

一氧化氮与植物胁迫响应

肖强 郑海雷*

厦门大学生命科学学院, 厦门 361005

Nitric Oxide and Plant Stress Response

XIAO Qiang, ZHENG Hai-Lei*

School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005

提要 综述了NO分子在植物耐受生物胁迫和非生物胁迫中的作用, 以及植物的NO信号转导过程中cGMP途径和其它途径的研究进展, 并对以后的研究作一些展望。

关键词 NO; 信号转导; NOS; NR; HR; 生物胁迫; 非生物胁迫

近年来, 一氧化氮(NO)作为信号分子的研究备受关注。例如, 1992年NO被美国自然科学杂志(*Science*)选为明星分子。从化学性质上看, NO是一种自由基性质的气体, 具有脂溶性, 可快速扩散透过细胞膜, 到达邻近靶细胞发挥作用。在有氧、超氧离子(O_2^-)以及血红蛋白等与NO发生反应的化合物时, NO被氧化后以硝酸根或亚硝酸根以及过氧化亚硝酸根离子($ONOO^-$)等形式存在于细胞外液中。

在动物中, NO的合成通过3种不同的一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)实现^[1]。在植物中, NO的产生主要有4种途径, 即类似动物NOS蛋白^[2~4]、硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)催化^[5]、其它酶促反应如亚硝酸盐NO还原酶(nitrite NO reductase, Ni-NOR)和黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)催化以及非酶促反应^[6]。

NO可以3种形式存在, 分别是 $NO\cdot$ 、 NO^+ 、 NO^- , 除了 $NO\cdot$ 具有生物活性外, NO^+ 和 NO^- 也具有生物学效应^[4]。已证明, NO在植物生长、发育、衰老、细胞程序性死亡(PCD)、乙烯释放、抗病和对环境胁迫等各种不同形式的响应中有很大的作用^[3, 4, 7, 8]。本文主要就NO自由基在生物胁迫和非生物胁迫下的生理效应和信号转导机制的研究进展作一概述。

1 NO与生物胁迫

在植物与病原相互作用中, 过度产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)有信号和毒性的双重作用^[9]。据报道, NO可以中和一些马铃薯中由ROS引起的诸如DNA断裂、离子渗漏和细胞死亡等效应^[10]。同时, NO清除ROS的能力在动

物中已得到充分的证明^[11]。

当用NO供体处理马铃薯叶片时, 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)、 β -1,3葡聚糖酶以及3-磷酸甘油醛脱氢酶基因的mRNA水平都增加^[12], 而这3种酶是涉及植物病原相互作用防卫机制的^[13~15], 说明NO对马铃薯的保护效应与植物的防卫机制有关。Delledonne等^[3]的实验表明, NO与豌豆悬浮细胞和拟南芥的抗病过程有联系。

在烟草与假单胞菌作用中, NO供体可以引起过敏反应(hypersensitive response, HR)^[16]。而HR是一种以宿主细胞在病原攻击位点发生快速死亡为特点的反应, 可以限制真菌的生长和发展, 并阻止其向植物其它部分传播^[14]。这种HR是由ROS快速而短暂的大量形成(称为氧爆)所触发的^[17]。氧爆释放 H_2O_2 和 O_2^- , O_2^- 可以和NO发生反应生成 $ONOO^-$, 这是一种活性更强的病原致死物。 O_2^- 和 $ONOO^-$ 可以协同抵御病原入侵。伴随着氧爆的是NO的爆发性产生, 此时, 也可以检测到类NOS活性的增加^[2]。而NOS抑制剂可以阻止拟南芥叶片中HR的产生, 并诱导一种典型的萎黄病和细胞死亡增多^[3]。NO可以刺激感染组织细胞壁的木质化^[18], 参与细胞死亡的调节和防卫机制诱导的病原防卫应答^[2, 3]。对此问题还有不同的认识和看法, 有人认为是NO不刺激超氧化物的形成, 而是削弱ROS的生

