分析

虽然哺乳动物PLC家族成员在受体介导的细胞信号转导中的作用已经明确, 但PLC如何在植物中进行信号转导并不明确仍处于探索阶段。动物细胞中DAG可以激活PKC超家族的成员, 它能使细胞质中的多种酶被激活, 调控细胞发育中的生化反应。动物细胞中的IP<sub>3</sub>作为产生多磷酸化的底物的作用, 它主要控制了mRNA的处理、染色质结构和其他核事件<sup>[11,94]</sup>。但是植物中没有发现类似动物中特定的PLC相关信号元件PKC以及IP<sub>3</sub>的受体<sup>[95]</sup>。虽然已经证明了植物中IP<sub>3</sub>的磷酸化产物IP<sub>6</sub>是钙库中Ca<sup>2+</sup>释放的主要因素, 但是目前并没有直接的实验性结论表明来自PLC水解生成的IP<sub>3</sub>/DAG直接引发了Ca<sup>2+</sup>/PA相关的信号转导<sup>[3,75]</sup>。同位素示踪技术和分子标记的应用或许可以解决这一问题。PA作为一个重要的第二信使, 可以直接和蛋白质结合发生作用, PA和膜蛋白的结合有时候会影响局部膜结构以及膜相关的生理活动<sup>[96]</sup>。比如在动物细胞中, 已经知道磷脂信号分子参与调节膜上的多种离子通道, 最近在植物中叶发现了类似的现象。比如PA可以直接结合水稻钾离子相关通道蛋白OsAKT2并抑制钾离子通道的活性<sup>[97]</sup>。在植物磷脂酶的作用机制中, PLD直接水解磷脂产生PA, PLC生成的DAG在DGK的作

用下磷酸化成PA。为了更加清楚地了解PA的合成路径, ARISZ等<sup>[10]</sup>通过在植物材料上标记<sup>32</sup>Pi(正磷酸盐)和GC-MS分析, 发现在短时间内, 当PLC和PLD被激活时被标记的PA呈刺激依赖性增加并且只能通过PLC/DGK途径产生, 而不是通过PLD。而且PLD代谢产生PA的速率和含量要远远低于PLC/DGK途径。同时相关报道指出, 植物内大多数PA是由PLC产生的并且和NPC水解生成的DAG无关, PLC/DGK的信号通路可能和激活PLD产生少量的PA有关<sup>[49,95]</sup>(图3)。但上述这些并不能说明PLD产生的PA不重要, 因为拟南芥中PLD的缺失和抑制会引起在冷冻胁迫下PA水平的降低, 并且PLD和PLD产生的PA在应答冷冻胁迫时, 对维持细胞膜

完整性至关重要<sup>[98]</sup>。促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路广泛存在于真核生物体内, MAPK可以和胞质类受体激酶协同调控植物细胞程序死亡的分子机制<sup>[99]</sup>。通过对PLC信号网络(<http://plantpan2.itps.ncku.edu.tw/>)的分析中我们发现, PLC还可以影响MAPK、DADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)等级联途径, PLC的下游还可能存在P38蛋白调控植物细胞死亡。由此得出, PLC及其下游信号分子不仅在调控植物细胞生长发育发挥重要作用, 还可能影响细胞的死亡。

我们通过PLANTPAN2.0对AtPLC家族的每一个基因的上游调控元件进行归纳总结(表1), 发现



PLC: phospholipase C; PLD: phospholipase D; DAG: diacylglycerol; IP<sub>3</sub>: inositol triphosphate; IP<sub>6</sub>: inositol hexaphosphate; PKC: protein kinase C; PA: phosphatidic acid. 实线箭头代表已被证明, 虚线箭头代表存在争议。  
PLC: phospholipase C; PLD: phospholipase D; DAG: diacylglycerol; IP<sub>3</sub>: inositol triphosphate; IP<sub>6</sub>: inositol hexaphosphate; PKC: protein kinase C; PA: phosphatidic acid. Solid arrow represents proven. Dotted arrow represents controversial.

