

一氧化氮作为过氧化氢下游信号分子参与调节 白菜幼苗对镉胁迫的耐受性

马晓丽* 冀瑞萍

(晋中学院生物科学与技术学院, 晋中 030600)

摘要 信号分子过氧化氢(H_2O_2)和一氧化氮(NO)在缓解重金属镉(Cd)对植物的胁迫过程中分别发挥着重要的作用。该实验通过生理生化技术研究了白菜幼苗Cd胁迫时 H_2O_2 和NO之间的关系。结果表明, H_2O_2 预处理可以增强白菜幼苗对Cd的耐受, 包括减少丙二醛(malondialdehyde, MDA)的浓度、降低电解质的渗漏、增强一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)的活力, 进而提高体内NO的水平; 用外源NO的供体硝普钠预处理白菜幼苗, 同样减少MDA的浓度以及电解质的渗漏。此外, 白菜幼苗对Cd的耐受性在被 H_2O_2 增强的基础上, 还能进一步被NO增强, 且这种增强作用也会受到NO的清除剂和合成抑制剂的抑制。在Cd的胁迫下, H_2O_2 预处理可以减少白菜幼苗地上部分对Cd的富集, 但根中Cd的含量不受 H_2O_2 的影响, 而且NO会加剧由 H_2O_2 引起的白菜幼苗地上部分Cd的富集的减少。以上结果表明, Cd胁迫时 H_2O_2 可通过增强NOS的活性, 促进生成NO, 进而提高白菜幼苗对Cd的耐受性。

关键词 一氧化氮; 过氧化氢; 镉胁迫; 白菜幼苗

Nitric Oxide Acting as A Downstream Signaling Molecule of H_2O_2 Regulates Cd Tolerance in *Brassica var. pekinensis*

Ma Xiaoli*, Ji Ruiping

(College of Life Science, Jinzhong University, Jinzhong 030600, China)

Abstract Hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitric oxide (NO) acting as a endogenous signal regulate and respond to a variety of biotic and abiotic stresses including cadmium (Cd) stress in plants. In this study, the interaction between H_2O_2 and NO in Chinese cabbage (*Brassica var. pekinensis*) under Cd stress was investigated with physiological and biochemical method. The results indicated that the seedlings pretreated with H_2O_2 exhibited enhanced tolerance to Cd stress, including the decreasing of malondialdehyde (MDA) concentration, the reduction of electrolyte leakage, the increasing of the nitric oxide synthase (NOS) activity and the raising of endogenous NO content. In parallel, the very similar results were shown when the seedlings were pretreated with sodium nitro prusside, a donor of exogenous NO. It was further verified with pharmacological experiments that the enhanced tolerance to Cd stress in seedlings pretreated by H_2O_2 was dramatically repressed by NO scavenger and inhibitor. Accordingly, it is concluded that the enhanced tolerance to Cd by H_2O_2 in seedlings highly depended on the endogenous NO signaling, which is fulfilled by enhancement of NOS activity with the application of H_2O_2 .

Keywords NO; H_2O_2 ; Cd stress; *Brassica var. pekinensis*

收稿日期: 2015-11-04

接受日期: 2015-11-25

国家自然科学基金(批准号: 31501772)和山西省高等学校科技创新基金(批准号: 20101129)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0354-3052658, E-mail: mxl425@126.com

Received: November 4, 2015

Accepted: November 25, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31501772) and the Science and Technological Innovation Programs of Higher Education Institutions of Shanxi Province (Grant No.20101129)

*Corresponding author. Tel: +86-354-3052658, E-mail: mxl1425@126.com

网络出版时间: 2016-01-11 10:52:53

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160111.1052.008.html>

植物时刻都在遭受着各种各样的胁迫,如重金属、极端温度、高盐、干旱以及机械损伤等。过多的化学肥料的使用,尤其是磷酸盐肥料的使用,导致了土壤中重金属镉(Cd)含量的增加^[1]。Cd很容易被植物吸收,并且通过木质部迅速转移到植物的籽实当中,通过食物链危害人类的健康。当植物中的Cd含量积累到一定程度,可以抑制光合作用和蒸腾作用,引起氧化胁迫,改变酶的活力,并引起基因表达的改变。在形态学水平,Cd可以引起植物生长迟缓、缺绿还有可能导致死亡。Cd促进了活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,ROS可以损伤许多重要的细胞成分,如脂类、蛋白质和核酸^[2]。植物自身有复杂的抗氧化系统来保护细胞免受氧化损伤^[3]。

