# 一氧化氮参与茉莉酸诱导蚕豆气孔关闭的信号转导

刘 新[①②*] 石武良[①*] 张蜀秋[①†] 娄成后[①]

(①中国农业大学生物学院植物生理学与生物化学国家重点开放实验室, 北京 100094. ②莱阳农学院生命科学院, 青岛 266109.
* 同等贡献. † 联系人, E-mail: sqzhang@cau.edu.cn)

摘要 用一氧化氮(NO)特异性荧光探针 DAF-2DA 结合激光共聚焦显微技术证明蚕豆气孔保卫细胞中存在 NO. 从以下几个方面证明 NO 可能参与 JA 调控气孔运动的信号转导过程: (ⅰ) 外源 JA 促进叶片气孔保卫细胞 NO 的合成; (ⅱ) JA 和 NO 都能够诱导气孔关闭, 并具有浓度效应; (ⅲ) 低浓度的 NO 和 JA 之间在诱导气孔关闭上存在一定的加合效应; (ⅳ) NO 的清除剂 PTIO 可大大减弱 JA 诱导蚕豆气孔关闭的作用, 一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME 能够抑制 JA 诱导的蚕豆气孔关闭效应, 也可以抑制 JA 诱导保卫细胞中 NO 的产生. 推测 JA 处理诱导保卫细胞中 NO 的产生主要来源于 NOS 合成途径.

关键词 茉莉酸 一氧化氮 气孔运动 蚕豆 信号转导

一氧化氮(nitric oxide, NO)是普遍存在于真核生物的一种新的胞内和胞间信使分子, 参与各种生物和非生物胁迫反应的信息传递[1]. 虽然已证明, NO在植物生长、发育、编程性细胞死亡(programmed cell death, PCD)、抗病和对环境胁迫等各种不同形式的响应中起着重要作用[2~4], 但是NO在这些信号级联系统中的位置所知甚少, 成为植物细胞和分子生物学研究的热点[5].

植物体可以通过气孔的开闭运动对外界和内部刺激做出快速反应. 气孔保卫细胞是植物体内NO的一个作用靶位, NO能促进干旱条件下气孔关闭, 提高植物的抗旱能力[3]. Neill等人[6]证明, 脱落酸(ABA)诱导拟南芥和豌豆气孔关闭的过程有NO的参与, 认为NO可能是ABA调控气孔运动信号转导的组分. 茉莉酸 (jasmonic acid, JA)和ABA具有多种类似的生理功能, 并且外源JA可诱导兰花等植物气孔关闭, 阻止气孔张开[7], 但是对于JA如何诱导气孔关闭的作用机制还不清楚. 伤[8]、病源侵染[9]、水分胁迫[10]、渗透胁迫[11]、活性氧增加[12]等都可引起植物体内JA和NO水平升高. Huang等人[13]证明, 拟南芥表皮细胞受伤胁迫或用一定浓度的JA处理之后, 能够诱导NO的产生, NO可能通过诱导JA反应基因的表达而参与该信号途径的调控. 植物体在受到多种胁迫时常伴随发生异常的气孔开闭, 同时JA和NO水平增加, 那么在调控气孔运动过程中JA和NO信号分子之间是否存在着某种联系? NO是否也是JA信号转导途径的成员?

本文以蚕豆幼苗为材料, 运用表皮条生物学分析方法和激光共聚焦扫描显微镜观察技术, 研究了JA 和 NO 对蚕豆气孔运动的影响, 初步探索了 NO 作为 JA 调控气孔运动信号转导中的信号分子的可能性.

## 1 材料与方法

(ⅰ) 实验材料和试剂. 蚕豆(*Vicia faba* L)在光强 200 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$, 相对湿度 60%, 光照时间 14 h/d, 昼夜温差 25℃/18℃下培养, 3~4 周后供实验用. 用表皮条缓冲液(10 mmol/L Mes/KOH, 50 mmol/L KCl, 100 μmol/L $CaCl_2$, pH 6.1) 配制(–)JA, 硝普钠(sodium nitroprusside, SNP), 2-phenyl-4,4,5,5- tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide(PTIO), $N^G$-硝基-L-精氨酸-甲酯($N^G$-nitro-L-Arg-methyl eater, L-NAME), $NaNO_2$ 和 $NaN_3$ 处理液, 使其最终浓度分别为: JA, 0~0.1 mmol/L; SNP, 0~0.1 mmol/L; PTIO, 200 μmol/L; L-NAME, 25 μmol/L; $NaNO_2$, 0.1~10 mmol/L; $NaN_3$, 0.1~1 mmol/L. JA, SNP, PTIO, L-NAME均为Sigma公司