图3 植物PLC作用机制示意图  
Fig.3 Diagram of mechanism of plant PLC

表1 拟南芥PLC家族顺式作用元件  
Table 1 Cis-regulatory element of AtPLCs

| 元件<br>Element | 基因<br>Gene                       | 功能<br>Function                                 |
|---------------|----------------------------------|------------------------------------------------|
| RGA           | <i>AtPLC1</i> , 2, 3, 4          | Inhibit gibberellin signaling                  |
| WRKY33        | <i>AtPLC1</i> , 3, 5             | Respond to the plant immune response           |
| PIF4          | <i>AtPLC3</i> , 4, 8, 9          | Response light signals                         |
| RD26          | <i>AtPLC1</i> , 2, 3, 4, 5, 8, 9 | Participate dehydration was mediated by ABA    |
| ZAT6          | <i>AtPLC2</i> , 3, 4             | Regulate accumulation and tolerance of cadmium |
| SEP3          | <i>AtPLC2</i> , 3, 4             | Participate in the construction of flowering   |
| KAN1          | <i>AtPLC1</i> , 2, 3             | Control polarity growth of cell                |
| LFY           | <i>AtPLC8</i> , 9                | Control the development of anther meristem     |
| AP1           | <i>AtPLC3</i>                    | Positive regulation of flowering time          |
| FLM           | <i>AtPLC4</i>                    | Negative regulation of flowering time          |



AtPLC家族基因均受到生长信号相关的转录因子的调节。但是磷脂酶信号在植物信号传导网络中处于什么样的位置仍然需要深入研究。PLC可能参与的信号途径, 是酶自身和信号蛋白作用还是下游的IP<sub>3</sub>和PA还有待实验验证。PLC对植物激素的作用机制目前还只是起步阶段, PLC在植物响应防御时是否会调控植保素信号网络? 磷脂酶家族之间存在互作关系, 那么PLC家族的亚族是否会互相响应? PLC是否会直接受到一些转录因子的调控去发挥作用? 这些问题都需要进一步去研究解决。PLC以及磷脂酶家族一直都是研究热点, 仍然有大量的工作需要做。