一氧化氮(NO)被公认为气体信号分子,长期以来受到越来越多的关注。NO作为一种具有水溶性和脂溶性小分子,具有很短的半衰期和自由基活性,所以它的作用范围主要是临近的细胞^[4]。研究表明,在动物体内,它有着舒张血管、调节血压和血流速度、参与免疫系统、调节细胞凋亡等重要的生理功能^[5-6]。在植物体内,NO方面的研究也进行了几十年^[7]。结果发现,植物中合成NO的酶主要有一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)和硝酸还原酶^[7]。NO在种子萌发^[8-9]、去黄化、根的生长、叶的伸展、花的形成以及果实成熟及衰老^[10-12]中起重要作用。NO在植物体中的抗逆作用包括生物胁迫和非生物胁迫,非生物胁迫中NO可以参与渗透胁迫、干旱胁迫、紫外胁迫以及氧化胁迫。

信号分子过氧化氢(H₂O₂)在种子发芽、植物生长发育以及抗逆生理中发挥重要作用。作为一种易扩散的小分子物质,高浓度的H₂O₂可导致细胞壁结构蛋白交联,损伤细胞甚至诱导程序死亡;但在低浓度下却是胁迫信号分子,诱导多种防御基因和信号蛋白的表达,涉及防御和敏感响应、抗氧化物质、防卫蛋白和激酶、磷酸酶和转录因子等^[13]。植物细胞产生的H₂O₂是ROS的主要产物。一定浓度的H₂O₂预处理幼苗能提高作物抗逆性,并已在低温^[14]、盐胁迫^[15]、高温胁迫^[16]、重金属胁迫等多种胁迫实验中得到验证。但H₂O₂和NO互作对植物Cd耐受性的研究还未见报道。因此,本课题以白菜为材料进行了系列研究,探讨在响应重金属Cd胁迫过程中H₂O₂和NO相互作用关系,为植物应答Cd胁迫提出一个新

的机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验材料为白菜(*Brassica var. pekinensis*)津育75号。选择均匀饱满、大小一致的种子,经次氯酸钠消毒10 min,无菌水清洗3遍,均匀摆放在有三层纱布的培养皿中,每皿放种子25粒。加入适量1/2MS培养基,于正常生长条件下培养:温度23±1 °C,光照度160 μE·m⁻²·s⁻¹,光照周期16/8 h(昼/夜),两周后开始对白菜幼苗进行处理。

实验分为对照组、H₂O₂处理组、NO处理组、NO清除剂处理组、H₂O₂和PITO同时处理组等5组。对照组使用1/2MS培养液培养;H₂O₂处理组用含有0.01 mmol/L H₂O₂的1/2MS培养液培养6 h;NO处理组用0.05 mmol/L NO供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)处理6 h;NO清除剂处理组用含有1 mmol/L PITO(2-4-carboxyphenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide)的1/2MS培养液培养6 h;H₂O₂和PITO同时处理组用含0.01 mmol/L H₂O₂和1 mmol/L PITO的1/2MS培养液培养12 h,之后分出一半材料在含有0.1 mmol/L Cd的1/2MS培养液中培养72 h。

1.2 药 品 和 试 剂

本实验所用药品和试剂有:20 mmol/L HEPES、50 μmol/L PITO、10 mmol/L精氨酸、0.2 mmol/L N-硝基-L-精氨酸甲酯、0.2 mmol/L SNP(NO供体)、1 mmol/L PITO(NO清除剂)、0.5 mmol/L L-NAME(NO抑制剂)。药品均为生工生物工程(上海)股份有限公司产品。

1.3 MDA和电解质渗漏含量测定

MDA测定参照Heath等^[17]的方法,取2 mL上清液,加入2 mmol/L 0.5%(w/v) TBA[溶于20%(w/v)的三氯乙酸TCA]于试管,摇匀后保鲜膜封口,95 °C水浴30 min,冰浴终止,532 nm和600 nm处读数。MDA含量用nmol/g FW表示,利用532 nm与600 nm下的吸光度的差值计算MDA的含量。MDA计算公式为:MDA(nmol/g)=6.45×(D₅₃₂-D₆₀₀)-0.560。

1.4 Cd含量测定

将白菜幼苗的新鲜组织用自来水及去离子水冲洗干净后,105 °C杀青15 min,80 °C烘干至恒重,取干燥后的材料1.5 g置于250 mL烧杯中,加25 mL浓硝