收稿 2003-09-26 修定 2004-02-16

资助 国家自然科学基金(30271065、39970438、39870630)和福建省自然科学基金(D0210001)。

* 通讯作者(E-mail: zhenghl8@public.xm.fj.cn, Tel: 0592-2181005)。

成^[19]。这取决于NO与内源有机自由基的反应^[10]。此外,用NO供体或者重组NOS蛋白处理烟草植株或其细胞悬浮液,都可以触发病程相关蛋白1(pathogenesis-related 1, PR1)和PAL的表达,并增加总体水杨酸(salicylic acid, SA)水平。SA是一种涉及到植物对生物胁迫应答的信号分子,尽管对其生物合成路径尚不完全清楚,但已有证据表明在病原感染引起的SA生物合成中,细胞死亡信号如ROS以及NO参与SA合成过程某些关键步骤的调控^[20]。NO对PAL的mRNA水平有调节能力^[2, 12],这意味着这种气体与植物中依赖SA和非依赖SA途径的防卫机制有联系^[21]。

在植物病原相互作用中, H₂O₂协调着HR的产生^[22]。但有人认为在某些情况下大豆悬浮细胞中O₂⁻的产生只是诱发一种轻微的细胞死亡^[3]。大豆细胞悬浮液中接种假单胞菌可以刺激NO的产生,这一过程可被超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)抑制,从而提示在HR中NO和H₂O₂间有联系。NO和H₂O₂相互作用诱导的植物细胞死亡与二者的比例有关系^[3, 23]:比例相等时,细胞死亡;两者之中任何一种过量均可以导致另一种作用的消除,细胞可免于死亡^[23]。

NO可以显著减轻离子渗漏和马铃薯叶片因病原感染引起的细胞死亡。这种作用受NO清除剂cPTIO(carboxy-2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl 3-oxide, cPTIO)抑制。作为一种抗氧化剂,NO可以抵消许多由ROS介导的细胞毒害作用^[10]。正常生理情况下,细胞质、线粒体和细胞外SOD的催化活性可以将O₂⁻快速歧化为H₂O₂和分子氧,高浓度的NO可以和这种歧化反应竞争,导致ONOO⁻的形成,从而损伤蛋白质、脂、RNA和DNA^[24]。

在细胞中,NO对细胞发挥毒害作用的同时也有保护作用,这是由于它与机体其它成分发生化学反应的结果^[25]。NO在生物胁迫下互相矛盾的效应依赖于其浓度的不同:低浓度的NO可以阻止自由基介导的脂质氧化,扮演保护角色;高浓度下,它与产生有毒产物的活性氧有协同效应^[10, 25]。总之,NO作为信号分子在胁迫诱导的防卫反应中发挥作用^[22];高浓度NO则会对细胞有严重伤害。

2 NO与非生物胁迫

在植物中,NO功能具有二元性:在低浓度

下,它有保护作用;而高浓度NO则对细胞带来严重伤害^[8]。各种非生物胁迫如水分和盐胁迫、机械损伤以及紫外线等都可以诱导ROS形成,而低浓度NO可通过各种方式与ROS作用,发挥抗氧化功能^[10]。在短时间的热胁迫下可以检测到豌豆叶片中NO产生的增加^[26, 27],NO也能增强番茄、小麦和玉米的抗寒性^[28]。另一方面,高浓度NO处理豌豆叶片可以诱发胁迫症状^[26],NO供体SNAP(S-nitroso-N-acetylpenicillamine)增加叶绿素荧光^[8];用浓度相当于1 mmol·L⁻¹ NO的SNAP处理豌豆叶片可以看到脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)活性显著降低^[8]。这些都表明,高浓度NO可以是胁迫诱导因子。

干旱是常见的制约农业生产的环境因素,因此了解干旱胁迫下细胞内保存水分的机制很重要。缺水胁迫条件下,植物合成ABA,通过一系列复杂的信号级联机制诱导气孔关闭,在此情况下可以检测到豌豆叶片中NO产生的增加^[26, 27]。在拟南芥中,干旱通常首先影响根系,导致NO释放增加,外源和内源NO均可促进对ABA依赖的气孔关闭^[29]。有研究表明,NO和ABA可以各自独立诱导气孔关闭,但也存在正协同效应^[29, 30]。Desikan等^[31]的研究表明,NO是一个介导ABA诱导气孔关闭的关键性信号分子,保卫细胞中NO的生物合成途径尚不清楚。药理学、生理学和基因证据都说明拟南芥细胞中NO的生物合成是NR介导的,NR介导的NO合成对于ABA诱导的气孔关闭是必需的。

