

血红素加氧酶催化产生的 CO 参与 ABA 诱导的蚕豆气孔关闭及其信号转导

曹泽彧* 黄本开* 王庆亚 宣伟 凌腾芳 张博 陈曦 聂理 沈文飏†

(南京农业大学生命科学院, 生命科学实验中心, 南京 210095. * 同等贡献. † 联系人, E-mail: wbshenh@njau.edu.cn)

摘要 一氧化碳(CO)是哺乳动物中新发现的一种重要的生物活性/信号分子, 其生物学效应往往通过一氧化氮(NO)和环鸟苷酸(cGMP)信号介导. 本研究发现, 可引起蚕豆叶片气孔关闭的ABA处理能诱导蚕豆叶片CO释放的增加以及CO合成酶血红素加氧酶(HO)活性的提高; 同时, ABA诱导的蚕豆气孔关闭也可以被CO合成酶抑制剂ZnPP和CO/NO清除剂血红蛋白(Hb)部分阻断. 进一步的研究表明, 外源添加CO供体高铁血红素(Hematin)和CO水溶液不仅能促进CO的释放, 还能以依赖于时间进程的形式诱导蚕豆气孔的关闭, 后者与NO供体SNP处理的结果相类似; NO合成酶硝酸还原酶(NR)的抑制剂钨酸钠(Tungstate), NO专一性清除剂cPTIO, ZnPP和Hb不同程度地逆转了这一过程. 在4 h的处理过程中, SNP, 0.01%饱和度的CO水溶液以及Hematin明显地激发了NO的产生; 反之, 结合cPTIO或Tungstate处理后, NO的荧光信号几乎被完全抑制. 此外, 鸟苷酸环化酶(GC)的抑制剂ODQ阻断了CO诱导的气孔关闭, 而ODQ的作用又被cGMP的类似物 8-Br-cGMP所逆转. 上述结果暗示, HO产生的CO可能参与了ABA诱导的蚕豆气孔关闭, NO和cGMP则是CO信号通路的下游分子.

关键词 一氧化碳 ABA 血红素加氧酶 环鸟苷酸 一氧化氮 气孔关闭 蚕豆

一氧化氮(NO)已被公认为动物和微生物中激活多种防护基因表达的可移动细胞间信号分子或第二信使. 由于其能提高植物抵御外来病原菌侵染的能力, 对NO的研究在植物领域中也引起了广泛的关注. 已经证明, NO可以迅速而显著地提高烟草叶片内源环鸟苷酸(cGMP)的含量, 从而进一步诱导与抗病有关的苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因的表达, 而鸟苷酸环化酶(GC)的专一性抑制剂则可以抑制PAL的表达^[1]. 此外, NO还能参与植物对多种非生物胁迫的响应, 包括盐害和干旱胁迫等^[2,3]. 因此, NO也被视为植物细胞内重要的第二信使.

对动物的研究表明, 与NO相类似, 一氧化碳(CO)不仅是一种有毒气体, 更多地则被认为是另一种重要的内源气体信号分子^[4,5]. 一般认为, CO的生物合成主要来源于血红素加氧酶系统(HOs, EC 1.14.99.3)催化的血红素降解过程中 α -甲叉桥的氧化. 在动物体内已经发现有3种形式的HOs, 其中HO-1是诱导型的, 而组成型表达的HO-2和HO-3的活性则比较低. 已经知道, CO是一种典型的炎症反应调节分子, 调控着一系列的生理过程, 包括细胞增殖和细

胞因子以及生长因子的合成等^[5~7]. 动物体中CO的一些生理作用与NO有类似之处. 例如, CO也可以结合可溶性GC蛋白中的血红素铁原子, 继而激活GC以提高细胞内cGMP的含量. 此外, CO还可能增强NO介导的GC活化作用^[5]. 1997年, Thom等人^[8]发现, 11~110 nmol/L CO可以渐进式地提高内皮细胞中NO的释放.