酸过夜浸泡, 并盖一层塑料膜。第2 d于电热恒温台加热40 min, 再加入高氯酸加热至冒浓白烟为止, 待其冷却后加入10 mL 4 mol/L盐酸, 使烧杯内的残渣溶解, 用干净的滤纸滤掉不溶物, 残渣和滤纸用稀盐酸洗涤。将所有液体转入100 mL容量瓶中定容, 静置, 待测。同样, 按照样品的处理步骤制备空白对照。用火焰原子吸收仪上样测量, 以上步骤在通风橱中进行。

1.5 白菜叶片NOS活性的测定

取适量莲座叶加入0.2 mL 20 mmol/L Hepes(pH 7.2)缓冲液冰上研磨, 0.5 mL缓冲液冲洗, 离心取上清液用于试剂盒检测, 把蛋白浓度定为100 mg/L。NOS活性是通过测定释放NO的速率来计算的。将1 mL的上清液依次加入0.8 mL L-Arg缓冲液、0.01 mL促进剂、2 mL终止液, 混匀后在530 nm下测定吸光度(D)值, 每个处理组做3次重复。

1.6 白菜叶片NO含量的测定

按照NO测定试剂盒S0021(上海碧云天生物科技有限公司)说明书进行测定, 按所给公式计算NO浓度。密度计算公式为: NO含量(mol/L)=(测定管吸光度-空白管吸光度)/(标准管吸光度-空白管吸光度)×样品测试前稀释倍数。

1.7 数据统计

用SPSS 18.0系统进行统计分析。所有数据为3次独立实验的平均值。数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。对照和处理之间的差异显著性用Tukey检测进行方差分析。

2 结果

2.1 外源H₂O₂对Cd胁迫白菜幼苗MDA含量和电解质渗漏的影响

生长14 d的白菜幼苗在经过H₂O₂预处理后, 加入含有100 μmol/L CdCl₂、1/2MS液体培养基生长72 h。由图1可知, H₂O₂预处理可以降低MDA的积累, 减少电解质的渗漏。与对照相比, 5个浓度的H₂O₂处理后, 10 μmol/L H₂O₂处理有显著差异。因此, 后续试验我们采用10 μmol/L H₂O₂作为试验浓度。

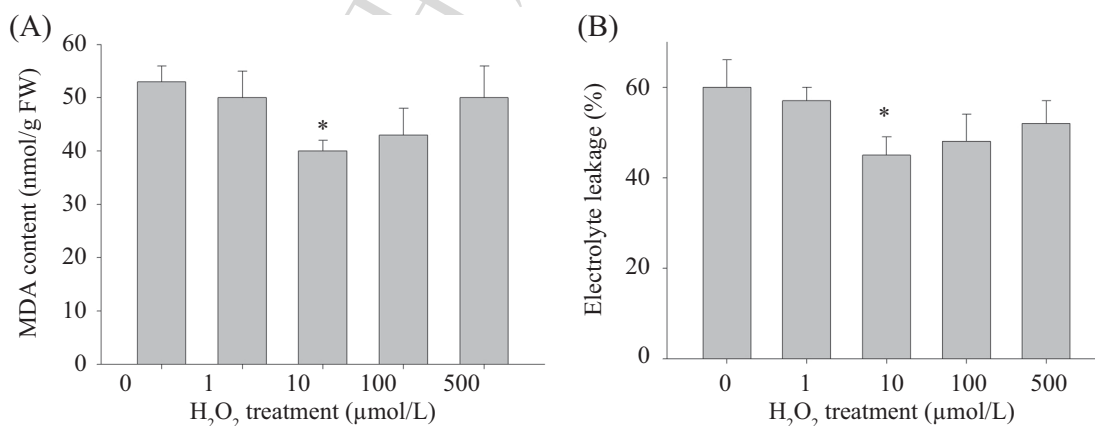
随着H₂O₂浓度的提高, MDA含量增多。高浓度的H₂O₂可能对白菜生长具有毒副作用。以上结果表明, 适当低浓度的H₂O₂预处理可以增加白菜幼苗对Cd的耐受性。

2.2 H₂O₂预处理和Cd胁迫对白菜幼苗一氧化氮合酶的活力以及内源一氧化氮含量的影响

在植物中, NOS对内源NO的产生是至关重要的。Cd预处理后, 白菜幼苗的叶片和根中NOS的活力以及NO的含量均显著提高。随着处理时间的延长, NOS的活力以及NO的含量显著提高。同Cd处理有相似的结果, H₂O₂预处理后, 白菜幼苗的叶片和根中NOS的活力以及NO的含量均显著提高(图2)。

2.3 SNP预处理白菜幼苗对Cd耐受的影响

用0、5、10、50、100、200 μmol/L SNP预处理生长14 d的白菜幼苗。图3所示, 在Cd胁迫下幼苗的MDA的含量和电解质的渗漏得到有效缓解。与对照相比, 50 μmol/L SNP处理后差异显著。因此,

