

一氧化氮在植物中的生理功能

史庆华 赖齐贤 朱祝军* 钱琼秋

(浙江大学园艺系, 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310029)

摘要 一氧化氮是植物体内一种重要的活性分子, 它对植物的种子萌发、生长发育、气孔运动、呼吸作用以及抗逆反应等生理过程起重要的调节作用, 与植物激素存在密切关系。现对一氧化氮在植物中的生理功能进行综述。

关键词 一氧化氮; 植物; 生理功能

一氧化氮(NO)是一种重要的生物活性分子, 它较早地被应用于血管松弛、神经转导及先天免疫等医学研究, 曾被美国《科学》杂志选为1992年度的明星分子。而有关NO在植物中的作用, 20世纪90年代才开始引起科学家的关注。现已成为植物生物学领域的一个研究热点。研究表明, NO对植物的种子萌发、生长发育、气孔运动、呼吸作用以及抗逆反应等生理过程均起重要的调节作用。已经有人把它当作一种新的植物激素^[1]。

1 植物中NO的生物合成

在哺乳动物中, 内源性NO由一氧化氮合成酶催化生成(nitric oxide synthase, NOS), NOS是一种含有铁原卟啉IX、四氢生物-L-喋呤(H_4BiP)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和黄素单核苷酸(FMN)四个亚基的血红蛋白。在它的上面还有钙调蛋白(CaM)、L-精氨酸和NAD(P)H的结合位点^[2]。其反应过程如下: $L\text{-精氨酸} + O_2 \rightarrow NO + L\text{-胍氨酸}$ 。在NO的合成过程中, 首先NOS中的FAD/FMN接受由NADPH提供的电子, 使NOS呈还原型, 还原型的NOS在 Ca^{2+}/CaM 和 O_2 的协助下, 使L-精氨酸末端胍基的氮原子羟化生成中间产物 $N^w\text{-羟基-L-精氨酸}$ 而结合在NOS上。羟化的L-精氨酸在NADP作用下进一步生成NO和胍氨酸。植物体中是否存在类似动物的NOS已经成为目前研究的焦点。越来越多的试验表明, 植物体中很可能存在这种酶^[3,4]。在使用抗NOS的单克隆抗体检测植物组织时发现专一的免疫反应蛋白^[5], 但至今还没有得到NOS的基因和蛋白质。

NO的产生并不仅仅限于植物体中存在NOS的情况下, 除此之外, 还可以通过多种酶促和非酶促反应生成(图1)。植物中的硝酸还原酶(NR)是含有一

条电子传递链的氧化还原系统, 它可以将电子从NAD(P)H传递到 NO_3^- 。早在1979年, Klepper^[6]就提出了NO的产生与NR的活性有密切关系。后来, Harper^[7]在分析大豆叶片NR时检测到 NO_x ($NO+NO_2$)的产生, 并且对植株通无氧气体(N_2 或Ar)时 NO_x 的产生量比通含氧气体(空气或 O_2)高的多。Nelson等^[8]在分析组成型NR (constitutive NR, cNR)缺失突变体大豆NR活性时没有发现 NO_x 的产生, 由于cNR是豆科植物特有的酶, 所以通过NR产生NO曾一度被认为是豆科植物特有的现象, 但后来发现一些非豆科植物如甘蔗、玉米、菠菜和烟草等植物在一定条件下也能释放出NO气体^[9]。Yamasaki等^[10]利用Clarke-型NO检测器, 发现了在生理pH范围内玉米中NR可以催化 NO_3^- 生成NO气体。

虽然NR可以催化 NO_3^- 形成NO, 但直接的底物应该是 NO_2^- ^[11], 并且依赖于NR的NO形成受多种条件影响, 首先与细胞内 NO_3^- 的积累浓度有关^[12]。在正常情况下细胞质中 NO_3^- 还原后形成的 NO_2^- 转运到叶绿体后被亚硝酸还原酶迅速转化为 NH_4^+ ^[13], 因此如果正常的植株保持一个高效的光合电子传递系统, 由NR催化形成的 NO_2^- 会被迅速还原, NO就难以形成。但是当植物的光合活性受到抑制或在缺氧的条件下, NO_2^- 就会大量积累^[6,14], 增加了NO的形成。当光合电子传递系统不能为亚硝酸还原酶(NiR)提供还原态铁氧化还原蛋白时, 细胞质中的 NO_2^- 就会大量积累, 并同时伴随着活性氧的大量产生, 此时NR就会催化 NO_2^- 形成NO。