(ⅱ) 气孔开度的测定. 取 3~4 周龄蚕豆幼苗最上端刚完全展开的叶片, 光诱导使气孔完全张开. 撕取其下表皮, 小心刷除上面黏附的叶肉细胞. 用显微测微尺测量气孔的初始孔径, 测量时随机选取 5 个视野, 每个视野内随机选取 10 个气孔. 然后, 将表皮条孵育在不同浓度试剂(JA, SNP, $NaNO_2$, $NaN_3$, L-NAME和PTIO)的表皮条缓冲液中, 在光下(光强 200 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$)处理 3 h. 记录终态孔径. 每个处理重复 3 次以上.

(ⅲ) 保卫细胞胞内NO的测定. 将最上端完全展开叶片下表皮放于表皮条缓冲液中, 加入diamino-

fluorescein diacetate(DAF-2 DA), 使终浓度为 10 μmol/L (Sigma 公司), 25℃下避光孵育 2 h左右, 取出后用表皮条缓冲液冲洗多次, 除去吸附的染料[14]. 将洗好的表皮条置于载玻片上, 盖好盖片, 用 488 nm 蓝光激发, 发射波长为 505~515 nm之间, 经激光共聚焦扫描显微镜(Lasersharp MRC-1024, Bio-Rad)扫描, 共聚焦系统由Bio-Rad公司提供的软件控制, 在 Pentium 333 Dell计算机下进行. 细胞中NO的静态分布图像在LaserSharp Acquisition 软件包下获得. 分别取得气孔保卫细胞的明场照片, 只用缓冲液孵育但不加荧光指示剂的自发荧光照片, 处理前, 用 DAF-2DA 孵育并分别加入 0.1 mmol/L JA, 0.1 mmol/L SNP和 200 μmol/L PTIO后, 加入 0.1 mmol/L JA+200 μmol/L PTIO, 以及 25 μmol/L L-NAME预处理后再加入 0.1 mmol/L JA, 10 mmol/L $NaNO_2$和 0.1 mmol/L $NaN_3$等的照片.

## 2 实验结果

### 2.1 保卫细胞中 NO 分布特征及 JA 对其水平的影响

NO荧光指示剂DAF不与其他任何活性氧反应, 结合confocal进行适时观察, 被认为是检测NO的专一性荧光探针[14]. 在本实验中, 用NO荧光指示剂DAFA孵育后在保卫细胞的胞质中有匀质的绿色荧光, 说明保卫细胞的胞质中存在组织型NO(图 1(a), CK); 用一氧化氮合酶(NOS)抑制剂L-NAME (25 μmol/L)处理后保卫细胞的荧光强度略微降低(图 1(a), L-NAME); 加入NO清除剂PTIO(200 μmol/L)后保卫细胞的荧光强度明显低于对照(图 1(a), PTIO). 这说明DAF-2DA 指示剂对NO是特异的, 并且气孔保卫细胞中可能存在由NOS催化形成NO的途径.

加入 NO 的供体 SNP 后, 在保卫细胞胞质中形成大量 NO, 但在细胞核和叶绿体中没有显示 NO 的特异荧光(图 1(b), SNP); 一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME(25 μmol/L)处理后保卫细胞的荧光强度略微降低(图 1(b), SNP＋L-NAME); 加入 NO 清除剂 PTIO(200 μmol/L)后保卫细胞的荧光强度大大下降, 明显低于对照, (图 1(b), SNP＋PTIO). 进一步说明 DAF-2DA 指示剂对 NO 的特异性.

保卫细胞用 10 mmol/L的$NaNO_2$处理后在胞质中可形成一定量NO(图 1(c), $NaNO_2$), 用NR抑制剂 $NaN_3$(100 μmol/L)和$NaNO_2$共孵育时, 保卫细胞的荧光强度明显降低(图 1(c), $NaN_3$＋$NaNO_2$).

