

微丝骨架和活性氧在调节气孔运动中的作用及机制

胡子英^{1,2} 任静静¹ 余 琴¹ 孔兰静¹ 王秀玲^{1*}

(¹山东农业大学生命科学学院作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018; ²复旦大学基础医学院, 上海 200032)

摘要 气孔运动调节植物的光合作用和蒸腾作用, 对植物的生长发育和干旱等非生物胁迫的响应都起到重要的作用。保卫细胞能够通过感知胞内和胞外多种信号调节气孔开度, 因此, 保卫细胞已经成为植物细胞信号转导研究中广泛应用的细胞模型。该文对保卫细胞中微丝骨架和活性氧对气孔运动的调节作用、微丝骨架在调节细胞壁与质膜间联系中的作用进行了综述, 最后分析了微丝骨架通过ROS(reactive oxygen species)调节保卫细胞壁-质膜联系参与气孔运动调控的可能机制。

关键词 微丝骨架; 活性氧; 细胞壁-质膜联系; 气孔运动

The Role Mechanism of Actin Filament and ROS in Regulating Stomatal Movement

Hu Ziyang^{1,2}, Ren Jingjing¹, Yu Qin¹, Kong Lanjing¹, Wang Xiuling^{1*}

(¹State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

²Basic Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract Stomatal movement regulates photosynthesis and transpiration in plant, which plays a crucial role in plant growth, development and tolerance to abiotic stress. Guard cell perceives the intracellular and extracellular signals to regulate the stomata aperture. Therefore, guard cell has become a widely used model in signal transduction research in plant. Here, we review the functions of actin cytoskeleton and reactive oxygen species (ROS) in regulating stomatal movement and the interaction between cell wall and membrane regulated by actin dynamics. Finally, we propose the possible mechanism of microfilament regulating stomatal movement via ROS involved in the interaction between cell wall and membrane of guard cell.

Keywords actin filaments; ROS; interaction between cell wall and membrane; stomatal movement

气孔控制着植物自身与外界环境气体和水分的交换, 在植物生命活动以及响应外界环境中发挥重要作用, 气孔开度的调节通过保卫细胞的运动来实现。随着人们对气孔运动机制研究的不断深入, 目前已知参与气孔运动(开放或关闭)的成分包括胞质中游离的Ca²⁺、微管、微丝骨架、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、NO和蛋白激酶/磷酸酶等, 这些因子以不同的方式、通过不同的信号途径调控保卫细胞质膜和液泡膜上的K⁺、阴离子及蔗糖的运

输, 最终通过保卫细胞的膨压变化调控气孔开闭, 使气孔能灵活地响应各种环境。各因子之间存在密切联系, 因而气孔运动的调节非常复杂, 深入认识和了解气孔运动的调控机制对理解植物适应环境的机理具有重要意义。

微丝骨架和ROS是调节气孔运动的重要因子^[1-2]。气孔运动过程中, 保卫细胞的形状、表面积和体积发生可逆的变化, 必然会引起保卫细胞细胞壁-质膜之间联系的变化。保卫细胞壁-质膜之间的联系

收稿日期: 2016-12-18 接受日期: 2017-01-11

山东省自然科学基金(批准号: ZR2013CM007)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0538-8247826, E-mail: xlwang@sdau.edu.cn

Received: December 18, 2016 Accepted: January 11, 2017

This work was supported by the Shandong Province Natural Science Foundation (Grant No.ZR2013CM007)

*Corresponding author. Tel: +86-538-8247826, E-mail: xlwang@sdau.edu.cn

网络出版时间: 2017-03-20 10:28:32 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170320.1028.004.html>

受到微丝骨架的调节, 植物细胞的细胞壁-质膜-微丝骨架形成一个相互联系、相互作用的整体^[3]。细胞壁中存在由质膜NADPH氧化酶催化形成的ROS, 保卫细胞的ROS在气孔运动的调控中起重要作用, 微丝动态的改变会导致细胞中NADPH氧化酶活性变化^[4], 因此, ROS和微丝骨架间有可能存在某种机制共同参与气孔运动的调节。本文对微丝骨架和ROS在气孔运动调节中的作用进行了综述和分析。