在非酶促NO的形成中, 抗坏血酸(AA)担当着重要的角色。Horemans等^[15]发现当叶绿体和非原生

收稿日期: 2004-05-10 接受日期: 2004-09-15

国家自然科学基金重点项目资助 (No.30230250)

*通讯作者。Tel/Fax: 0571-86971354, E-mail: zhjzhu@zju.edu.cn

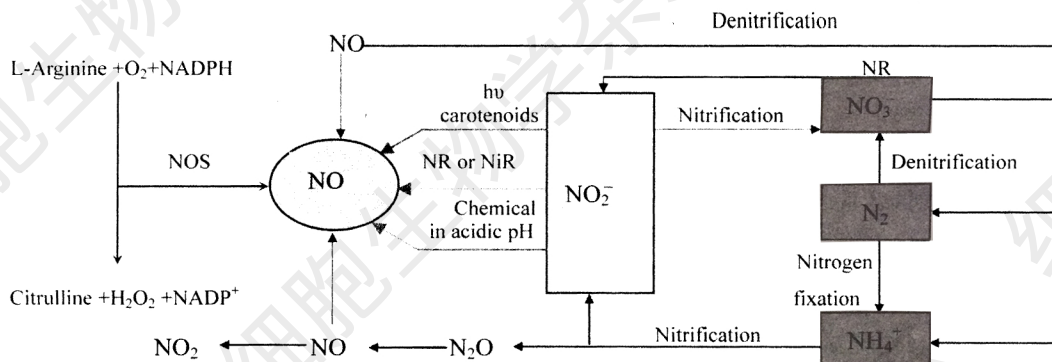


Fig.1 Possible pathway of nitrogen monoxide production in plants^[17]

质体空间的 pH 低于 4 时, 存在于其中的 AA 可以催化 NO 的形成。实际上还原型的抗坏血酸是在糊粉中合成并输出的。在质膜上糊粉有一个很强的质子泵可以使膜外的 pH 降到 3 以下, 在 NO₂⁻ 存在的条件下, NO 就在 AA 和低 pH 的共同作用下形成^[16]。另外, 植物叶片在光和类胡萝卜素的作用下也可以将 NO₂⁻ 还原为 NO。

2 NO 在植物生理代谢中的功能

2.1 对植物生长发育的调节

Caro 等^[18]发现大豆种子在萌发过程中有 NO 产生, 因此推测 NO 对大豆种子的萌发可能具有重要的作用。在其他作物上的研究表明 NO 可以通过替代光照和打破休眠促进种子的萌发^[19]。另有研究报告 NO 对既不需要光也不存在休眠的羽扇豆种子的萌发也有促进作用, 在这些过程中 NO 可能发挥了类似赤霉素(GA)的功能^[20], 另外 NO 也可以降低重金属和盐胁迫对其萌发的抑制, 这与 NO 提高了羽扇豆种子的抗氧化能力, 从而降低了重金属和盐胁迫造成的氧化胁迫有关^[20]。NO 清除剂及鸟苷酸环化酶抑制剂亚甲基蓝可以抑制光刺激的皇后树种子萌发, 而 NO 供体硝普钠(SNP)和 N-亚硝基-乙酰青霉胺(SNAP)可促使该植物种子萌发, 在此过程中 NO 可能通过以下途径发挥作用: 首先 NO 能与水溶液中分子态的氧反应生成硝酸根和亚硝酸根, 硝酸根和亚硝酸根可以通过与光敏色素反应促进种子的萌发, 但是关于其机制还需进一步研究; 其次, NO 能与很多酶反应中心的过渡金属离子反应, 改变酶活性, 促进种子的萌发^[21]。NO 除了对种子的萌发影响外, 对植物叶片和根系的生长也具有重要的调节作用^[20,22]。在植株的光形态建成方面, NO 也发挥着重要的作用, 它不仅刺激光依赖性的莴笋种子萌发, 而且参与了黄化苗的脱黄化作用和

下胚轴伸长的抑制作用^[23]。NO 可能作为对乙烯有抑制作用的因子延缓植物的成熟衰老, 鳄梨和香蕉未成熟果实中的 NO 含量分别是成熟果实中含量的 10 倍和 4 倍, 随着果实的成熟和衰老, 其内源 NO 的含量逐渐降低, 乙烯的含量逐渐升高^[24]。用外源 NO 处理培养的豌豆叶片, 在一定范围内随外源 NO 浓度的升高, 叶圆片的相对生长率逐渐增大^[25]。