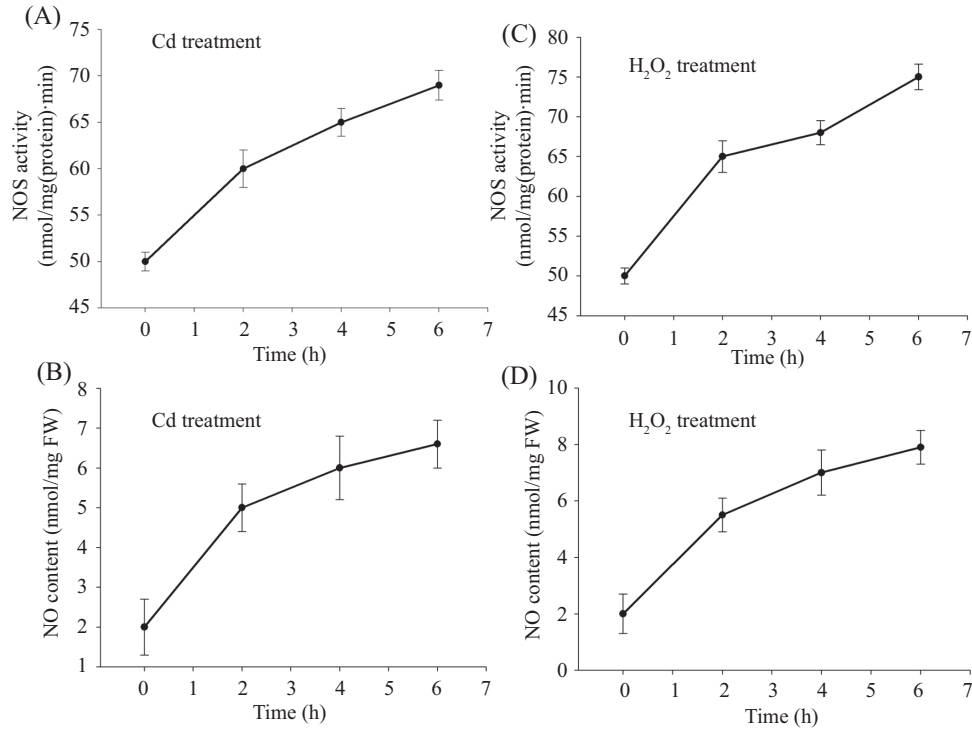


A: H₂O₂(0、1、10、100、500 μmol/L)预处理后, 再用100 μmol/L镉胁迫72 h, 白菜幼苗体内MDA含量的变化; B: H₂O₂(0、1、10、100、500 μmol/L)预处理, 再用100 μmol/L镉胁迫72 h, 白菜幼苗体内电解质渗漏的变化。**P*<0.05, 与0 μmol/L H₂O₂组比较。

A: MDA content of cabbage seedlings with 100 μmol/L Cd stress for 72 h after different concentrations (0, 1, 10, 100, 500 μmol/L) of H₂O₂ pretreatment; B: electrolyte leakage of cabbage seedlings with 100 μmol/L Cd stress for 72 h after different concentrations (0, 1, 10, 100, 500 μmol/L) of H₂O₂ pretreatment. **P*<0.05 vs 0 μmol/L H₂O₂ group.

图1 H₂O₂预处理对Cd胁迫后白菜幼苗MDA含量和电解质渗漏的影响

Fig.1 Effects of H₂O₂ pretreatment on MDA contents and electrolyte leakage of seedlings under Cd stress