用 100 μmol/L JA 处理后, 保卫细胞胞质中的荧光强度显著增加, 细胞核中荧光较弱(图 1(d), JA), 说明 JA 能够诱导保卫细胞中产生 NO; 用一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-NAME(25 μmol/L)预处理叶片下表皮, 然后再用 JA 处理, 发现胞质中的荧光强度大大降低, 但液泡中仍有较强的荧光(图 1(d), JA+L-NAME); NO 清除剂 200 μmol/L PTIO 和 JA 共孵育时, 保卫细胞胞质的荧光强度明显下降(图 1(d), JA+PTIO). 推测, 保卫细胞中可能存在 NOS 类似物, JA 可以通过 NOS 途径诱导胞质产生 NO.

### 2.2 NO 与 JA 在调控气孔运动中的关系

(ⅰ) JA 对蚕豆气孔运动的影响. JA 可诱导蚕豆叶片气孔关闭. 在 0.01~100 μmol/L 浓度范围内, 其诱导气孔关闭的效应基本上是随浓度增高而加强. JA 处理后气孔孔径分别为对照的 39%, 57%, 64%, 53%和 68%(图 2(a)). 光下, JA 处理 2 h 诱导气孔关闭, 然后将叶片下表皮转移到 MES 缓冲液中在光下再诱导 2 h, 气孔孔径能够基本恢复到对照水平(图 2(b)). 说明 JA 促进气孔关闭的效应是可逆的.

(ⅱ) NO 对气孔运动的影响. 在 1~100 μmol/L 范围内, SNP 能够诱导蚕豆气孔关闭, 并有明显的浓度效应, 随着浓度的升高而增强(图 3(a)). 其中 100 μmol/L SNP 处理后的气孔开度可降低 50%左右. 用 10 和 100 μmol/L SNP 处理 2 h 诱导蚕豆叶片下表皮气孔关闭, 然后将叶片下表皮转移到 MES 缓冲液中 2 h, 气孔开度基本恢复到对照水平(图 3(b)), 说明 NO 诱导气孔关闭的效应是可逆的.

在 0.01~10 mmol/L范围内, $NaNO_2$能够诱导蚕豆气孔关闭, 并且其效应随着浓度的升高而增强(图 4(a)), 但其有效作用浓度明显高于NO的供体SNP, 10 mmol/L $NaNO_2$处理后的气孔开度只降低 26.8%, 推测在蚕豆气孔保卫细胞中由NR途径只能形成微量的 NO. 图 4(b)显示的是用$NaNO_2$和SNP共同处理蚕豆叶片下表皮的实验结果, 表明在一定浓度范围内$NaNO_2$和SNP在诱导气孔关闭上具有一定的加合效应, 当二者共同处理时的气孔孔径小于单独处理时的气孔孔径.

(ⅲ) JA 和 NO 在调控蚕豆气孔运动中的相互关系. PTIO 是 NO 的特异性清除剂. 用 PTIO(200 μmol/L)和 JA 共处理后 JA 诱导蚕豆气孔关闭的作用被减弱(图 5), 说明在 JA 诱导气孔关闭的过程中可能有一定量 NO 的参与.