2.2 NO 对铁代谢的影响

铁是叶绿素合成和叶绿体发育所必需的元素。在植物叶片中铁需要穿过几层膜才能到达叶绿体, 关于其转运机制目前还不十分清楚。Graziano 等^[26]发现 NO 对植物叶片中铁向叶绿体的分配具有重要的作用, 不用 NO 处理的缺铁玉米微管束鞘的叶绿体中类囊体和淀粉粒明显减少, 而用 NO 预处理的缺铁植株, 叶绿体的形态特征、类囊体和淀粉粒含量与正常铁浓度处理没有明显差异^[27]。在叶片中铁含量相近的情况下, 外源 NO 明显增加了叶绿体中铁的分配比例, 提高了叶绿素的含量。NO 存在几种不同的氧化还原状态, 它们分别是 NO·、NO⁻ 和 NO⁺。NO 库的组成与微环境的 pH 值和氧化还原势有关。Stamler 等^[28]发现 NO 能够作为氧化剂或者抗氧化剂调节细胞内氧化还原系统的平衡, 这可能与它增加铁的利用率有关。早在 1991 年 Goretski 等^[29]就发现 NO· 通过与 Fe³⁺ 反应可以生成 NO⁺ 和 Fe²⁺。而 Fe³⁺ 还原为 Fe²⁺ 有利于铁的穿膜运输。尽管铁是植物生长所必需的元素, 但是如果以游离态的离子存在浓度太高时, 则会通过 Haber-weiss 反应生成大量的活性氧, 对植物细胞膜、DNA 和蛋白质造成氧化伤害^[30-32]。因此铁离子的平衡对植物维持正常的代谢是非常重要的, 而铁离子的平衡及其功能的发挥与它和蛋白质的结合密切相关。Murgia 等^[33]发现, 外源 NO 增加了拟南芥中铁蛋白的表达量, 这一方面有利于增加铁の利用, 另一方面又可以减

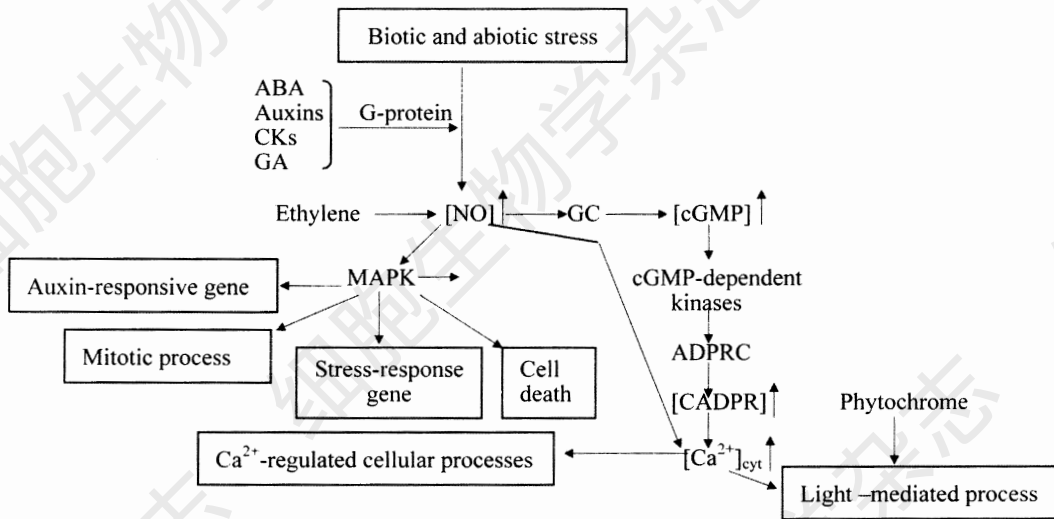


Fig.2 Schematic representation of the signaling network involving plant hormones, NO, and cellular messengers during plant responses to environmental stresses^[2], NO acts as a crossroad in hormone signaling to trigger metabolic and physiological responses

轻由于游离铁离子积累而造成的毒害。

2.3 NO 的信号转导作用及其对植物抗逆性的调节

植物通过改变细胞代谢和激发不同的防御机制来应对生物胁迫和非生物胁迫，在胁迫条件下植物的生存能力依赖于对外界刺激的识别、产生和传递信号、基因表达、代谢调节^[34]。许多实验表明 NO 是重要的能够激活植物过敏性反应和系统获得性抗性的内源信号分子，近年来已引起科学家的特别关注。在植物抗病反应中，一方面 NO 可以直接杀死病菌；另一方面植物体内 NO 可以通过依赖于环状鸟苷酸(cyclic GMP, cGMP)和不依赖于 cGMP 两条途径介导其信号转导作用，诱导植物获得性抗性的形成，前者 NO 通过与其可溶性受体鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase GC) 的铁离子结合，改变 GC 的立体结构从而提高其活性，并进一步导致细胞内第二信使 cGMP 生成的增加，激活依赖于 cGMP 的蛋白激酶，最终诱导植物 PAL 和 PR-1 等抗病相关基因的表达^[35]。在不依赖于 cGMP 途径中，NO 通过抑制顺乌头酸酶等非血红素含铁类酶活性来参与植物抗病反应。NO 抑制植物线粒体顺乌头酸酶活性可导致柠檬酸的积累，进而诱导与抗病有关的交替氧化酶，同时植物胞质顺乌头酸酶同工酶被 NO 氧化失活后可转变为铁调节蛋白，进而调节体内铁稳态来影响与植物抗病有关的·OH 的生成^[36]。另外，NO 还可以通过改变活性氧代谢，降低叶绿素降解等途径来减轻病害对植物的伤害^[37]。