### 参考文献 (References)

- [1] TOKER A. Phosphoinositides and signal transduction [J]. *Rev Clin Basic Pharm*, 2002, 59(5): 761-9.
- [2] FUKAMI K, SAWADA N, ENDO T, et al. Identification of a phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-binding site in chicken skeletal muscle alpha-actinin [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(5): 2646-50.
- [3] HONG Y, ZHAO J, GUO L, et al. Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses [J]. *Prog Lipid Res*, 2016, doi: 10.1016/j.plipres.2016.01.002.
- [4] MUNNIK T, TESTERINK C. Plant phospholipid signaling: "in a nutshell" [J]. *J Lipid Res*, 2009, doi: 10.1194/jlr.R800098-JLR200.
- [5] XUE H W, CHEN X, MEI Y. Function and regulation of phospholipid signalling in plants [J]. *Biochem J*, 2009, 421(2): 145-56.
- [6] HEILMANN M, HEILMANN I. Plant phosphoinositides-complex networks controlling growth and adaptation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(6): 759-69.
- [7] LI J, YU F, GUO H, et al. Crystal structure of plant PLD $\alpha$ 1 reveals catalytic and regulatory mechanisms of eukaryotic phospholipase D [J]. *Cell Res*, 2020, 30(1): 61-9.
- [8] WANG X. Plant phospholipases [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, doi: 10.1146/annurev.arplant.52.1.211.
- [9] MISRA S, WU Y, VENKATARAMAN G, et al. Heterotrimeric G-protein complex and G-protein-coupled receptor from a legume (*Pisum sativum*): role in salinity and heat stress and cross-talk with phospholipase C [J]. *Plant J*, 2007, 51(4): 656-69.
- [10] ARISZ S A, TESTERINK C, MUNNIK T. Plant PA signaling via diacylglycerol kinase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(9): 869-75.
- [11] KADAMUR G, ROSS E M. Mammalian phospholipase C [J]. *Annu Rev Physiol*, 2013, doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183750.
- [12] ANGKAWIJAYA A E, NGUYEN V C, GUNAWAN F, et al. A pair of arabidopsis diacylglycerol kinases essential for gametogenesis and endoplasmic reticulum phospholipid metabolism in leaves and flowers [J]. *Plant Cell*, 2020, 32(8): 2602-20.
- [13] WIMALASEKERA R, PEJCHAR P, HOLK A, et al. Plant phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipases C NPC3 and NPC4 with roles in root development and brassinolide signaling in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Plant*, 2010, 3(3): 610-25.
- [14] KRČKOVÁ Z, BROUZDOVÁ J, DANĚK M, et al. *Arabidopsis* non-specific phospholipase C1: characterization and its involvement in response to heat stress [J]. *Front Plant Sci*, 2015, doi: 10.3389/fpls.2015.00928.
- [15] NGO A H, KANEHARA K, NAKAMURA Y. Non-specific phospholipases C, NPC2 and NPC6, are required for root growth in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2019, 100(4): 825-35.
- [16] NGO A H, LIN Y C, LIU Y C, et al. A pair of nonspecific phospholipases C, NPC2 and NPC6, are involved in gametophyte development and glycerolipid metabolism in *Arabidopsis* [J]. *New Phytol*, 2018, 219(1): 163-75.
- [17] PETERS C, KIM S C, DEVAIAH S, et al. Non-specific phospholipase C5 and diacylglycerol promote lateral root development under mild salt stress in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(9): 2002-13.
- [18] KOCOURKOVA D, KRČKOVA Z, PEJCHAR P, et al. The phosphatidylcholine-hydrolysing phospholipase C NPC4 plays a role in response of *Arabidopsis* roots to salt stress [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(11): 3753-63.
- [19] PETERS C, LI M, NARASIMHAN R, et al. Nonspecific phospholipase C NPC4 promotes responses to abscisic acid and tolerance to hyperosmotic stress in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(8): 2642-59.
- [20] POKOTYLO I, PEJCHAR P, POTOCKÝ M, et al. The plant non-specific phospholipase C gene family. Novel competitors in lipid signalling [J]. *Prog Lipid Res*, 2013, 52(1): 62-79.
- [21] SINGH A, KANWAR P, PANDEY A, et al. Comprehensive genomic analysis and expression profiling of phospholipase C gene family during abiotic stresses and development in rice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62494.
- [22] POKOTYLO I, KOLESNIKOV Y, KRAVETS V, et al. Plant phosphoinositide-dependent phospholipases C: variations around a canonical theme [J]. *Biochimie*, 2014, doi: 10.1016/j.biochi.2013.07.004. Epub 2013 Jul 12.
- [23] BUNNEY T D, KATAN M. PLC regulation: emerging pictures for molecular mechanisms [J]. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36(2): 88-96.
- [24] ZHENG S Z, LIU Y L, LI B, et al. Phosphoinositide-specific phospholipase C9 is involved in the thermotolerance of *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2012, 69(4): 689-700.
- [25] VOSSEN J H, ABD-EL-HALIEM A, FRADIN E F, et al. Identification of tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase-C (PI-PLC) family members and the role of PLC4 and PLC6 in HR and disease resistance [J]. *Plant J*, 2010, 62(2): 224-39.
- [26] HELLING D, POSSART A, COTTIER S, et al. Pollen tube tip growth depends on plasma membrane polarization mediated by tobacco PLC3 activity and endocytic membrane recycling [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(12): 3519-34.
- [27] YUN J K, KIM J E, LEE J H, et al. The Vr-PLC3 gene encodes a putative plasma membrane-localized phosphoinositide-specific phospholipase C whose expression is induced by abiotic stress in mung bean (*Vigna radiata* L.) [J]. *FEBS Lett*, 2004, 556(1-3): 1-5.