盐害也是农业生产中的重要不利环境因素,盐胁迫主要表现为渗透胁迫和离子平衡的破坏^[32]。已有研究表明,NO参与盐胁迫以及渗透胁迫信号应答。Ruan等^[33]报道,0.1和1 mmol·L⁻¹ NO供体SNP可以显著减轻由150和300 mmol·L⁻¹ NaCl分别处理所诱导小麦叶片的氧化性损伤。他们进一步研究证实,NO可以显著增强SOD、CAT活性,这两种酶可以清除盐胁迫下小麦叶片中O₂⁻和H₂O₂的积累。张华等^[34]的研究表明,在渗透胁迫下,用SNP处理小麦种子,可以显著促进种子的萌芽、胚根和胚芽的延长;在渗透胁迫解除后,小麦种子仍维持较高活力。此外,SNP能显著诱导渗透胁迫下CAT、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性上升以及脯氨酸含量积累,但抑制LOX活性,这些对提高渗透胁迫下的小麦

种子萌发期间抗氧化能力是有益的。说明 NO 和渗透胁迫信号应答有联系。

NO 也参与伤害信号应答。Garcês 等^[35]以拟南芥 *NR* 基因突变株进行的实验表明, NO 的产生可由机械和伤害胁迫诱导。在离体番茄叶片中, 对伤害信号产生应答的蛋白激酶抑制因子1蛋白的生物合成受 NO 供体 SNP 和 SNAP 的抑制, 外加 cPTIO 则解除这种抑制。他们的实验还表明, NO 抑制应答茉莉酸(jasmonic acid, JA)的蛋白激酶抑制因子基因的表达, 但不抑制伤害信号相关基因的表达。由此可见: NO 对伤害诱导的 H₂O₂ 产生过程的抑制和对蛋白激酶抑制因子基因表达的抑制不是 SA 的增加所致; 相反, NO 似乎直接与 JA 合成信号途径下游以及 H₂O₂ 合成的上游信号途径相互作用^[36]。Pedroso 等^[37]报道, 150×g 的重力离心可引起紫杉卵母细胞 NO 爆发, 随后可以观察到核 DNA 破裂和细胞死亡的显著增加; 添加 NO 抑制剂单甲基 *L*-精氨酸(*L*-NMMA)时, NO 形成和细胞死亡即显著减少。说明在重力胁迫情况下, NO 可导致不可逆的 DNA 碎裂和细胞死亡。

NO 还参与对其它胁迫的应答。例如, 用臭氧处理拟南芥叶片可以诱导类 NOS 活性, 并引起 SA 的积累和细胞死亡^[38]; NO 可介导拟南芥由 UV-B 诱导的查尔酮合酶(chalcone synthase)基因的表达^[39]。

3 NO 信号转导

3.1 cGMP 途径 动物细胞中, NO 通过与亚铁血红素铁离子结合或者通过半胱氨酸残基 *S*-亚硝基化作用激活鸟苷酸环化酶(guanylyl cyclase, GC), 增加 cGMP 的合成^[11]。NO 诱导的 cGMP 的增加可以促进 cADP 核糖(cADP-ribose, cADPR)的合成。后者是有效的钙离子激活剂, 偶联于胞内钙通道, 激活钙的释放。有研究表明 NO 通过 cGMP 依赖的途径抑制动物血管平滑肌的钙内流^[40]。

高效液相色谱分析经低浓度 NO 处理的云杉针叶的结果揭示, 叶片中 cGMP 含量呈 10 倍的增加^[41]。有人认为参与调节气孔开闭的 NO 应答反应可能是通过 cGMP 介导的环核苷酸门控离子通道(cyclic nucleotide-gated ion channels, CNGCs)的激活进行的^[4]。另外, 有人在云杉中也检出哺乳动物鼠体中的可溶性 GCα1 亚基的抗体。这提示 NO/cGMP 依赖信号途径在植物中也可能存在。Durner 和 Klessig^[7]发现 NO 激发烟草中由烟草花叶

病毒(tobacco mosaic virus, TMV)引起的 *PAL* 基因表达, GC 抑制剂可以部分阻断这种激发作用, 这也提示烟草中存在 cGMP 依赖和非依赖途径; cGMP 和 cADPR 可诱导 *PAL* 基因表达, 说明这些分子是 NO 的下游信号分子。