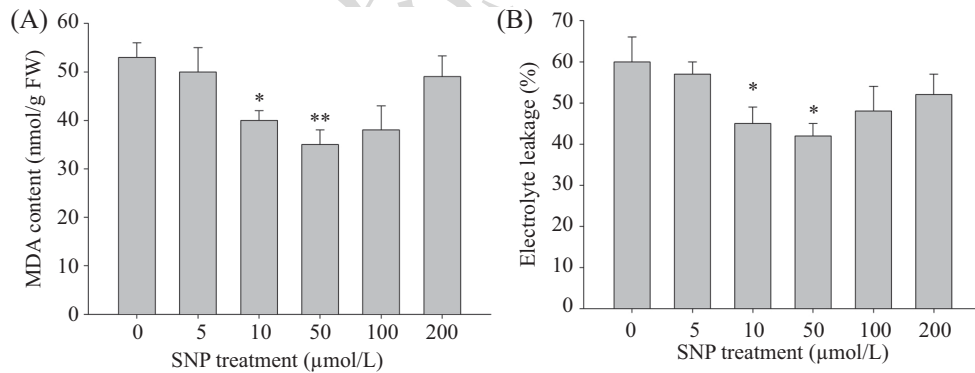


A: Cd处理(0、1、2、3、4、5、6 h)对白菜幼苗NOS活力的影响; B: Cd处理(0、1、2、3、4、5、6 h)对白菜幼苗NO含量的影响; C: H₂O₂(0、1、2、3、4、5、6 h)预处理对白菜幼苗体内NOS活力的影响; D: H₂O₂(0、1、2、3、4、5、6 h)预处理对白菜幼苗体内NO含量的影响。

A: NOS activity of cabbage seedlings with different time (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h) of Cd stress; B: NO content of cabbage seedlings with different time (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h) of Cd stress; C: NOS activity of cabbage seedlings with different time (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h) of H₂O₂ pretreatment; D: NO content of cabbage seedlings with different time (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h) of H₂O₂ pretreatment.

图2 H₂O₂预处理和Cd胁迫对白菜幼苗NOS活力和内源NO含量的影响

Fig.2 Effects of H₂O₂ and Cd pretreatment on NOS activity and endogenous NO contents



A: SNP(0、5、10、50、100、200 μmol/L)处理对白菜幼苗体内MDA含量的影响; B: SNP(0、5、10、50、100、200 μmol/L)处理对白菜幼苗体内电解质渗漏的影响。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与0 μmol/L SNP组比较。

A: MDA content of cabbage seedlings with different concentrations (0, 1, 10, 100, 500 μmol/L) of SNP; B: electrolyte leakage of cabbage seedlings with different concentrations (0, 1, 10, 100, 500 μmol/L) of SNP. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 μmol/L SNP group.

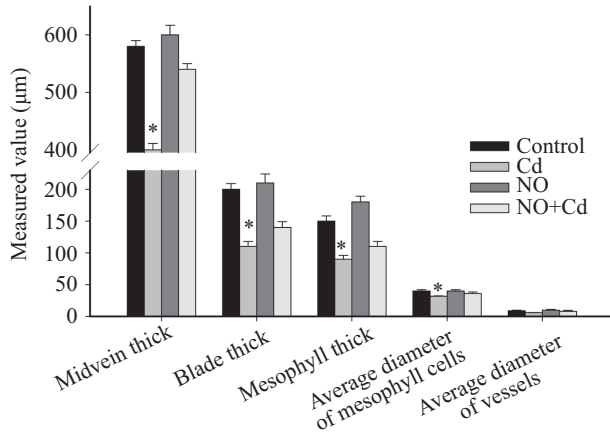
图3 外源NO(SNP)对Cd胁迫下白菜幼苗耐受性的影响

Fig.3 Effects of NO (SNP) pretreatment on the tolerance of cabbage seedlings with Cd stress

在随后的实验中, 确定50 μmol/L SNP来处理白菜幼苗。Cd胁迫下, 较高浓度的SNP(>100 μmol/L)对白菜幼苗是有毒性的。即经较高浓度的SNP处理后, 与对照相比, 叶绿素浓度没有变化, 而电解质的渗漏有大幅度的增加。因此, 50 μmol/L SNP预处理可以

增加白菜对镉的耐受性。

对实验中植物的叶片进行固定、石蜡包埋、切片并进行显微结构观察、测量、统计。主要统计了Cd和NO的协同影响下白菜叶片中脉的厚度、叶片的厚度、叶肉细胞的厚度、叶肉细胞的平均厚度和

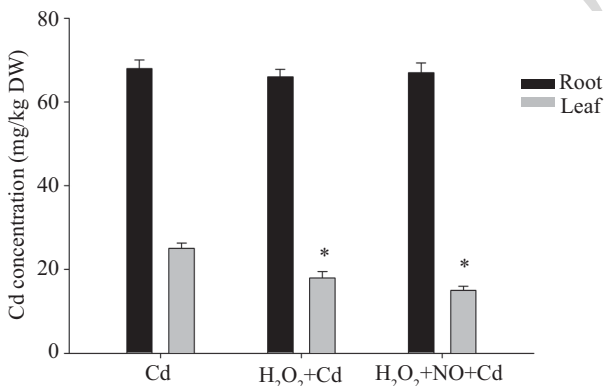


对照组为不用任何药物处理, 于正常条件下生长; Cd组用100 µmol/L镉胁迫72 h; NO组用50 µmol/L SNP处理6 h; NO+Cd组用50 µmol/L SNP预处理6 h后, 再用100 µmol/L镉胁迫72 h。测定各组白菜叶片中脉的厚度、叶片的厚度、叶肉细胞的厚度、叶肉细胞的平均厚度和导管的平均直径。**P*<0.05, 与对照组比较。

Control: normal growth without any medicated feed additives; Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h; NO: 50 µmol/L SNP treated for 6 h; NO+Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h, and then 50 µmol/L SNP treated for 6 h. Measure of midvein thick, blade thick, mespholl thick, average diameter of mespholl cells, average diameter of vessels in cabbage seedling with above treatment. **P*<0.05 vs control group.