1 保卫细胞微丝骨架动态参与调节气孔运动

气孔运动过程中, 保卫细胞的微丝骨架是一种动态结构。保卫细胞的微丝骨架能响应胞内、胞外的信号刺激产生动态的重排, 呈现不同的聚合和解聚状态^[5]。气孔在运动过程中, 微丝发生解聚; 气孔在开放、关闭或开度不变的稳定状态下, 微丝重新聚合成丝状排列。微丝的解聚有利于气孔的运动, 微丝的聚合则起抑制作用^[6]。我们发现, 烟草保卫细胞的微丝骨架动态类似于其他组织细胞, 也呈现一种随机的动态(stochastic dynamics)^[7]。细胞学的研究发现, 微丝骨架可能通过调节质膜上的Ca²⁺和K⁺离子通道、液泡膜上K⁺离子通道来参与调控气孔运动^[8]。此外, 微丝骨架可能作为细胞结构变化的协调因子参与气孔运动的调节。例如, 保卫细胞微丝的动态变化能通过调节液泡的动态参与气孔运动的调控^[6,9]; 气孔运动过程中保卫细胞的叶绿体的运动也受到微丝骨架动态的调节^[7]。这些研究表明, 保卫细胞微丝骨架的动态变化参与气孔运动过程中多种因素的调节过程, 但是对其作用机制的研究较少。

植物细胞微丝骨架的动态变化受到多个微丝结合蛋白的调节, 包括肌动蛋白解聚因子(actin-depolymerization factor, ADF)、前纤维蛋白(profilin)、凝溶胶蛋白(gelsolin)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体(actin-related protein 2/3 complex, Arp2/3复合体)等。最近人们又发现, 在保卫细胞中起作用的肌动蛋白结合蛋白SCAB1(stomatal closure-related actin binding protein 1)和通过磷酸化微丝解聚因子调控微丝稳定性的酪蛋白激酶2(casein kinase 1-like protein 2, CKL2)参与气孔运动的调节^[5,10]。研究发现, Arp2/3复合体在体内和体外都可以促使肌动蛋白成核, 形成微丝侧枝, 进而连成微丝网络。拟南芥

Arp2/3复合体由7个亚基组成, 包括2种肌动蛋白相关亚基Arp2、Arp3以及5种辅助亚基ArpC1、ArpC2、ArpC3、ArpC4、ArpC5; 其中, ArpC4是最重要的亚基, 参与复合体的组装并维持其稳定性, 而ArpC2亚基参与Arp2/3复合体在膜上的定位^[11]。在植物中, 目前唯一被证实的Arp2/3复合体的激活因子是WAVE/SCAR(Wiskott-Aldrich syndrome protein family verprolin-homology protein/suppressor of cAMP receptor)复合体^[12]。在小立碗藓中, SCAR复合体的调节亚基BRK1以及Arp2/3复合体的亚基ArpC4都定位在在细胞的顶端, 这些突变会使原丝体的顶端生长受到抑制^[13]。拟南芥Arp2/3复合体以及WAVE/SCAR复合体的突变会导致多种生长异常, 例如表皮毛的伸长生长、表皮细胞的形状、细胞和细胞之间的连接、根和下胚轴的伸长、根毛的生长等都受到影响^[14-15]。另有报道, 光能抑制泛素化途径介导的拟南芥SCAR1的降解, 调节Arp2/3复合体的活性, 促进根在光下的伸长生长; 在暗处SCAR1被降解, 使根的伸长生长受到影响^[15]。研究发现, 拟南芥Arp2/3复合体的突变体气孔开放速度明显低于野生型^[16], 表明Arp2/3复合体参与的微丝骨架重排调节气孔运动。光照下气孔开放过程中, 保卫细胞两端的伸长可能与植物细胞顶端生长存在类似的调节机制, 即光促进Arp2/3复合体的稳定, 调节微丝的动态, 从而促进气孔开放, 然而, 这一推论还有待于验证。