- 127-36.
- [28] KOBAYASHI M, GRYCZYNSKI Z, LUKOMSKA J, et al. Spectroscopic characterization of the EF-hand domain of phospholipase C delta1: identification of a lipid interacting domain [J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 440(2): 191-203.
- [29] KANEHARA K, YU C Y, CHO Y, et al. Arabidopsis AtPLC2 is a primary phosphoinositide-specific phospholipase C in phosphoinositide metabolism and the endoplasmic reticulum stress response [J]. PLoS Genet, 2015, 11(9): e1005511.
- [30] RUPWATE S D, RAJASEKHARAN R. Plant phosphoinositide-specific phospholipase C: an insight [J]. Plant Signal Behav, 2012, 7(10): 1281-3.
- [31] HUNT L, OTTERHAG L, LEE J C, et al. Gene-specific expression and calcium activation of *Arabidopsis thaliana* phospholipase C isoforms [J]. New Phytol, 2004, 162(3): 643-54.
- [32] SHI J, GONZALES R A, BHATTACHARYA M K. Characterization of a plasma membrane-associated phosphoinositide-specific phospholipase C from soybean [J]. Plant J, 1995, 8(3): 381-90.
- [33] KOPKA J, PICAL C, GRAY J E, et al. Molecular and enzymatic characterization of three phosphoinositide-specific phospholipase C isoforms from potato [J]. Plant Physiol, 1998, 116(1): 239-50.
- [34] ZHANG Q, VAN WIJK R, ZARZA X, et al. Knock-down of *Arabidopsis* PLC5 reduces primary root growth and secondary root formation while overexpression improves drought tolerance and causes stunted root hair growth [J]. Plant Cell Physiol, 2018, 59(10): 2004-19.
- [35] ANDREEVA Z, BARTON D, ARMOUR W J, et al. Inhibition of phospholipase C disrupts cytoskeletal organization and gravitropic growth in *Arabidopsis* roots [J]. Planta, 2010, 232(5): 1263-79.
- [36] FRIML J, WIŚNIEWSKA J, BENKOVÁ E, et al. Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2002, 415(6873): 806-9.
- [37] HARRISON B R, MASSON P H. ARL2, ARG1 and PIN3 define a gravity signal transduction pathway in root statocytes [J]. Plant J, 2008, 53(2): 380-92.
- [38] UGA Y, SUGIMOTO K, OGAWA S, et al. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions [J]. Nat Genet, 2013, 45(9): 1097-102.
- [39] WANG F, DENG Y, ZHOU Y, et al. Genome-wide analysis and expression profiling of the phospholipase C gene family in soybean (*Glycine max*) [J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138467.
- [40] NOVOTNA Z, VALENTOVA O, MARTINEC J, et al. Study of phospholipases D and C in maturing and germinating seeds of *Brassica napus* [J]. Biochem Soc Trans, 2000, 28(6): 817-8.
- [41] CAO Z, ZHANG J, LI Y, et al. Preparation of polyclonal antibody specific for AtPLC4, an *Arabidopsis* phosphatidylinositol-specific phospholipase C in rabbits [J]. Protein Expr Purif, 2007, 52(2): 306-12.
- [42] TRIPATHY M K, TYAGI W, GOSWAMI M, et al. Characterization and functional validation of tobacco PLC delta for abiotic stress tolerance [J]. Plant Mol Biol Rep, 2011, 30(2): 488-97.
- [43] CHOU W M, SHIGAKI T, DAMMANN C, et al. Inhibition of phosphoinositide-specific phospholipase C results in the induction of pathogenesis-related genes in soybean [J]. Plant Biol (Stuttg), 2004, 6(6): 664-72.