一般认为, ROS 是最可能涉及植物交叉耐受的介导因子^[42], 但根据 NO 具有的特殊性质(如自由基、小分子、非极性、短效、对生物膜的高度透过性等), 它也可能是参与交叉耐受的介导因子。例如在烟草感染 TMV 时, NO 通过增加 SA 水平参与介导系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)信号的转导^[2]。此外, 在供给外源 NO 或者 NO 供体时, 烟草中 *PRI* 和 *PAL* 基因表达会增加, 另一方面, cGMP 和 cADPR 也可以引起 *PRI* 和 *PAL* 表达增加^[2]。这表明 NO 和 cGMP 以及 cADPR 之间可能存在某种联系。Wendehenne 等^[43]的研究进一步表明 cGMP 的增加是 NO 的一种早期效应, 随后则是 SA 的增加以及 *PAL* 活性的增加。这种活性增加比 H₂O₂ 诱导的 *PAL* 活性增加更高, 从而表明 NO 和 ROS 可通过不同的途径引起植物产生获得性抗性(acquired resistance)。

3.2 其它途径 虽然 NO 转导的 cGMP 途径是植物中 NO 发挥效应的重要途径。但也有证据表明, NO 也可以不通过 cGMP, 而是通过关键转录因子 *S*-亚硝基化作用或者是直接调控离子通道^[11, 44]而发挥作用。例如, 在动物血管平滑肌的细胞膜上, 外源 NO 可直接激活钙依赖的钾通道而无需 cGMP^[40]; NO 也可以通过 *S*-亚硝基化作用直接调控钙通道^[44], 这也是不依赖于 cGMP、cADPR 的。

NO 还可通过激活蛋白激酶发挥生物学效应。如 NO 可以激活由其它信号分子如 SA^[45]和 H₂O₂^[46]激活的烟草 MAPK。分析转基因 *NahG* 烟草结果揭示, SA 对由 NO 介导的 SIPK(SA-induced protein kinase)的激活是必要的, 在 NO 信号途径中 SIPK 作为 SA 的下游分子发挥功能^[45]。用斑蝥素(cantharidin)处理烟草细胞悬浮液可以部分激活由 ROS 和 NO 介导的信号途径^[3]。众所周知, 由 ROS 引起的细胞死亡涉及蛋白激酶级联反应^[47], 因此表明 NO 和 H₂O₂ 可以有相同的蛋白激酶途径。

高浓度 NO 对细胞有毒性作用, 线粒体和细胞质中顺乌头酸酶是 NO 毒性的主要靶分子, 其抑制作用由 NO 与 O₂⁻ 反应形成的 ONOO⁻ 引起

的^[48], 属间接作用, 并非由NO直接引起。作为一种导致细胞死亡的机制, NO将胞质顺乌头酸酶转化为一种mRNA结合蛋白^[49], 从而抑制铁蛋白的积累, 并引起自由铁的积累, 然后通过Fenton反应催化ROS的形成^[41]。

NO对生物膜有高度透过性, 因而它可以通过扩散作用进入细胞核, 从而激活或抑制转录因子进而调控基因的表达; 另外, 它也可能通过信号级联反应调控转录因子活性^[4]。番茄经NO处理后SA水平显著增加, 而SA是已知的*PR-1*基因的有效诱导因子^[50]。这表明NO是通过SA激活*PR-1*基因表达的。Mackerness等^[39]的实验表明, NO参与介导拟南芥由UV-B诱导的查尔酮合酶(chalcone synthase)基因的表达。Huang等^[51]证实, 用NO处理拟南芥细胞可以强烈诱导*AOX1a*

的转录。

4 展望

根据目前获得的资料, 植物中一氧化氮可能的合成和信号转导途径可以概括如图1所示。NO是植物体内的一种代谢物。人们对其生物合成途径的起源仍不很清楚。许多证据说明NO的合成可以由亚硝酸盐为底物通过NR合成。2003年, Klessig实验室已经分离鉴定了烟草NOS, 并认为它是甘氨酸脱羧酶P蛋白的一种变体形式, 在不同的P蛋白序列中, 只有少数作用域与动物的NOS有联系^[52]。这是迄今在植物中第一次发现与哺乳动物NOS相似的酶。因此, 我们认为可以此为契机, 今后应对更多其它植物中的NOS进行鉴定并作相关生化性质的研究, 对其编码基因的确认也应是当前及今后一段时间内需要探讨的问题。