2 活性氧调节气孔运动

ROS是一类具有活泼化学活性的含氧衍生物或代谢产物, 如超氧阴离子、单线态氧、H₂O₂和羟基自由基等。在植物有氧代谢过程中不可避免的产生ROS, ROS可以直接攻击核酸、蛋白质和脂质类等生物大分子, 造成细胞的氧化损伤。在植物正常或受胁迫的细胞中, ROS都能在叶绿体、线粒体、质膜、过氧化物酶体、内质网以及质外体等部位产生。NADPH氧化酶抑制剂二亚苯基碘(diphenyleneiodonium, DPI)能明显抑制ROS的产生, 说明胁迫诱导的ROS主要是来自于NADPH氧化酶的作用^[17]。近年来研究发现, ROS可以作为一类信号分子参与植物的生长发育、细胞凋亡、激素信号传递和响应逆境胁迫等多种生命活动。作为信号分子的ROS广泛参与了多种刺激因素诱导的气孔运动。

NADPH氧化酶由多个 *Rboh*(respiratory burst oxidase homolog)基因编码的亚基组成。胁迫条件下催化植物细胞产生ROS的NADPH氧化酶定位于质膜上^[18]。ROS作为ABA信号途径中保卫细胞产生的第二信使物质,主要由NADPH氧化酶RbohD和RbohF催化产生^[19]。进一步的研究发现,拟南芥NADPH氧化酶的双突变体(*atrbohD/F*)中ABA诱导的气孔运动受到抑制,ROS信号引起下游多个胞内信号的级联反应参与气孔运动的调控^[20]。同时,NADPH氧化酶也是细胞壁中ROS的主要来源^[21],推测NADPH氧化酶也可能参与保卫细胞壁ROS的产生。最近研究发现,细胞壁中的ROS能通过非特异的切开细胞壁多糖之间的联系,调节胚根鞘和胚芽鞘细胞壁松弛^[22]。保卫细胞壁的ROS是否有助于细胞壁的松弛从而有利于气孔运动过程中保卫细胞的形变还需通过实验研究。

膨压使质膜紧紧接触细胞壁,同时也可能调节膜蛋白的定位及活性,包括离子通道、水通道、受体、NADPH氧化酶、纤维素合酶复合体等^[23]。例如,保卫细胞质膜的K⁺离子通道KAT1(K⁺ transporter of *Arabidopsis thaliana* 1)呈现与纤维素微纤丝相似的放射状排列。当细胞膨压降低时,这种放射状排列模式消失;膨压恢复时,这种模式能重现^[24]。保卫细胞质膜上存在拉伸激活(stretch-activated)Ca²⁺通道,这种通道的活性会随着质膜表面受力的改变而变化。NADPH氧化酶活性受到多种信号的调节,也包括来自细胞壁的信号。例如,在植物抗病反应过程中,细胞壁的破坏能诱导NADPH氧化酶活性,使细胞ROS水平上升^[25],这种信号可能来源于细胞壁与质膜的相互作用。

3 保卫细胞壁-质膜之间的联系可能受到微丝骨架的调节

细胞壁不仅决定了细胞的形状,并且感受细胞外的刺激并传导相应的信号到细胞的内部,在细胞生长和植物发育过程中起重要作用。膨压使质膜和细胞壁紧紧连在一起,使两者之间建立起密切的联系^[23]。质壁分离时赫氏丝(Hechtian strands)的形成就是质膜与细胞壁之间联系的直接证据^[26]。现在已经鉴定了多种质膜蛋白,如压力敏感的钙离子通道、受体激酶、富含亮氨酸的伸展蛋白、阿拉伯糖蛋白、GPI(glycosyl phosphatidy linositol)锚定蛋白等,