- [44] RUPWATE S D, RAJASEKHARAN R. C2 domain is responsible for targeting rice phosphoinositide specific phospholipase C [J]. Plant Mol Biol, 2012, 78(3): 247-58.
- [45] LI L, WANG F, YAN P, et al. A phosphoinositide-specific phospholipase C pathway elicits stress-induced  $Ca^{2+}$  signals and confers salt tolerance to rice [J]. New Phytol, 2017, 214(3): 1172-87.
- [46] HELSPER J P F G, HEEMSKERK J W M, VEERKAMP J H. Cytosolic and particulate phosphatidylinositol phospholipase C activities in pollen tubes of *Lilium longiflorum* [J]. Plant Physiol, 1987, 71(1): 120-6.
- [47] MUNNIK T, IRVINE R F, MUSGRAVE A. Phospholipid signalling in plants [J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1389(3): 222-72.
- [48] DOWD P E, COURSOL S, SKIRPAN A L, et al. Petunia phospholipase c1 is involved in pollen tube growth [J]. Plant Cell, 2006, 18(6): 1438-53.
- [49] DARWISH E, TESTERINK C, KHALIL M, et al. Phospholipid signaling responses in salt-stressed rice leaves [J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50(5): 986-97.
- [50] MOSBLECH A, KÖNIG S, STENZEL I, et al. Phosphoinositide and inositolpolyphosphate signalling in defense responses of *Arabidopsis thaliana* challenged by mechanical wounding [J]. Mol Plant, 2008, 1(2): 249-61.
- [51] SANCHEZ J P, CHUA N H. Arabidopsis PLC1 is required for secondary responses to abscisic acid signals [J]. Plant Cell, 2001, 13(5): 1143-54.
- [52] TAKAHASHI S, KATAGIRI T, HIRAYAMA T, et al. Hyperosmotic stress induces a rapid and transient increase in inositol 1, 4, 5-trisphosphate independent of abscisic acid in *Arabidopsis* cell culture [J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42(2): 214-22.
- [53] JACOB T, RITCHIE S, ASSMANN S M, et al. Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(21): 12192-7.
- [54] ZHANG Q, VAN WIJK R, SHAHBAZ M, et al. Arabidopsis Phospholipase C3 is involved in lateral root initiation and ABA responses in seed germination and stomatal closure [J]. Plant Cell Physiol, 2018, 59(3): 469-86.
- [55] VAN WIJK R, ZHANG Q, ZARZA X, et al. Role for *Arabidopsis* PLC7 in stomatal movement, seed mucilage attachment, and leaf serration [J]. Front Plant Sci, 2018, doi: 10.3389/fpls.2018.01721. eCollection 2018.
- [56] DENG X, YUAN S, CAO H, et al. Phosphatidylinositol-hydrolyzing phospholipase C4 modulates rice response to salt and drought [J]. Plant Cell Environ, 2019, 42(2): 536-48.
- [57] LI L, WANG F, YAN P, et al. A phosphoinositide-specific phospholipase C pathway elicits stress-induced  $Ca^{2+}$  signals and confers salt tolerance to rice [J]. New Phytol, 2017, 214(3): 1172-87.
- [58] KOTAK S, LARKINDALE J, LEE U, et al. Complexity of the heat stress response in plants [J]. Curr Opin Plant Biol, 2007, 10(3): 310-6.
- [59] PYATRIKAS D V, RIKHVANOV E G, FEDOSEEVA I V, et al. Mitochondrial retrograde regulation of HSP101 expression in *Arabidopsis thaliana* under heat stress and amiodarone action [J]. Russ J Plant Physiol, 2013, 61(1): 80-9.
- [60] VERGNOLLE C, VAULTIER M N, TACONNAT L, et al. The cold-induced early activation of phospholipase C and D pathways