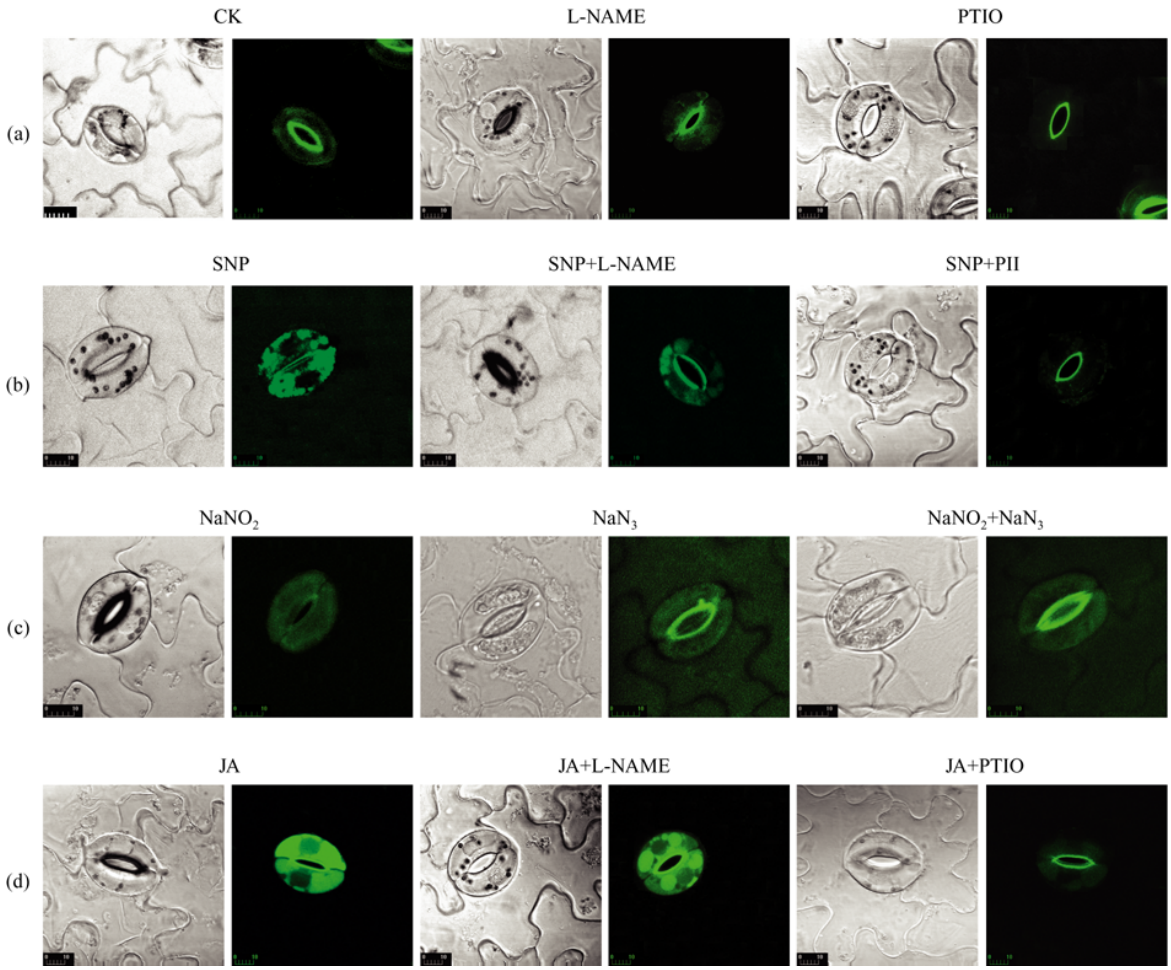


图 1 蚕豆下表皮保卫细胞中的 NO

(a) 蚕豆气孔保卫细胞中NO的分布(L-NAME, 25 μmol/L; PTIO, 200 μmol/L); (b) NO 供体SNP (0.1 mmol/L ) 对蚕豆气孔保卫细胞中NO的影响, L-NAME为NOS抑制剂, PTIO为NO清除剂(SNP, 0.1 mmol/L; L-NAME, 25 μmol/L; PTIO, 200 μmol/L); (c) $NaNO_2$对蚕豆气孔保卫细胞NO的影响($NaNO_2$, 10 mmol/L; $NaN_3$, 100 μmol/L); (d) 外源JA对蚕豆气孔保卫细胞NO水平的影响(JA, 100 μmol/L). 标尺示 10 μm