这些蛋白通过与细胞壁的相互作用,参与植物的生长发育、植物对生物和非生物逆境的适应等过程^[27]。研究发现,微丝骨架直接连接在质膜上^[3],进而植物细胞的细胞壁-质膜-微丝骨架形成一个相互联系、相互作用的整体,其中拟南芥成蛋白1(formin 1)已经被证明能够穿过质膜联系细胞壁与胞内微丝骨架^[28]。在动物细胞中研究发现,微丝骨架不仅提供一种胞外基质(extracellular matrix, ECM)与膜的物理上的联系,同时微丝骨架也能感受来自细胞外力的变化^[29]。植物细胞这种细胞壁-质膜-微丝骨架相互作用可能有利于将来自于细胞壁的机械信号转导到细胞内部,也有利于细胞内部的信号传导到细胞壁,使细胞壁的形变适应细胞的生长和植物的发育过程^[23,30]。

动物细胞ECM中已经鉴定出多个参与胞外基质-质膜-细胞骨架联系的蛋白质,例如整联蛋白(integrin)。它的胞外域能识别并结合各种含有Arg-Gly-Asp(RGD)短肽序列的胞外基质分子,而其胞内结构域通过与踝蛋白(talin)、前纤维蛋白、Arp等蛋白互作连接细胞骨架和信号分子,从而构成了胞外基质-质膜-细胞骨架连续体,参与细胞的双向通讯,在细胞的运动、增殖、分化和凋亡等方面起着重要的作用^[30]。最近的研究表明,植物参与抗病反应的NDR(non-race-specific disease resistance)蛋白可能类似于动物的整联蛋白^[31]。微丝骨架参与调节植物细胞壁与质膜之间的联系大多是利用质壁分离的过程来研究。一般认为,质壁分离形成的原生质体表面有凹陷(concave plasmolysis)时,表明细胞壁与质膜的联系较强,而原生质体表面突起呈球状(convex plasmolysis)时,说明细胞壁与质膜的联系较弱^[32]。

气孔运动过程中,保卫细胞的形状、体积和细胞表面积处在不断的变化中^[33]。膨压使保卫细胞质膜和细胞壁紧紧连在一起,因此存在一种可能:保卫细胞的细胞壁与质膜之间的相互作用随着保卫细胞的运动状态的不同而发生改变。这一过程是否与微丝骨架的动态变化有关系,微丝骨架的动态变化是否参与了对细胞壁与质膜的调节进而调控气孔运动,这些都值得研究。

4 保卫细胞的微丝骨架、活性氧和细胞壁-质膜的联系

近年来的一些实验结果表明,微丝骨架动态与

ROS产生密切相关^[1]。在动物中, NADPH氧化酶是一个多亚基复合体, 包括gp91^{phox}、p22^{phox}、Rap1A、p47^{phox}、p67^{phox}、p40^{phox}等。研究表明, p40^{phox}和p47^{phox}与微丝或微丝结合蛋白之间存在直接的相互作用^[34]。微丝动态的改变会导致细胞中NADPH氧化酶活性变化^[4]。拟南芥Atrboh蛋白是哺乳动物中gp91^{phox}同源蛋白^[35]。目前, 还没有证据表明, 微丝骨架与gp91^{phox}存在直接的相互作用。

生化实验结果表明, NaCl处理能够明显增强小麦根部质膜NADPH氧化酶的活性^[36]。Liu等^[1]发现, NaCl处理野生型拟南芥, 根尖伸长区细胞内微丝动态改变并伴随ROS含量升高, 分别用微丝聚合抑制剂(Lat-B)和微丝稳定剂(jasplakinolide, Jasp)抑制微丝聚合和解聚, 均发现ROS水平升高。但相同的处理后, 在拟南芥atrbohC突变体内ROS水平没有明显改变, 说明盐胁迫条件下微丝动态可能参与AtrbohC的活性调节, 进而影响细胞内的ROS水平。最近, Li等^[2]发现, *ArpC4*和*ArpC5*突变体中气孔的关闭速率变慢, *ArpC4*和*ArpC5*突变体中ROS的积累速度比野生型植株延迟, 表明微丝的动态调节可能影响ROS的产生。