- determines the response of two distinct clusters of genes in *Arabidopsis* cell suspensions [J]. *Plant Physiol*, 2005, 139(3): 1217-33.
- [61] BARTOLO M E, CARTER J V. Lithium decreases cold-induced microtubule depolymerization in mesophyll cells of spinach [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99(4): 1716-8.
- [62] SINGH A, BHATNAGAR N, PANDEY A, et al. Plant phospholipase C family: regulation and functional role in lipid signaling [J]. *Cell Calcium*, 2015, 58(2): 139-46.
- [63] YAKIMOVA E T, KAPCHINA-TOTEVA V M, WOLTERING E J. Signal transduction events in aluminum-induced cell death in tomato suspension cells [J]. *J Plant Physiol*, 2007, 164(6): 702-8.
- [64] PEJCHAR P, MARTINEC J. Aluminum ions alter the function of non-specific phospholipase C through the changes in plasma membrane physical properties [J]. *Plant Signal Behav*, 2015, 10(6): e1031938.
- [65] SPOEL S H, DONG X. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(2): 89-100.
- [66] ABD-EL-HALIEH A M, JOOSTEN M H A J. Plant phosphatidylinositol-specific phospholipase C at the center of plant innate immunity [J]. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59(3): 164-79.
- [67] HORVÁTH E, SZALAI G, JANDA T. Induction of abiotic stress tolerance by *Salicylic Acid* signaling [J]. *J Plant Growth Regul*, 2007, 26(3): 290-300.
- [68] SAIJO Y, LOO E P. Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses [J]. *New Phytol*, 2020, 225(1): 87-104.
- [69] RUELLAND E, POKOTYLO I, DJAFI N, et al. Salicylic acid modulates levels of phosphoinositide dependent-phospholipase C substrates and products to remodel the *Arabidopsis* suspension cell transcriptome [J]. *Front Plant Sci*, 2014, doi: 10.3389/fpls.2014.00608.
- [70] KALACHOVA T, KRAVETS V, ZACHOWSKI A, et al. Importance of phosphoinositide-dependent signaling pathways in the control of gene expression in resting cells and in response to phytohormones [J]. *Plant Signal Behav*, 2015, 10(5): e1019983.
- [71] ALTÚZAR-MOLINA A R, MUÑOZ-SÁNCHEZ J A, VÁZQUEZ-FLOTA F, et al. Phospholipidic signaling and vanillin production in response to salicylic acid and methyl jasmonate in *Capsicum chinense* J. cells [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2011, 49(2): 151-8.
- [72] ANTOLIN-LLOVERA M, PETUTSCHING E K, RIED M K, et al. Knowing your friends and foes-plant receptor-like kinases as initiators of symbiosis or defence [J]. *New Phytol*, 2014, 204(4): 791-802.
- [73] KADOTA Y, SKLENAR J, DERBYSHIRE P, et al. Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(1): 43-55.
- [74] D'AMBROSIO J M, COUTO D, FABRO G, et al. Phospholipase C2 affects MAMP-triggered immunity by modulating ROS production [J]. *Plant Physiol*, 2017, 175(2): 970-81.
- [75] ABD-EL-HALIEH A M, VOSSEN J H, VAN ZEIJL A, et al. Biochemical characterization of the tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase C(PI-PLC)family and its role in plant immunity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861(9 Pt B): 1365-78.
- [76] YAMAGUCHI T, MINAMI E, UEKI J, et al. Elicitor-induced activation of phospholipases plays an important role for the induction of defense responses in suspension-cultured rice cells [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(4): 579-87.
- [77] SAKATA T, OSHINO T, MIURA S, et al. Auxins reverse plant male sterility caused by high temperatures [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(19): 8569-74.
- [78] CHANG F, WANG Y, WANG S, et al. Molecular control of microsporogenesis in *Arabidopsis* [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14(1): 66-73.
- [79] DRESSELHAUS T, FRANKLIN-TONG N. Male-female cross-talk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization [J]. *Mol Plant*, 2013, 6(4): 1018-36.