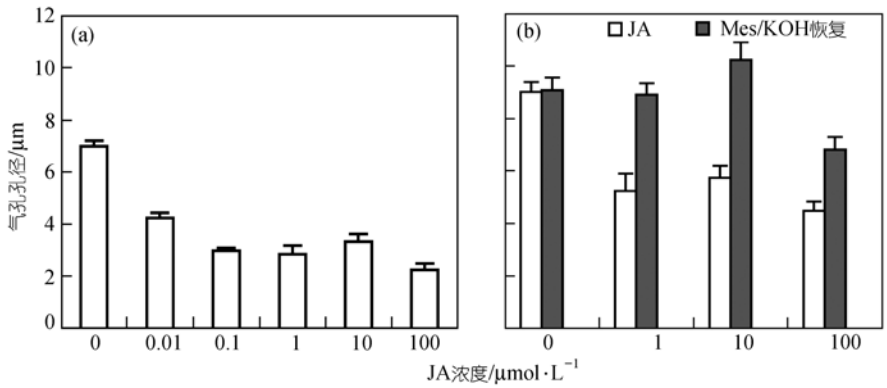


图 2 光下 JA 对蚕豆气孔运动的影响

(a) 光下 JA 促进蚕豆气孔关闭的浓度效应; (b) JA 诱导蚕豆叶片气孔关闭的恢复实验

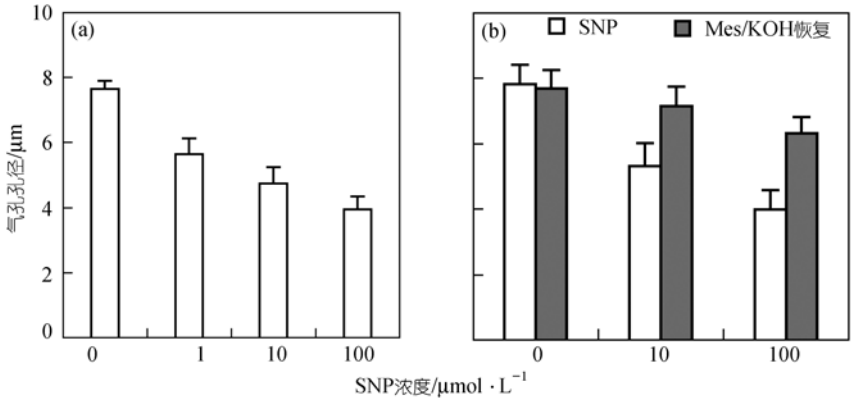


图 3 NO 供体 SNP 诱导气孔关闭的效应.

(a) SNP 诱导气孔关闭的浓度效应; (b) SNP 诱导蚕豆气孔关闭的恢复实验

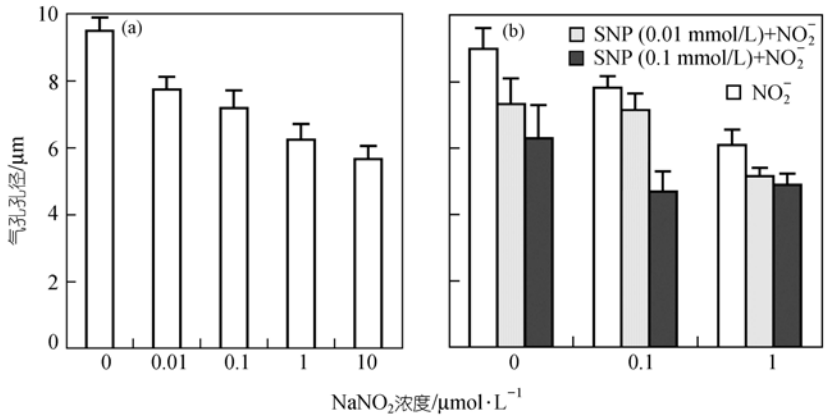


图 4 $NaNO_2$和SNP诱导蚕豆气孔关闭的效应

(a) $NaNO_2$诱导蚕豆气孔关闭的浓度效应; (b) SNP和$NaNO_2$诱导蚕豆气孔关闭的作用

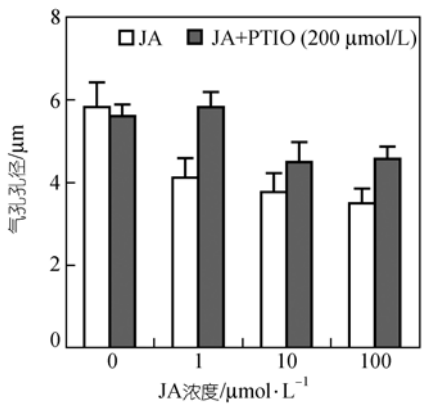


图 5 NO 清除剂 PTIO 对 JA 诱导气孔关闭作用的影响

加入NOS的抑制剂L-NAME(25 μmol/L)可以降低JA诱导气孔关闭的效应(图 6(a)), 推测由NOS形成的NO参与了JA调控的气孔运动. $NaN_3$是NR的非特异性抑制剂, $NaN_3$(0.1 mmol/L)本身对气孔运动没有明显影响, 几乎可以完全阻断$NaNO_2$(10 mmol/L)诱导气孔关闭的作用, 但没有改变JA(0.1 mmol/L)诱导气孔关闭的效应(图 6(b)). 这进一步说明, 由NR形成的NO虽然也影响蚕豆的气孔运动, 由于$NaNO_2$作用浓度较高, 推测在JA调控气孔运动中它们的作用不是主要的.