早在1959年人们就已经发现了植物发育进程中存在有CO释放的现象^[9]. 以后, 也有若干报道发现活体植物中存在有CO的光合成现象, 其合成速率与光照强度和大气环境中CO₂/O₂呈线性相关^[10,11]. 有趣的是, 萌发的黑麦、豌豆、黄瓜及莴苣种子可以释放10~25 μ L/L CO, 而且上述过程中不依赖于光和叶绿素^[12]. 2002年, Muramoto等人^[13]首次发现质体血红素加氧酶基因的融合表达蛋白(*AtHO1*)具有体外降解血红素产生CO以及伴随胆绿素(biliverdin, BV)合成的能力, 并与光敏色素的生色团合成有关. 进一步发现CO还参与不少的植物生理代谢过程. 例如, 它具有类似于激素的功效, 包括可以影响种子的休眠和萌发^[14], 甚至促进不定根的发生等^[15].

长期以来,干旱一直是世界农业生产中的主要威胁.一般来说,植物保卫细胞通过改变气孔孔径来调节叶片的蒸腾作用和 CO_2 吸收.在对干旱胁迫的应答过程中,植物通常在保卫细胞中还合成脱落酸(ABA)、NO 和过氧化氢(H_2O_2)来响应干旱胁迫,进而使气孔关闭以减少细胞水分散失^[16-18].最近的研究还表明,ABA 诱导的并经 H_2O_2 介导的气孔关闭与硝酸还原酶(NR)合成 NO 有关^[19].另一方面,尽管已经发现外源 CO 通过抑制细胞色素 C 氧化酶活性来耗尽维持气孔活动所必需的 ATP,进而诱导气孔关闭^[20],然而关于上述过程的具体机制以及信号转导路径依然不甚清晰.本研究结果显示,能够引起蚕豆叶片气孔关闭的 ABA 处理也能诱导蚕豆叶片内源 CO 释放的增加以及 CO 合成酶 HO 活性的提高,ABA 诱导的蚕豆气孔关闭也可以被 CO 合成酶 HO-1 的抑制剂 ZnPP 和 CO/NO 清除剂血红蛋白(Hb)部分阻断.进一步的结果也支持 NO 和 cGMP 作为潜在的媒介介导了 CO 诱导的蚕豆气孔关闭.因此,本研究提供的一些新颖的证据表明,植物细胞在应答非生物胁迫过程中可能存在的 ABA、CO 与 NO 之间的相互作用.

1 材料和方法

() 材料与处理. 试材为蚕豆(*Vicia faba*)种子,选取籽粒饱满、大小一致的蚕豆种子用 0.2%次氯酸钠表面消毒 15 min,蒸馏水冲洗干净,播于盛有干净湿滤纸的搪瓷盘中,25 °C 下以蒸馏水浸种催芽.萌发后播于盆钵中,并放置于光照培养箱内(光暗周期为 14 h/10 h,温度 $(25 \pm 1) / (20 \pm 1)$ °C,光照强度为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)培养,大约 4 周后,取完全展开的第 2 张叶片进行各种处理.此外,还采用 ABA ($50 \mu\text{mol/L}$)、CO 供体 Hematin ($1.0 \mu\text{mol/L}$)以及 CO 水溶液(10%饱和度)处理离体的第 2 张全展叶片,分别处理 10, 30, 60 和 90 min 时测定 CO 的释放和 HO 活性的变化.

() 表皮条生物学分析中所用的试剂及其使用的终浓度. 除特别标明外,所有的试剂均购自 Sigma 公司.在动物研究中,高铁血红素 Hematin (Ht, $0.1 \mu\text{mol/L}$)常被用作 HO 的活性诱导剂或 CO 供体^[21,22].例如,静脉注射 ^{14}C 标记的 Hematin 后,小鼠会逐步产生同位素标记的胆绿素和 CO^[23].CO/NO 清除剂牛血红蛋白(Hb)购自上海博奥生物有限公司,使用浓度为 0.1 g/L ^[6,21].HO-1 的专一性抑制剂锌原卟啉(ZnPP)^[21] $50 \mu\text{mol/L}$,NO 供体硝普钠(SNP) 100

$\mu\text{mol/L}$,NR 专一性抑制剂钨酸钠(Tungstate) $100 \mu\text{mol/L}$,NO 专一性清除剂 2-(4-羧基苯)-4,4,5,5-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物(cPTIO)使用浓度为 $200 \mu\text{mol/L}$.ABA 使用浓度为 $25 \mu\text{mol/L}$.GC 专一性抑制剂 ODQ 为 $2 \mu\text{mol/L}$,细胞渗透性 8-溴-环鸟苷酸(8-Br, 购自 Fluka 公司)为 $50 \mu\text{mol/L}$.NO 专一性荧光探针二氨基荧光素二乙酸酯(DAF-2 DA)购自 Calbiochem (San Diego, CA, USA),使用浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$.