图4 镉胁迫下NO对白菜叶片结构的影响

Fig.4 Effects of NO on cabbage leaf blade under Cd stress



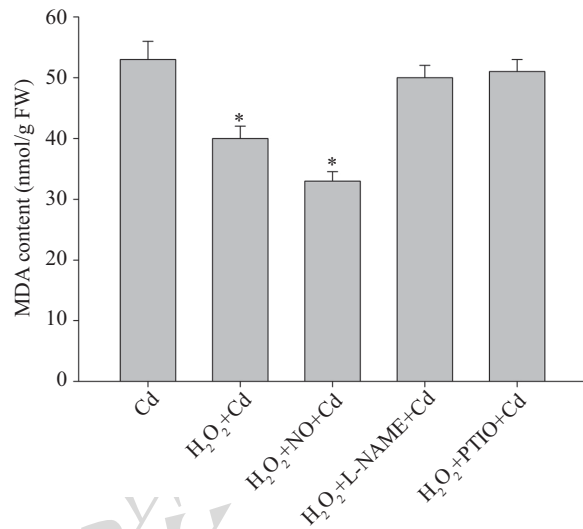
10 µmol/L H₂O₂和50 µmol/L SNP预处理6 h, 100 µmol/L镉胁迫72 h后测定白菜幼苗根和叶中的Cd的积累。**P*<0.05, 与Cd组比较。

Detection of the Cd concentrations of the root and leaf in cabbage seedling with 100 µmol/L for 72 h Cd stress after 6 h of 10 µmol/L H₂O₂ and 50 µmol/L SNP pretreatment. **P*<0.05 vs Cd group.

图6 不同处理对白菜幼苗根和叶Cd积累量的影响

Fig.6 Effects of different treatments on accumulation of Cd in root and leaf of cabbage seedlings

导管的平均直径共5个参数。由图4可知, 这五种显微结构在Cd胁迫下均有明显的减小。与正常生长的白菜植株相比, Cd胁迫后叶片中脉的厚度、叶片的厚度、叶肉细胞的厚度、叶肉细胞的平均厚度和导管的平均直径分别减小33%、50%、34%、26%和



Cd: 100 µmol/L镉胁迫72 h; H₂O₂+Cd: 10 µmol/L H₂O₂预处理6 h, 然后100 µmol/L镉胁迫72 h; H₂O₂+NO+Cd: 10 µmol/L H₂O₂和50 µmol/L SNP预处理6 h, 然后100 µmol/L镉胁迫72 h; H₂O₂+L-NAME+Cd: 10 µmol/L H₂O₂和0.5 mmol/L L-NAME预处理, 然后100 µmol/L镉胁迫72 h; H₂O₂+PITO+Cd: 10 µmol/L H₂O₂和1 mmol/L PITO预处理6 h, 然后100 µmol/L镉胁迫72 h。经各组处理后, 测定白菜幼苗MDA含量。**P*<0.05, 与Cd组比较。

Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h; H₂O₂+Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h, and then 10 µmol/L H₂O₂ treated for 6 h; H₂O₂+NO+Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h, and then 10 µmol/L H₂O₂ and 50 µmol/L SNP treated for 6 h; H₂O₂+L-NAME+Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h, and then 10 µmol/L H₂O₂ treated for 6 h which have 0.5 mmol/L L-NAME; H₂O₂+PITO+Cd: 100 µmol/L Cd stressed for 72 h, and then 10 µmol/L H₂O₂ treated for 6 h which have 1 mmol/L PITO. Then the MDA contents in cabbage seedling with above treatment were detected. **P*<0.05 vs Cd group.