## 3 讨论

JA在植物体中有多种生理功能, 其信号转导机制成为人们研究的热点. 气孔保卫细胞是研究植物细胞信号转导的一种模式材料, 已有实验证明, JA及其甲酯可以诱导拟南芥气孔的关闭, 而且$H_2O_2$可能介导了茉莉酸甲酯诱导的气孔关闭作用[15]. 本实验结果表明, 一定浓度范围内的JA可诱导蚕豆叶片气孔关闭(图 2), 但对JA在气孔保卫细胞中的信号转导途径所知甚少. 最近, Huang等人[13]以拟南芥为材料,

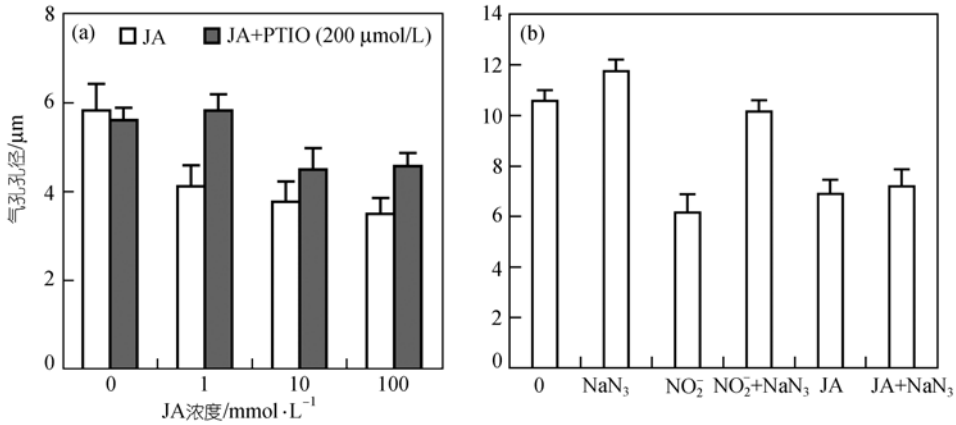


图 6 NOS抑制剂L-NAME 和$NaN_3$对JA诱导气孔关闭效应的影响

(a) NOS抑制剂L-NAME对JA诱导气孔关闭效应的影响; (b) 0.1 mmol/L $NaN_3$对JA (0.1 mmol/L)和$NaNO_2$ (10 mmol/L)调控气孔运动的影响

用 NO 的特异性荧光指示剂 DAF-2DA 检测到伤或 JA 处理可诱导表皮细胞中产生 NO, 证明 NO 在伤反应和 JA 信号转导途径中起重要作用.

NO在植物的生长发育中起重要作用[16], 参与植物体对各种生物和非生物胁迫反应的信息传递[2,8,17]. 植物体内至少存在 3 条形成NO的途径, 即通过一氧化氮合酶、硝酸还原酶或亚硝酸还原酶(NR/NiR)和非酶途径形成NO[18]. 目前还不清楚伤反应中NO的来源, 由硝酸还原酶形成的NO可能与非激发形成NO有关[19,20]; 而由iNOS产生的NO可能参与了植物的抗病反应[21]; 病原菌和病原菌形成的激发子可快速(或瞬时)激活组织型NOS[14]. NO在植物体内的分布受多因素的影响, 与植物种类、组织和细胞类型及外界刺激因子都相关. 如Pedroso等人[22]用NO供体SNP处理伽蓝菜和红豆杉后, NO主要存在表皮细胞的胞质中, 而受伤(离心)后, NO主要存在于薄壁细胞和保卫细胞中. 红豆杉(*Taxus brevifolia*)叶片中NO主要存在于表皮细胞的胞质中; 在红豆杉愈伤组织中的NO呈均匀分布[22]; 而在伽蓝菜(*Kalanchoë daigrenothtiana*)茎的愈伤组织中, NO主要存在于叶绿体中[22]. 真菌激发子隐地蛋白(cryptogein)诱导形成的NO主要分布在胞质、围绕质膜、叶绿体、过氧化物酶体中[14].