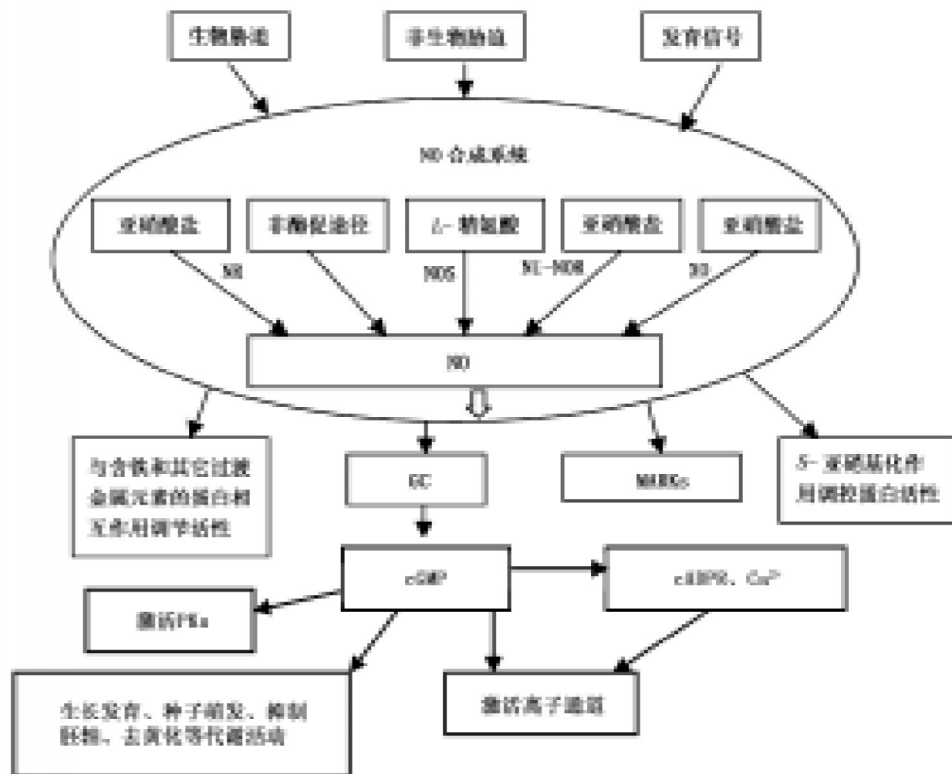


图1 NO的生物合成和信号转导途径示意^[4,8]

植物与病原的相互作用是一个复杂的系统, 涉及到多种信号分子的交互影响, 在研究NO及其产物对病原的作用过程的同时, 也要考虑到其它信号分子的交叉影响以及病原体对NO的反作用机制。植物中的NOS已得到克隆, 今后可通过

对其编码基因的研究, 采用基因敲除技术选择性地剔除NOS编码基因, 从而获得NOS突变株, 比较NOS野生型植株和其突变体对病原抵抗力的异同, 进一步评价NO在植物抗病中的效应; 进而通过转基因技术提高植物抗病能力。

迄今为止, NO 的研究大都是通过外源 NO 或者外加 NO 供体方法研究植物细胞生理和病理过程变化的, 而对内源 NO 起源机制的研究不多。Leshem 等^[53]的实验证实, 内源 NO 作为植物中调节成熟的因子, 与乙烯共同调节植物的开花和衰老过程。今后对这一领域要开展内源 NO 的定量检测方法和内源 NO 合成机制的研究。由于内源 NO 合成的途径很多, 因此, NO 生物合成途径的分类鉴定也很重要。其次, 可以通过检测不同胁迫强度下拟南芥突变株 *ABI1* 和 *ABI2* 以及野生型的 NR 活性和在相同胁迫刺激下内源 NO 产量来研究内源 NO 在植物中的作用机制。再次, 不同的 NO 供体处理植物常产生不同的效应, 对此也应作定量分析并以之区分外源和内源 NO 的作用。最后, 在应用外源 NO 供体时, 还要考虑 NO 的二元性, 精确地研究其剂量效应关系, 并以此确定 NO 保护作用 and 毒害作用浓度范围。还有一个问题也值得探讨, 大家都知道 NO 的信号转导是涉及到气孔运动和胞内钙通道变化的, 所以也可以通过 NR 抑制剂处理来研究气孔运动和钙通道活性的变化, 或者用免疫学方法研究 NO 下游信号分子(如蛋白激酶等)的胞内定位。