- [80] LI L, HE Y, WANG Y, et al. *Arabidopsis* PLC2 is involved in auxin-modulated reproductive development [J]. *Plant J*, 2015, 84(3): 504-15.
- [81] CHEN X, LI L, XU B, et al. Phosphatidylinositol-specific phospholipase C2 functions in auxin-modulated root development [J]. *Plant Cell Environ*, 2019, 42(5): 1441-57.
- [82] SAINI S, SHARMA I, KAUR N, et al. Auxin: a master regulator in plant root development [J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(6): 741-57.
- [83] REPP A, MIKAMI K, MITTMANN F, et al. Phosphoinositide-specific phospholipase C is involved in cytokinin and gravity responses in the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Plant J*, 2004, 40(2): 250-9.
- [84] GEORGES F, DAS S, RAY H, et al. Over-expression of Brassica napus phosphatidylinositol-phospholipase C2 in canola induces significant changes in gene expression and phytohormone distribution patterns, enhances drought tolerance and promotes early flowering and maturation [J]. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(12): 1664-81.
- [85] ANGKAWIJAYA A E, NGUYEN V C, GUNAWAN F, et al. A pair of arabidopsis diacylglycerol kinases essential for gametogenesis and er phospholipid metabolism in leaves and flowers [J]. *Plant Cell*, 2020, 32(8): 2602-20.
- [86] COLE R A, FOWLER J E. Polarized growth: maintaining focus on the tip [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9(6): 579-88.
- [87] HRUZ T, LAULE O, SZABO G, et al. Genevestigator v3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes [J]. *Adv Bioinformatics*, 2008, doi: 10.1155/2008/420747.
- [88] TOLSTYKH G P, THOMPSON G L, BEIER H T, et al. nsPEF-induced PIP2 depletion, PLC activity and actin cytoskeletal cortex remodeling are responsible for post-exposure cellular swelling and blebbing [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2016, doi: 10.1016/j.bbrep.2016.11.005.
- [89] FISCHER U, MEN S, GREBE M. Lipid function in plant cell polarity [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(6): 670-6.
- [90] DHARMASIRI S, SWARUP R, MOCKAITIS K, et al. AXR4 is required for localization of the auxin influx facilitator AUX1 [J]. *Science*, 2006, 312(5777): 1218-20.
- [91] JAILLAIS Y, FOBIS-LOISY I, MIEGE C, et al. AtSNX1 defines an endosome for auxin-carrier trafficking in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2006, 443(7107): 106-9.
- [92] YANG Z. Cell polarity signaling in *Arabidopsis* [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2008, doi: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123233.



- [93] ZHENG Z L, YANG Z. The Rop GTPase switch turns on polar growth in pollen [J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(7): 298-303.
- [94] YORK J D. Regulation of nuclear processes by inositol polyphosphates [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1761(5/6): 552-9.
- [95] LAXALT A M, MUNNIK T. Phospholipid signaling in plant defense [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(4): 332-8.
- [96] KOOIJMAN E E, TIELEMAN D P, TESTERINK C, et al. An electrostatic/hydrogen bond switch as the basis for the specific interaction of phosphatidic acid with proteins [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(15): 11356-64.
- [97] SHEN L, TIAN Q, YANG L, et al. Phosphatidic acid directly binds with rice potassium channel OsAKT2 to inhibit its activity [J]. *Plant J*, 2020, 102(4): 649-65.
- [98] WELTI R, LI W, LI M, et al. Profiling membrane lipids in plant stress responses. Role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in Arabidopsis [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(35): 31994-2002.
- [99] YANG Y, LIU J, YIN C, et al. RNA interference-based screen reveals concerted functions of MEKK2 and CRCK3 in plant cell death regulation [J]. *Plant Physiol*, 2020, 183(1): 331-44.