微丝动态可能调控Atrboh活性进而调控ROS的产生。在植物Rboh蛋白结构中N-端包含2个EF模体, 可能通过与Ca²⁺的结合调节自身的活性^[37-38]。研究发现, Ca²⁺调节的ROS产生参与了根毛发育、机械刺激应答和ABA信号转导等过程^[38-39]。在许多植物细胞中, 已经发现微丝动态调节钙通道以及胞内钙动荡^[8]。推测Ca²⁺信号可能介导盐胁迫条件下微丝动态对AtrbohC活性及ROS产生的调控, 但具体调控机制还有待进一步的研究。

植物细胞中NADPH氧化酶的定位受到微丝骨架的调节。例如, 在拟南芥根毛中微丝通过调节NADPH氧化酶AtrbohC定位到根毛产生部位的质膜上, 来调节根毛的产生位置^[38]。一般认为, 气孔开放过程中, 保卫细胞的形状经历2个连续的变化阶段, 最初保卫细胞向各方向膨胀, 直到压力大于周围的细胞, 这一过程对气孔开度的影响很小; 随后, 保卫细胞的两端明显伸长, 使气孔张开^[33,40]。但是, 保卫细胞的两端伸长过程是可逆的, 当气孔关闭时, 保卫细胞的长度要明显减小。保卫细胞的这种可逆的长度变化过程必然不同于植物细胞不可逆的伸长生长过程, 主要表现为两端的伸长和收缩, 表明保卫细胞

壁的不同部位其松弛程度可能不同^[33]。气孔运动中, 微丝骨架有可能通过调节NADPH氧化酶在保卫细胞质膜不同部位的分布, 控制ROS在细胞壁上的产生部位, 从而精确调控不同位置细胞壁的松弛而参与气孔运动。

5 展望

随着气孔的开放和关闭, 保卫细胞的形状和体积发生可逆的变化, 因此, 保卫细胞可以作为研究细胞调控质膜与细胞壁间联系的模式材料。微丝骨架和ROS这2个重要的气孔运动调节因子如何通过调节质膜与细胞壁之间的联系参与气孔运动的调控还有待于进一步的实验研究, 其结果将有助于深入理解气孔运动调节的细胞和分子机制。

参考文献 (References)

- 1 Liu SG, Zhu DZ, Chen GH, Gao XQ, Zhang XS. Disrupted actin dynamics trigger an increment in the reactive oxygen species levels in the *Arabidopsis* root under salt stress. *Plant Cell Rep* 2012; 31(7): 1219-26.
- 2 Li X, Li JH, Wang W, Chen NZ, Ma TS, Xi YN, *et al.* ARP2/3 complex-mediated actin dynamics is required for hydrogen peroxide-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* 2014; 37(7): 1548-56.
- 3 Sechi AS, Wehland J. The actin cytoskeleton and plasma membrane connection: PtdIns (4,5) P2 influences cytoskeletal protein activity at the plasma membrane. *J Cell Sci* 2000; 113(11): 3685-95.
- 4 Rasmussen I, Pedersen LH, Byg L, Suzuki K, Sumimoto H, Vilhardt F. Effects of F/G-actin ratio and actin turn-over rate on NADPH oxidase activity in microglia. *BMC Immunol* 2010; doi: 10.1186/1471-2172-11-44.
- 5 Zhao S, Jiang Y, Zhao Y, Huang S, Yuan M, Zhao Y, *et al.* CASEIN KINASE1-LIKE PROTEIN2 regulates actin filament stability and stomatal closure via phosphorylation of actin depolymerizing factor. *Plant Cell* 2016; 28(6): 1422-39.
- 6 Gao XQ, Wang XL, Ren F, Chen J, Wang XC. Dynamics of vacuoles and actin filaments in guard cells and their roles in stomatal movement. *Plant Cell Environ* 2009; 32(8): 1108-16.
- 7 Wang XL, Gao XQ, Wang XC. Stochastic dynamics of actin filaments in guard cells regulating chloroplast localization during stomatal movement. *Plant Cell Environ* 2011; 34(8): 1248-57.
- 8 Zhang W, Fan LM. Actin dynamics regulates voltage-dependent calcium-permeable channels of the *Vicia faba* guard cell plasma membrane. *J Integr Plant Biol* 2009; 51(10): 912-21.
- 9 Huang AX, She XP. Actin microfilaments and vacuoles are downstream targets of H₂O₂ signalling pathways in hyperosmotic stress-induced stomatal closure. *Funct Plant Biol* 2011; 38(4): 303-13.
- 10 Zhao Y, Hao S, Mao T, Qu X, Cao W, Zhang L, *et al.* The plant-specific actin binding protein SCAB1 stabilizes actin filaments and regulates stomatal movement in *Arabidopsis*. *Plant Cell*