() CO 气体饱和水溶液的制备. 根据如下反应进行: $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{l}) + \text{HCOOH}(\text{l}) \rightarrow \text{CO}(\text{g}) + \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}(\text{l})$.当导管口有连续而均匀的气泡逸出时,将气体直接通入体积为 300 mL 新鲜制备的无 CO_2 BES-KCl 缓冲液(pH 6.15)中 30 min 以上,以制成 CO 气体饱和水溶液,并立即用无 CO_2 的 BES-KCl 缓冲液稀释至所需饱和度(0.01%和 10%).CO 在水中的饱和溶解度为 0.03 g/L 左右,理论上大约相当于 1.07 mmol/L 的浓度.

() CO 含量的气相色谱-质谱联用测定和 HO 活性测定. 根据 Anderson 和 Wu^[24]的方法测定 CO 含量.仪器为 Finnigan TraceDSQ 气质联用仪,色谱柱为 CP-MOLESIEVE 5Å Fused Silica (VARIAN).HO 活性测定参照 Noriega 等人^[25]的方法,以每 30 min 产生 1 nmol BV 的酶量定义为 1 U.

() 表皮条生物学分析. 小心地将蚕豆叶片下表皮撕下,切成 $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 的表皮条,置于无 CO_2 的 BES-KCl 缓冲液(pH 6.15)中预处理 1 h (温度 (25 ± 1) °C,光密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)确保气孔全部打开.预处理结束后转移到含各种试剂的无 CO_2 BES-KCl 缓冲液(pH 6.15)中处理 2 h 或根据实验目的进行各种调整,同时以无其他处理的不含 CO_2 的 BES-KCl 缓冲液处理作为对照(control).

() NO 荧光信号检测. NO 荧光信号利用激光扫描共聚焦显微镜检测^[16,19].经预处理的表皮条转移到含各种试剂的无 CO_2 BES-KCl 缓冲液(pH 6.15)中进行处理,接着在含 $10 \mu\text{mol/L}$ DAF-2DA 的孵育缓冲液(20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.2)黑暗下 25 °C 孵育 20 min,再用孵育缓冲液清洗 3 次以去除多余的探针,时间约 20 min.采用 TCS-SP2 型激光扫描共聚焦显微镜(Leica lasertechnik GmbH, Heidelberg)检测 NO 绿色荧光信号,激发光波长 488 nm,发射光波长 500~530 nm,中速扫描,图像使用共聚焦显微镜自带软件

处理, 每个处理至少有 20 个样品, 3 次重复实验, 选取结果一致的图片。

() 统计分析. 实验数据用平均值±SE 表示, 采用 SPSS 10.0 软件对实验数据进行统计分析. 不同字母表示通过 Duncan's 测验处理间差异达 0.05 显著水平.

2 实验结果

2.1 HO-1 的催化产物 CO 可能参与 ABA 诱导的气孔关闭

与对照相比, 能够引起蚕豆叶片气孔关闭的 ABA (50 μmol/L), 以及 CO 供体 Ht (1.0 μmol/L) 处理 90 min 内能诱导蚕豆幼苗离体叶片的内源 CO 释放和 HO 活性的上升过程, 其中处理 30~60 min 的效果最明显(图 1). 此外, 尽管 CO 水溶液(10%饱和度)处理也具有诱导 CO 释放的效应, 但对 HO 活性则没有明显影响. 进一步用 25 μmol/L ABA 处理表皮条 2 h, 气孔孔径减小 48.3%, 并能够被 HO-1 的专一性抑制剂 ZnPP 和 CO/NO 清除剂血红蛋白部分逆转($P < 0.05$), 而单独用 ZnPP 或 Hb 处理表皮条则与对照处理的结果没有明显差异(图 2(a)), 暗示蚕豆叶片 HO-1 的催化产物 CO 可能参与 ABA 诱导的气孔关闭.