图5 不同处理对Cd胁迫下白菜幼苗中MDA含量的影响

Fig.5 Effects of different treatments on the MDA contents of seedlings under Cd stress

25%。外源NO预处理白菜幼苗后, Cd胁迫对以上显微结构所产生的有害影响得到有效缓解。

2.4 H₂O₂缓解Cd胁迫过程中L-NAME和PITO的作用

经H₂O₂预处理, 白菜幼苗NOS的活力得到有效提高, 体内NO的含量也随之增加, 同时减少了MDA的含量和电解质的渗漏。为了探究NO在H₂O₂缓解Cd胁迫中的作用, 本实验在外源施加H₂O₂的同时, 添加NO合成抑制剂L-NAME以及NO的清除剂PITO, 对生长14 d的白菜幼苗进行处理。处理12 h后, 将处理过的幼苗转移到含有100 µmol/L Cd的1/2MS液体培养基上培育72 h。结果显示, 单独H₂O₂处理可以减少Cd胁迫时白菜幼苗的MDA浓度, 并且H₂O₂与SNP同时处理时MDA浓度最低, 相比H₂O₂

单独处理差异显著。但是,当存在NO的合成抑制剂或清除剂时,白菜幼苗的MDA含量又升高到对照水平(图5)。说明H₂O₂缓解Cd胁迫过程中NO是必需的。

2.5 不同处理对白菜幼苗体内Cd富集量的影响

在Cd的胁迫下,白菜幼苗根中富集Cd的量大于地上部分的富集量,当用H₂O₂预处理后可以减少白菜幼苗地上部分对Cd的富集,但是根中Cd的含量在H₂O₂处理后无明显影响。当用H₂O₂和NO协同处理后,白菜幼苗地上部分的Cd富集量与对照相比有显著差异,但是根中无明显差异(图6),这强烈暗示了H₂O₂预处理可以减少Cd由地下部分向地上部分的转移。

3 讨论

气体信号分子NO现已迅速成为一个热门研究对象。在动物中,已知在心脏、神经传导和氧气传感中有积极作用。植物中最初的研究是将NO关联在植物与病原体的相互作用之中。随着研究的深入,发现它参与了众多的生理过程,如种子萌发^[18]、气孔运动^[19]、氧化应激和耐热性等^[20]。本研究为NO在Cd调节NOS的活力以及Cd耐受中提出了新的见解,即NO作为H₂O₂的下游可增强白菜幼苗对Cd的耐受。

众所周知,在细胞水平上,Cd可以直接通过激活H₂O₂进而影响酶的活性^[20],如草酸氧化酶和NADPH氧化酶的活性,促进H₂O₂的累积,引起一系列的氧化胁迫。而且少量的H₂O₂可提高NOS的活性,促进NO的释放。此时,NO的信号作用就显得尤为重要。首先,NO可以触发转录因子(TF)的转录,转录因子马上可以激活防卫基因的表达。其次,NO可以促进GSH直接与Cd结合,还可以促进植物螯合态的合成及其与Cd的结合,以降低Cd的毒性。再次,NO还可以促进螯合态的Cd(GSH-Cd及PC-Cd等)运输累积在液泡内,与细胞其他区域隔离。最后,也是最关键的,NO可以调节细胞内一系列的抗氧化酶(SOD、CAT及POD等)活性,把氧化胁迫降低到最低水平。

已有报道表明,NO可以作为多种激素的下游发挥信号作用^[11]。激素信号并不是重金属Cd胁迫信号和生物(非生物)胁迫的信号之间唯一的关联信号。此外,H₂O₂介导的信号传导也有报道^[21]。H₂O₂作为

信号分子可以诱导植物增加对非生物胁迫(如温度、臭氧)和生物胁迫(如病原体)的防御机制。而重金属Cd胁迫和ROS介导的生物胁迫都可以诱导植物防御素的合成,推测重金属Cd和生物胁迫的信号传导过程中有部分重叠。

本实验采用水培试验研究了H₂O₂预处理对白菜幼苗Cd胁迫下MDA的含量、电解质的渗漏以及Cd吸收转运的影响。尽管目前关于外源信号物质预处理提高作物抗性研究非常广泛,但就Cd耐受性中NO和H₂O₂的上下游关系仍未见报道。本结果成功揭示了NO作为H₂O₂的下游在白菜幼苗耐受Cd过程中的积极作用。可能的机制是: Cd胁迫条件下,幼苗体内H₂O₂信号被激活,进而提升NOS的活力,使体内产生更多的NO,促进幼苗根部Cd区室化,进而降低向地上部分的转运,使其避免Cd的毒害。

参考文献 (References)