- 2011; 23(6): 2314-430.
- 11 Kotchoni SO, Zakharova T, Mallery EL, Le J, El-Assal Sel-D, Szymanski DB. The association of the *Arabidopsis* actin-related protein2/3 complex with cell membranes is linked to its assembly status but not its activation. *Plant Physiol* 2009; 151(4): 2095-109.
- 12 Zhang C, Mallery EL, Schlueter J, Huang S, Fan Y, Brankle S, *et al.* *Arabidopsis* SCARs function interchangeably to meet actin-related protein 2/3 activation thresholds during morphogenesis. *Plant Cell* 2008; 20(4): 995-1011.
- 13 Perroud PF, Quatrano RS. BRICK1 is required for apical cell growth in filaments of the moss *Physcomitrella patens* but not for gametophore morphology. *Plant Cell* 2008; 20(20): 411-22.
- 14 Dyachok J, Shao MR, Vaughn K, Bowling A, Facette M, Djakovic S, *et al.* Plasma membrane-associated SCAR complex subunits promote cortical F-actin accumulation and normal growth characteristics in *Arabidopsis* roots. *Mol Plant* 2008; 1(6): 990-1006.
- 15 Dyachok J, Zhub L, Liaoa F, Hea J, Huqb E, Blancaflora EB. SCAR mediates light-induced root elongation in *Arabidopsis* through photoreceptors and proteasomes. *Plant Cell* 2011; 23(10): 3610-26.
- 16 Li LJ, Ren F, Gao XQ, W PC, Wang XC. The reorganization of actin filaments is required for vacuolar fusion of guard cells during stomatal opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* 2012; 36(2): 484-97.
- 17 Leshem Y, Serie L, Levine A. Induction of phosphatidylinositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance. *Plant J* 2007; 51(2): 185-97.
- 18 Sagi M, and Fluhr R. Superoxide production by plant homologues of the gp91(phox) NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiol* 2001; 126(3): 1281-90.
- 19 Kwak JM, Mori IC, Pei ZM, Leonhardt N, Torres MA, Dangl JL, *et al.* NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis*. *EMBO J* 2003; 22(11): 2623-33.
- 20 Wang P, Song CP. Guard cell signalling for hydrogen peroxide and abscisic acid. *New Phytol* 2008; 178(4): 703-18.
- 21 Barceló AR, Laura VGR. Reactive oxygen species in plant cell walls. In: *Reactive oxygen species in plant signaling*, Berlin: Springer-Verlag 2009; 73-93.
- 22 Müller K, Linkies A, Vreeburg RA, Fry SC, Krieger-Liszkay A, Leubner-Metzger G. *In vivo* cell wall loosening by hydroxyl radicals during cress seed germination and elongation growth. *Plant Physiol* 2009; 150(4): 1855-65.
- 23 Szymanski DB, Cosgrove DJ. Dynamic coordination of cytoskeletal and cell wall systems during plant cell morphogenesis. *Cur Biol* 2009; 19(7): 800-11.
- 24 Homann U1, Meckel T, Hewing J, Hütt MT, Hurst AC. Distinct fluorescent pattern of KAT1::GFP in the plasma membrane of *Vicia faba* guard cells. *Eur J Cell Biol* 2007; 86(8): 489-500.