有人认为, NO 是生命早期进化中最早的抗氧化成分之一^[54]。因此, 从进化角度研究从低等植物到高等植物的进化过程中植物中 NO 的生理效应变迁、合成途径的差异和功能的更替不仅很有意义, 而且也可作为研究 NO 信号分子机制提供参考。

现在已知植物胞内对 NO 的应答涉及 cGMP 的产生、cADPR 以及胞质钙的上升, 但迄今人们对这些反应的细胞定位和精确生化机制细节尚不清楚; NO 下游信号分子的定量分析以及负责这些信号分子合成和降解的酶的鉴定和编码基因的克隆也是亟待解决的问题^[4]。由 NO 诱导的蛋白激酶、磷酸化酶、转录因子、离子通道以及其它信号蛋白的研究鉴定和定性分析也很重要。对于这些问题可以采用转基因方法。此外, 应寻找拟南芥以外的合适模式植物研究 NO 作用机制, 尤其是 NO 受体和感受器的研究。

参考文献

- 钟慈声, 孙安阳. 一氧化氮的生物医学. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 30~31
- Durner J, Wendehenne D, Klessig DF. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:10328~10333
- Delledonne M, Xia Y, Dixon RA et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394:585~588
- Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol*, 2003, 159(1):11~35
- Morot-Gaudry-Talarmin Y, Rockel P, Moureaux T et al. Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco. *Planta*, 2002, 215(5):708~715
- Cooney RV, Harwood PJ, Custer LJ et al. Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids. *Environ Health Perspect*, 1994, 102:460~462
- Durner J, Klessig DF. Nitric oxide as a signal in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2:369~374
- Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide in plants: the history is just beginning. *Plant Cell Environ*, 2001, 24:267~278
- Sutherland MW. The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1991, 39:79~94
- Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. *Planta*, 1999, 208:337~344
- Stamler JS. Redox signaling: nitrosylation and related targets interaction of nitric oxide. *Cell*, 1994, 78:931~936
- Beligni MV, Laxalt AM, Lamattina L. Putative role of nitric oxide in plant-pathogen interactions. In: Moncada S, Toda N, Maeda H (eds). *The Biology of Nitric Oxide*. London: Portland Press, 1997. 250
- Fritzeimer KH, Cretin C, Kombrink E et al. Transient induction of phenylalanine ammonia-lyase and 4-coumarate: CoA ligase mRNAs in potato leaves infected with virulent or avirulent races of *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol*, 1987, 85:34~41
- Schröder M, Hahlbrock K, Kombrink E. Temporal and spatial patterns of 1, 3-β-glucanase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *Plant J*, 1992, 2:161~172
- Laxalt AM, Cassia RO, Sanllorenti PM et al. Accumulation of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase RNA under biological stress conditions and elicitor treatments in potato. *Plant Mol Biol*, 1996, 30:961~972
- Huang JS, Knopp JA. Involvement of nitric oxide in *Ralstonia solanacearum* induced hypersensitive reaction in tobacco. In: Prior P, Elphinstone J, Allen C (eds). *Proceedings of the Second International Wilt Symposium*. France: INRA. Versailles, 1997
- Hammond-Kosack KE, Jones JDG. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell*, 1996, 8:1773~1791
- Ferrer MA, Barcelo AR. Differential effects of nitric oxide on peroxidase and H₂O₂ production by the xylem of *Zinnia elegans*. *Plant Cell Environ*, 1999, 22:891~897
- Caro A, Puntarulo S. Nitric oxide decreases superoxide anion generation by microsomes from soybean embryonic axes. *Physiol Plant*, 1998, 104:357~364
- Kaiser WM, Huber SC. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. *J Exp Bot*, 2001, 52 (363):1981~1989
- Van Camp W, Van montagu M, Inze D. H₂O₂ and NO: redox signals in disease resistance. *Trends Plant Sci*, 1998, 3:330~334