- 1 Taylor MD. Accumulation of cadmium derived from fertilisers in New Zealand soils. *Sci Total Environ* 1997; 208(1/2): 123-6.
- 2 Schützendubel A, Schwanz P, Teichmann T, Gross K, Langenfeld-Heuser R, Polle A. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. *J Plant Physiol* 2001; 127(3): 887-98.
- 3 Mobin M, Khan NA. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J Plant Physiol* 2007; 164(5): 601-10.
- 4 Rastaldo R, Pagliaro P, Cappello S, Penna C, Mancardi D, Westerhof N, *et al.* Nitric oxide and cardiac function. *Life Sci* 2007; 81(10): 779-93.
- 5 Abat JK, Saigal P, Deswal R. S-Nitrosylation-another biological switch like phosphorylation? *Physiol Mol Biol Plants* 2008; 14(2): 119-30.
- 6 Kovacs I, Lindermayr C. Nitric oxide-based protein modification: Formation and site-specificity of protein S-nitrosylation. *Front Plant Sci* 2013; 4: 137.
- 7 del Rio LA, Corpas FJ, Barroso JB. Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochem* 2004; 65(7): 783-92.
- 8 Kunert J. Effect of nitric oxide donors on survival of conidia, germination and growth of *Aspergillus fumigatus* *in vitro*. *Folia Microbiol (Praha)* 1995; 40(3): 238-44.
- 9 Zhang H, Sun YG, Zhang F, Nie L, Shen WB, Xu LL. Effects of exogenous nitric oxide donor on germination and activities of hydrolytic enzymes in wheat seed under osmotic stress. *Plant Physiol Mol Biol* 2005; 31(3): 241-6.
- 10 Li W, Liu X, Ajmal Khan M, Yamaguchi S. The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *Suaeda salsa* under saline conditions. *J Plant Res* 2005; 118(3): 207-14.
- 11 Sanz L, Albertos P, Mateos I, Sanchez-Vicente I, Lechon T, María Fernández-Marcos, *et al.* Nitric oxide (NO) and phytohormones

- crosstalk during early plant development. *J Exp Bot* 2015; 66(10): 2857-68.
- 12 Zhou K, Zhang J. Nitric oxide in plants and its role in regulating flower development. *Yi Chuan* 2014; 36(7): 661-8.
- 13 Polidoros AN, Scalios JG. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *J Plant Physiol* 1999; 106(1): 112-20.
- 14 Prasad TK, Anderson MD, Martin BA, Stewart CR. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell* 1994; 6(1): 65-74.
- 15 De Azevedo Neto AD, Prisco JT, Eneas-Filho J, Medeiros JV, Gomes-Filho E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. *J Plant Physiol* 2005; 162(10): 1114-22.
- 16 Zhou J, Wang J, Li X, Xia XJ, Zhou YH, Shi K, *et al.* H₂O₂ mediates the crosstalk of brassinosteroid and abscisic acid in tomato responses to heat and oxidative stresses. *J Exp Bot* 2014; 65(15): 4371-83.
- 17 Heah RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1968; 125: 189-98.
- 18 黄波, 陈畅. 一氧化氮的功能及其作用机制: 性质与功能. *生物物理学报* (Huang Bo, Chen Chang. The function of nitric oxide and its mechanism of action: Properties and functions. *Acta Biophysica Sinica*) 2012; 28(3): 173-84.
- 19 刘国华. NO和H₂O₂参与乙烯对拟南芥气孔运动的调控. 青岛农业大学, 硕士论文(Liu Guohua. NO and H₂O₂ are involved in ethylene regulated stomatal movement of *Arabidopsis*. Qingdao Agricultural University) 2010.
- 20 He J, Ren Y, Chen X, Chen H. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicol Environ Saf* 2014; 108: 114-9.
- 21 Liu Y, Ye N, Liu R, Chen M, Zhang J. H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination. *J Exp Bot* 2010; 61(11): 2979-90.

(上接第45页)

- Bumbasirevic V, Trajkovic V. AMPK-mediated autophagy inhibits apoptosis in cisplatin-treated tumour cells. *J Cell Mol Med* 2009; 13(9B): 3644-54.
- 14 Sasaki K, Tsuno NH, Sunami E, Tsurita G, Kawai K, Okaji Y, *et al.* Chloroquine potentiates the anti-cancer effect of 5-fluorouracil on colon cancer cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 370.
- 15 Liang X, Tang J, Liang Y, Jin R, Cai X. Suppression of autophagy by chloroquine sensitizes 5-fluorouracil-mediated cell death in gallbladder carcinoma cells. *Cell Biosci* 2014; 4(1): 10.
- 16 Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, Abraham RT, Acevedo-Arozena A, Adeli K, *et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy* 2012; 8(4): 445-544.
- 17 Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research. *Cell* 2010; 140(3): 313-26.
- 18 Marino G, Niso-Santano M, Baehrecke EH, Kroemer G. Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(2): 81-94.