2.2 Hematin 和 CO 促进气孔关闭及恢复实验

Hematin 是目前动物研究中常用的 HO 活性诱导物或 CO 供体^[21~23]. 以 SNP (100 μmol/L) 为阳性对照, 进一步采用 Ht (0.1 μmol/L) 处理蚕豆表皮条, 发现其能以时间依赖性诱导气孔关闭, 而且 Ht 有效的处理浓度是 SNP 的千分之一(图 2, 部分数据未显示). 在

本实验条件下, 0.1 μmol/L Ht 大约能释放 17.1 μL/L 的 CO 气体, Ht 处理 2 h 后气孔孔径达到最小 ($5.27 \pm 0.15 \mu\text{m}$, 图 2(c)和(d)), 约为对照处理的 54.3%; 在处理 4 h 后的洗脱实验中, 上述 Ht 诱导的气孔关闭效应则完全恢复(图 2(d)).

进一步研究发现, 结合 HO-1 专一性抑制剂 ZnPP 及 CO/NO 清除剂 Hb 的处理则逆转了 Ht 对气孔关闭的诱导效应(图 2). 为了进一步确定 CO 诱导气孔关闭的可能性, 我们使用 CO 水溶液处理蚕豆表皮条. 结果发现, 0.01%饱和度的 CO 水溶液(大约能释放 22 μL/L 的 CO 气体)具有与 Ht 相似的效应, 诱导效应也在 2 h 达到最大($P < 0.05$, 图 2(d)). 考虑到该 CO 浓度略大于 Ht 释放的 CO 浓度, 暗示在处理过程中存在 CO 气体从水溶液中逐渐逃逸的现象. 结合 CO 水溶液处理 2 h 后诱导效应会逐渐消失, 也从另一方面暗示这种可能性(在 25 ± 1 下, CO 气体从 0.01% 饱和度的 CO 水溶液逃逸的半衰期为 210 min).

2.3 NO 可能参与 CO 诱导的气孔关闭

为了探查 CO 诱导气孔关闭过程中存在的与 NO 的互作关系, 研究了 NO 专一性清除剂 cPTIO 及其合成抑制剂 Tungstate 对 Ht 或 SNP 诱导气孔关闭的影响. 图 3(a)的结果发现, cPTIO 和 Tungstate 可以不同程度地逆转 Ht 的诱导效应, cPTIO 对 SNP 的影响也已经被证明^[16,19], 暗示通过 NR 合成的 NO 可能参与 Ht 诱导的气孔关闭. 另外, 单独采用 cPTIO 或 Tungstate 处理表皮条对气孔孔径均没有明显影响; 与 SNP 单独处理相比较, ZnPP 与 SNP 同时处理并不影响气孔的关闭. 上述结果表明, NO 可能参与了 CO