- 25 Denness L, McKenna JF, Segonzac C, Wormit A, Madhou P, Bennett M, *et al.* Cell wall damage-induced lignin biosynthesis is regulated by a reactive oxygen species and jasmonic acid-dependent process in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2011; 156(3): 1364-74.
- 26 Lang I, Barton DA, Overall RL. Membrane-wall attachments in plasmolysed plant cells. *Protoplasma* 2004; 224(3): 231-43.
- 27 Humphrey TV, Bonetta DT, Goring DR. Sentinels at the wall: Cell wall receptors and sensors. *New Phytol* 2007; 176(1): 7-21.
- 28 Martinière A, Gayral P, Hawes C, Runions J. formin1 of *Arabidopsis* forms a connection between the cell wall and the actin cytoskeleton. *Plant J.* 2011; 66(2): 354-65.
- 29 Wozniak MA, Chen CS. Mechanotransduction in development: A growing role for contractility. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(1): 34-3.
- 30 Baluska F, Samaj J, Wojtaszek P, Volkmann D, Menzel D. Cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in plants, emerging links revisited. *Plant Physiol* 2003; 133(2): 482-91.
- 31 Knepper C, Savory EA, Day B. *Arabidopsis* NDR1 is an integrin-like protein with a role in fluid loss and plasma membrane-cell wall adhesion. *Plant Physiol* 2011; 156(1): 286-300.
- 32 Telewski FW. A unified hypothesis of mechanoperception in plants. *Am J Bot* 2006; 93(10): 1466-76.
- 33 Meckel T, Gall L, Semrau S, Homann U, Thiel G. Guard cells elongate: Relationship of volume and surface area during stomatal movement. *Biophys J* 2007; 92(3): 1072-80.
- 34 Usatyuk PV, Romer LH, He D, Parinandi NL, Kleinberg ME, Zhan S, *et al.* Regulation of hyperoxia-induced NADPH oxidase activation in human lung endothelial cells by the actin cytoskeleton and cortactin. *J Biol Chem* 2007; 282(32): 23284-95.
- 35 Torres MA, Onouchi H, Hamada S, Machida C, Hammond-Kosack KE, Jones JD. Six *Arabidopsis thaliana* homologues of the human respiratory burst oxidase (gp91phox). *Plant J* 1998; 14(3): 365-70.
- 36 杨颖丽, 安黎哲, 张立新. NaCl对小麦根质膜NADPH氧化酶活性的影响. *西北植物学报*(Yang Yingli, An Lizhe, Zhang Lixin. NaCl effect on plasmalemma NADPH oxidase activity of wheat roots. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*) 2006; 26(12): 2463-67.
- 37 Ogasawara Y, Kaya H, Hiraoka G, Yumoto F, Kimura S, Kadota Y, *et al.* Synergistic activation of the *Arabidopsis* NADPH oxidase AtrbohD by Ca²⁺ and phosphorylation. *J Biol Chem* 2008; 283(14): 8885-92.
- 38 Takeda S, Gapper C, Kaya H, Bell E, Kuchitsu K, Dolan L. Local positive feedback regulation determines cell shape in root hair cells. *Science* 2008; 319(5867): 1241-4.
- 39 Monshausen GB, Bibikovic TN, Weisenseelb MH, Gilroya S. Ca²⁺ regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* 2009; 21(8): 2341-56.
- 40 Sharpe PJ, Wu H, Spence RD. *Stomatal mechanics*. California: Stanford University Press, 1987, 91-114.