NO 不仅能诱导植物抵抗真菌、细菌和病毒等生物胁迫，而且大量的研究表明它还可以诱导植物对高温、水分亏缺和盐害等非生物胁迫的抗性。外

源低浓度 NO 对小麦盐胁迫具有明显的缓解作用，0.1 和 1 mmol/L 的 SNP 处理明显缓解了盐胁迫下小麦叶片的叶绿素降解、MDA 含量积累和质膜相对透性的上升^[38]。Mata 等^[39]等的研究表明 NO 可以通过诱导气孔关闭增加小麦对干旱胁迫的抗性。

2.4 NO 与植物激素的关系

因为 NO 能够调节植物的生长发育，并且因浓度的不同而具有不同的调节作用，所以有人把它作为一种新的激素^[1]。大量的试验表明 NO 与多种激素具有相同或相近的调节作用，它与目前已知的植物激素有密切关系(图 2)。

Gouvêa 等^[40]发现适宜浓度的 NO 可以诱导玉米根尖的伸长，它可能具有与 IAA 相同的信号转导途径，而与 IAA 具有类似的作用。Pagnussat 等^[41]发现用 IAA 处理黄瓜外植体，有 NO 生成，并且 IAA 诱导黄瓜外植体不定根发生与 NO 的生成具有密切的关系。

干旱通常与脱落酸(ABA)的积累以及 ABA 调节的基因表达有关，研究表明 ABA 是通过调节保卫细胞中 K⁺ 和 Ca²⁺ 浓度而控制气孔的开闭，增强植物对干旱的抗性^[42-44]。Mata 等^[45]发现用 NO 处理植物的表皮层与 ABA 具有相似的功能，也可以诱导植物发生依赖 Ca²⁺ 的气孔关闭，增加植物对干旱胁迫的耐性。在豆类作物中，ABA 处理导致 NO 含量明显提高，而且 NO 对 ABA 诱导的气孔关闭是必需的^[46,47]。

细胞分裂素(CK)对植物光形态的建成具有重要的调控作用，外源 CK 明显抑制了生长在黑暗状态中植物下胚轴的伸长^[48]，在拟南芥和莴苣中施用 NO 得到了与 CK 处理相同的结果^[23]，因此 CK 和 NO

都可以替代光照对下胚轴的伸长产生抑制作用。在莧类植物中, CK 和 NO 处理都可以促进 β -花青素的合成, 而且 NOS 抑制剂和 NO 清除剂能够抑制 CK 的这一促进作用^[2,49], 这表明了 NO 可能对 CK 调控的花青素代谢过程是必需的。

在植物组织的成熟和衰老过程中, NO 和乙烯的此消彼长表明了二者在调控植物衰老过程中存在拮抗作用, 外源 NO 可以通过抑制乙烯的释放而延长水果的保鲜时间^[25]。Leshem 等^[24]发现草莓和鳄梨在成熟过程中, NO 和乙烯存在负相关, 在未成熟的果实中含有较高水平的 NO 和较低水平的乙烯, 而在成熟过程中, NO 含量逐渐降低, 乙烯含量逐渐升高。

3 展望

NO 对植物代谢的调节是非常广泛的, 但是关于它在植物体内的信号功能目前了解的还非常有限。大部分关于 NO 的研究结果都是通过 NO 供体处理得到的, 而关于内源 NO 的产生机制、NO 在植物细胞和组织间的传递途径以及 NO 的靶分子等问题还需要进行深入研究。外源 IAA、ABA 和 CK 处理均导致植物体内 NO 的升高, 那么它们之间是怎样协同发挥功能的, 将是植物学家和植物生理学家研究的一个热点方向。

参考文献 (References)