我们用NO特异性荧光指示剂DAF-2DA为探针对保卫细胞中的NO分布进行了检测, 结果表明, 在蚕豆保卫细胞的胞质中有匀质的NO绿色荧光, 说明气孔保卫细胞的胞质中存在均匀分布的组织型NO (图 1 (a), CK). NO的供体硝普钠(SNP)处理较硝酸还原酶(NR)底物$NO_2^-$在保卫细胞胞质中形成的NO量大(图 1(b), SNP; 图 1(c), $NaNO_2$), 即经SNP非酶途径形成的NO高于$NO_2^-$的作用. 用一氧化氮合酶(NOS)抑制剂L-NAME 和NR抑制剂$NaN_3$预处理均使气孔保卫细胞的NO水平有所下降(图 1(b), (c)). 由此看来, 蚕豆气孔保卫细胞中存在一定量的NO, 它们可能来源于不同的途径, 不同刺激诱导产生的NO可能有不同的来源, 这正是细胞信号转导特异性的一种调节. 本实验中, 外施JA使蚕豆气孔保卫细胞胞质中荧光强度显著增加(图 1(d), JA); 而NOS抑制剂L-NAME 预处理叶片下表皮后, 胞质中的荧光强度降低, 但液泡中仍有较强的荧光(图 1(d), JA+L- NAME). Garces等人[23]发现NOS抑制剂可以阻断机械损伤引起的拟南芥NO的合成, 而伤仍可诱导NR突变体产生NO, 推测伤或JA主要经NOS途径产生NO. 目前尚不清楚不同区域NO形成和调控的机制和生理意义.

Neill等人[11]报道拟南芥和豌豆中ABA诱导气孔关闭的效应有NO参与, 他们认为NO可能是ABA调控气孔运动信号转导途径的一个组分. 本研究试图证明NO参与JA诱导气孔关闭的信号转导途径. 结果表明, 在 1~100 μmol/L范围内, JA和NO供体SNP能够诱导蚕豆气孔关闭(图 2(a), 图 3(a)); 加入NO的特异性清除剂PTOI和NOS的抑制剂L-NAME, 使JA诱导气孔关闭的效应减弱(图 5(a)和图 6(a)), 说明在JA诱导气孔关闭的过程中可能有一定量NO参与. 近年的研究揭示, NO存在于伤或JA信号途径中, 如NO供体SNP抑制伤诱导的番茄$H_2O_2$合成, 也抑制伤或JA诱导的防御基因的表达, 说明NO是作为负调控因子参与的[24]. Huang等人[13]的研究也表明在NO, JA和SA之间存在更为复杂的信号交叉, 伤或JA诱导拟南芥表皮细胞产生NO, 而外源NO诱导JA生物合成的基

因表达，但是NO处理又不增加细胞中JA的水平，却使SA缺乏的突变体植株产生JA，推测SA在NO介导的JA合成中起负调控作用．已有证据表明，$Ca^{2+}$，cGMP和cADPR等第二信使介导了NO的信号转导[25]．我们也得到cGMP和cADPR介导NO参与的SA调控蚕豆气孔运动信号转导的实验证 据[26]．利用保卫细胞这一研究细胞信号转导的模式材料，可以进一步探索NO与JA和/或SA间的信号交叉关系．

综上所述，气孔保卫细胞中存在NO；JA可提高气孔保卫细胞NO的水平；JA和NO能够诱导蚕豆气孔关闭；NO的清除剂PTIO可大大减弱JA诱导蚕豆气孔关闭的作用，在JA诱导气孔关闭的过程中有一定量NO的参与．由此推测，NO参与JA诱导气孔关闭过程的信号转导过程．在JA诱导气孔关闭的信号途径中，需要进一步确定NO的上游和下游靶分子；同时也可以拟南芥JA敏感型和缺陷型突变体研究JA对气孔运动的影响；并利用NO突变体[27]，深入了解NO和JA在调控气孔运动中的作用机制和相互关系．

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号：30370141)和高等学校博士点基金(批准号：2002001918)资助项目．

## 参 考 文 献


1 Dat J, Vandenbeele S, Vranova E, et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular Mol Life Sci, 2000, 57: 779~795[DOI]