- 22 Levine A, Tenhaken R, Dixon R et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell Develop Biol*, 1994, 79:583~593
- 23 Delledonne M, Zeier J, Marocco A et al. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:13454~13459
- 24 Yamasaki H, Sakihama Y, Takahasli S. An alternative pathway for nitric oxide production in plant: new features of an old enzyme. *Trends Plant Sci*, 1999, 4:129~129
- 25 Beligni MV, Lamattina L. Is nitric oxide toxic or protective? *Trends Plant Sci*, 1999, 4:299~300
- 26 Leshem YY, Haramaty E, Iluz D et al. Effect of stress nitric oxide (NO): Interaction between chlorophyll fluorescence galactolipid fluidity and lipoxygenase activity. *Plant Physiol Biochem*, 1997, 35:573~579
- 27 Leshem YY. Nitric oxide in biological systems. *Plant Growth Regul*, 1996, 18 (3):155~159
- 28 Lamattina L, Beligni MV, Garcia-Mata C et al. Method of enhancing the metabolic function and the growing conditions of plants and seeds. US Patent, 2001, US 6242384 B131
- 29 Neill SJ, Desikan R, Clarke A et al. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol*, 2002, 128:13~16
- 30 Garcia-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells. *Plant Physiol*, 2002, 128:790~792
- 31 Desikan R, Griffith 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(25):16314~16318
- 32 Zhu JK. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*. 2001, (6):66~71
- 33 Ruan HH, Shen WB, Ye MB et al. Protective effects of nitric oxide on salt stress-induced oxidative damage to wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Chin Sci Bull*, 2002, 7(8):677~681
- 34 Zhang H, Shen WB, Xu LL. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress. *Acta Bot Sin*, 2003, 45:901~905
- 35 Garcês H, Durzan D, Pedroso MC. Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*. *Ann Bot*, 2001, 87:567~574
- 36 Orozco-Cardenas ML, Ryan CA. Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants. *Plant Physiol*, 2002, 130(1):487~493
- 37 Pedroso MC, Magalhaes JR, Durzan D. Nitric oxide induces cell death in *Taxus* cells. *Plant Sci*, 2000, 157:173~180
- 38 Rao MV, Davis KR. The physiology of ozone induced cell death. *Planta*, 2001, 213:682~690
- 39 Mackerness SA-H, John CF, Jordan B et al. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Lett*, 2001, 489:237~242
- 40 Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ et al. Nitric oxide directly activate calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*, 1994, 368:850~853
- 41 Pfeifer S, Jankstin B, Jessner G et al. Gaseous nitric oxide stimulates guanosine-3,5-cyclic monophosphate (cGMP) formation in spruce needles. *Phytochem*, 1994, 36:259~262
- 42 Bowler C, Flhur R. The role of calcium and activated oxygens as a signal for controlling cross-tolerance. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(6):241~246
- 43 Wendehenne D, Pugin A, Klessig DF et al. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(4):177~183
- 44 Xu L, Eu JP, Meissner G et al. Activation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) by poly-S-nitrosylation. *Science*, 1998, 279:234~237
- 45 Kumar D, Klessig DF. Differential induction of tobacco MAP kinases by the defense signals nitric oxide, salicylic acid, ethylene and jasmonic acid. *Mol Plant-Microbe Inter*, 2000, 13:347~351
- 46 Samuel MA, Miles GP, Ellis BE. Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signaling in plants. *Plant J*, 2000, 22:367~376
- 47 Chandra S, Martin GB, Low PS. The Pto kinase mediates a signal pathway leading to the oxidative burst in tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:13393~13397
- 48 Hausladen A, Fridovich I. Superoxide and peroxynitrite inactivate aconitase, but nitric oxide does not. *J Biol Chem*, 1994, 269:29405~29408
- 49 Navarre DA, Wendehenne D, Durner J et al. Nitric oxide modulates the activity of tobacco aconitase. *Plant Physiol*, 2000, 122:573~582
- 50 Durner J, Shah J, Klessig DF. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci*, 1997, 2(7):266~274
- 51 Huang X, Von Rad U, Durner J. Nitric oxide induces transcriptional activation of the nitric oxide-tolerant alternative oxidase in *Arabidopsis* suspension cells. *Planta*, 2002, 215(6):914~923
- 52 Chandok MR, Ytterberg AJ, Wijk KJ 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
- 53 Leshem YY, Wills RBH, Ku WV. Evidence for the function of the free radical gas - nitric oxide (NO center dot) - as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36:825~833
- 54 Feelisch M, Martin JF. The early role of nitric oxide in evolution. *Tree*, 1995, 10:496~499