- [1] Belogni MV *et al. Trends Plant Sci*, 2001, **6**: 508
- [2] Lamattina L *et al. Annu Rev Plant Bio*, 2003, **54**:109
- [3] Zhao Z, *et al. Aust J Plant Physiol*, 2001, **28**:1055
- [4] Xing H *et al. Plant Growth Reg*, 2004, **42**: 61
- [5] Belogni MV *et al. Plant Cell Environ*, 2001, **24**: 267
- [6] Klepper L. *Atmos Environ*, 1979, **13**: 537
- [7] Harper JE. *Plant Physiol*, 1981, **68**: 1488
- [8] Nelson RS *et al. Plant Physiol*, 1983, **72**: 503
- [9] Wildt J *et al. J Geophys Res — Atmospheres*, 1997, **102**: 5919
- [10] Yamasaki H *et al. Trends Plant Sci*, 1999, **4**: 128
- [11] Yamasaki H *et al. FEBS Lett*, 2000, **468**: 89
- [12] Rockel P *et al. J Exp Bot*, 2002, **53**: 103
- [13] Sinclair J. *Photosynth Res*, 1987, **12**: 255
- [14] Botrel A *et al. Plant Physiol Biochem*, 1996, **34**: 645
- [15] Horemans N *et al. Trends Plant Sci*, 2000, **5**: 263
- [16] Bethke PC *et al. Plant Cell*, 2004, **16**: 332
- [17] Wojtaszek P. *Phytochem*, 2000, **54**: 1
- [18] Caro A *et al. Free Radic Res*, 1999, **31**: S205
- [19] Giba Z *et al. Seed Sci Res*, 2003, **13**: 187
- [20] Kopyra M *et al. Plant Physiol Biochem*, 2003, **41**: 1011
- [21] Giba Z *et al. Plant Growth Reg*, 1998, **26**: 175
- [22] Leshem YY *et al. J Plant Physiol*, 1996, **148**: 258
- [23] Beligni MV *et al. Planta*, 2000, **210**: 215
- [24] Leshem YY *et al. J Exp Bot*, 2000, **51**: 1471
- [25] Leshem YY *et al. Plant Physiol Biochem*, 1998, **36**: 825
- [26] Graziano M *et al. Plant Physiol*, 2002, **130**: 1852
- [27] Stocking CR *et al. Plant Physiol*, 1975, **55**: 626
- [28] Stamler JS *et al. Science*, 1992, **258**: 1898
- [29] Goretski J *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **175**: 901
- [30] Bowler C *et al. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, **43**: 83
- [31] Guerinot ML *et al. Plant Physiol*, 1994, **104**: 815
- [32] Noctor G *et al. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, **49**: 249
- [33] Murgia I *et al. Plant J*, 2002, **30**: 521
- [34] Rao MV *et al. Plant Physiol*, 1997, **115**: 137
- [35] Durner J *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 10328
- [36] Navarre DA *et al. Plant Physiol*, 2000, **122**: 573
- [37] Laxalt AM *et al. Eur J Plant Pathol*, 1997, **103**: 643
- [38] 阮海华等. *科学通报*, 2001, **46**: 1993
- [39] MATA CG *et al. Plant Physiol*, 2001, **126**: 1196
- [40] Gouvêa CMCP *et al. Plant Growth Reg*, 1997, **21**: 183
- [41] Pagnussat G *et al. Plant Physiol*, 2002, **129**: 954
- [42] Blatt MR *et al. Physiol Plant*, 1997, **100**: 481
- [43] Blatt MR. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, **3**: 196
- [44] Schroeder JI *et al. Nature*, 2001, **410**: 327
- [45] Garcia-Mata G *et al. Plant Physiol*, 2001, **126**: 1196
- [46] Garcia-Mata G *et al. Plant Physiol*, 2002, **128**: 790
- [47] Neill SJ *et al. Plant Physiol*, 2002, **128**: 13
- [48] SU W *et al. Plant Physiol*, 1995, **108**: 1423
- [49] Scherer GFE *et al. Plant Growth Reg*, 2000, **32**: 345

Physiological Function of Nitric Oxide in Higher Plant

Qing-Hua Shi, Qi-Xian Lai, Zhu-Jun Zhu*, Qiong-Qiu Qian

(Key Laboratory of Horticultural Plant Development and Biotechnology, Ministry of Agriculture;
Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Nitric oxide (NO) is an important active molecular in plants, it plays important roles in modulating germination, growth, development, stomatal movement, respiration and responses to stress condition, and its function is closely related with hormonal metabolism. Based on the previous research, The review has summarized physiological function of NO in the higher plant.

Key words nitric oxide; plant; physiological function

Received: May 10, 2004 Accepted: September 15, 2004

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30230250)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-86971354, E-mail: zhjzhu@zju.edu.cn