2 Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. Nature, 1998, 394: 585~588[DOI]

3 Garcia-Mata C, Lamattina L. Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure: Is nitrate reductase one of the missing links? Trends Plant Sci, 2003, 8: 20 ~26[DOI]

4 Neill S J, Desikan R, Hancock J T. Nitric oxide signaling in plants. New Phytologist, 2004, 159: 11~35[DOI]

5 Wendehenne D, Pugin A, Klessig D F, et al. Nitric oxide: Comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. Trends Plant Sci, 2001, 6:177~183[DOI]

6 Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. Plant Physiol, 2002, 128 (1): 13 ~16[DOI]

7 Gehring C A, Irving H R, McConchie R, et al. Jasmonates induces intracellular alkalinizaton and closure of *Paphiopedilum* guard cells. Ann Bot, 1997, 80: 485~489[DOI]

8 Clarke A, Desikan R, Hurst R D, et al. NO way back: Nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. Plant J, 2000, 24 (5): 667~677[DOI]

9 Seo H S, Song J T, Cheong J J, et al. Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: A key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(8): 4788 ~ 4793[DOI]

10 Xin Z Y, Zhou X, Pilel P E. Level changes of jasmonic, abscisic, and indole-3yl-aceric acids in maize under desiccation stress. J Plant Physiol, 1997, 151: 120 ~124

11 Kramell R, Miersch O, Atzorn R, et al. Octadecanoid-derived alteration of gene expression and the “Oxylipin signature” in stressed barley leaves. Plant Physiol, 2000, 123(1): 177~187[DOI]

12 Koch J R, Creelman R A, Eshita S M, et al. Ozone sensitivity in hybrid poplar correlates with insensitivity to both salicylic acid and jasmonic acid. Plant Physiol, 2000, 123: 1~10[DOI]

13 Huang X, Stettmaier K, Michel C, et al. Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. Planta, 2004, 218: 938 ~ 946[DOI]

14 Foissner I, Wendehenne D, Langebartels C, et al. *In vivo* imaging of an elicitor-induced nitric oxide burst in tobacco. Plant J, 2000, 23: 817 ~ 824[DOI]

15 崔香环，苗雨晨，董发才，等．茉莉酸甲酯诱导气孔关闭的信号转导机制初探．河南大学学报, 2001, 31(3): 76 ~ 79

16 Del Rio L A, Corpas F J, Barroso J B. Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. Phytochem, 2004, 65: 783~792[DOI]

17 Durner J, Wendehenne D, Klessig D F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95 (17): 10328~10333[DOI]

18 Wojtaszek P. Nitric oxide in plants -To NO or not to NO. Phytochem, 2000, 54 (1): 1~4[DOI]

19 Desikan R, Griffiths R, Hancock J, et al. A new role for an old enzyme: Nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 16314~16318[DOI]

20 Rockel P, Strube F, Rockel A, et al. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate- reductase *in vivo* and *in vitro*. J Exp Bot, 2002, 53: 103~110[DOI]

21 Chandok M R, Ytterberg A J, van Wijk K L, et al. The pathogen-inducible nitric oxide synthase (iNOS) in plants is a variant of the P protein of the glycine decarboxylase complex. Cell, 2003, 113: 469~482[DOI]

22 Pedroso M C, Magalhaes J R, Durzan D. Nitric oxide induces cell death in Taxus cells. Plant Sci, 2000, 157(2): 173 ~180[DOI]

23 Garces H, Durzan D, Pedroso M C. Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*. Ann Bot, 2001, 87(5): 567~574[DOI]

24 Orozco-Cardenas M L, Ryan C A. Nitric oxide negatively modulates wounding signaling in tomato plants. Plant Physiol, 2002, 130: 487~ 493[DOI]

25 Wendehenne D, Durner J, Klessig D F. Nitric oxide: a new player in plant signaling and defense responses. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7: 449 ~ 455[DOI]

26 刘新，张蜀秋，娄成后．一氧化氮参与水杨酸对蚕豆气孔运动的调控．科学通报, 2003, 48(1): 60 ~ 63[摘要] [PDF]

27 Guo F Q, Okamoto M, Crawford N M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved hormonal signaling. Science, 2003, 302: 100 ~ 103[DOI]


(2004-12-26 收稿, 2005-02-04 收修改稿)