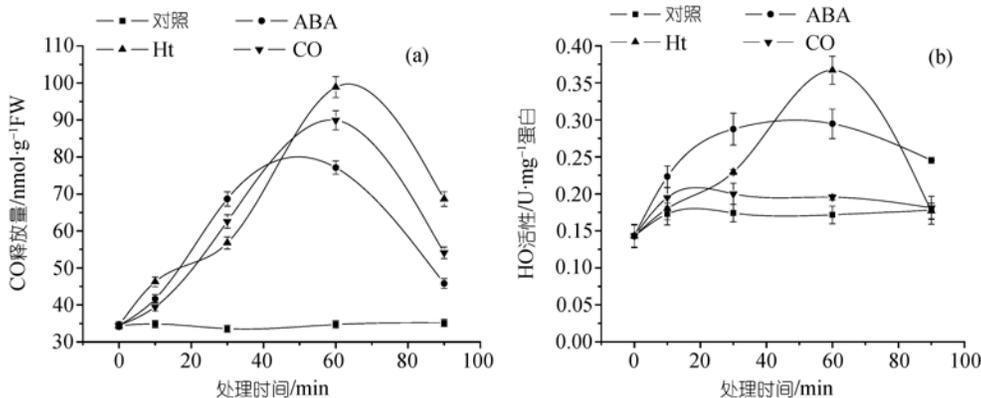


图 1 CO 释放量和 HO 活性的时间进程曲线

4 周龄蚕豆第 2 张全展叶片在无 CO₂ 的 BES-KCl 缓冲液(pH 6.15)中预处理 1 h 后分别转移至对照, 50 μmol/L ABA (ABA), 1.0 μmol/L Hematin (Ht) 和 10% 饱和 CO 水溶液(CO)中处理 10, 30, 60 和 90 min, 测定 CO 释放量和 HO 活性. 正常情况下(对照, 0 h), 叶片中 CO 释放量为 (34.47 ± 0.99) nmol/g FW, HO 活性为 (0.140 ± 0.026) U/mg 蛋白. 其中的数值是 10 个(3 次)测量值的平均值(±SE)

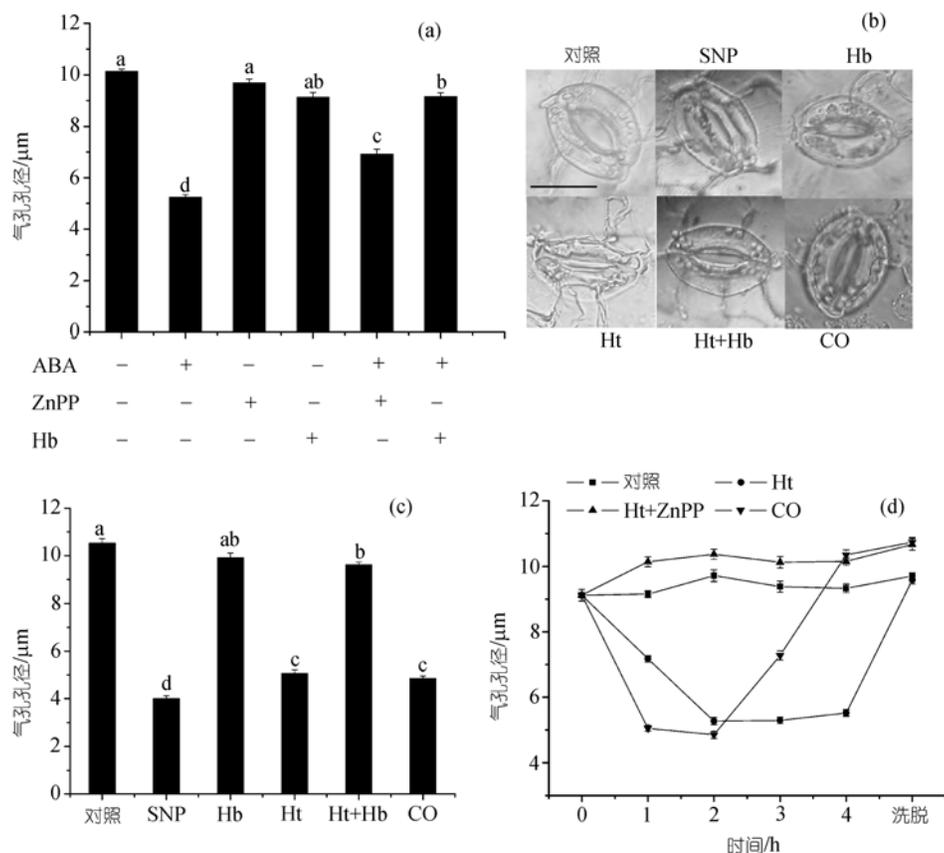


图2 CO促进气孔关闭及恢复

(a) ABA 诱导气孔关闭(2 h)被血红素加氧酶-1 抑制剂 ZnPP 和 CO/NO 清除剂血红蛋白(Hb)部分逆转; (b)和(c) CO, Ht 和 SNP 诱导气孔关闭(2 h)的明场照片和气孔孔径变化; (d) CO 和 Ht 诱导蚕豆气孔关闭及其恢复的时间进程。其中的数值是 120 个(3 次)测量值的平均值(±SE)。不同字母表示通过 Duncan's 测验处理间差异达 0.05 显著水平, 标尺示 25 μm

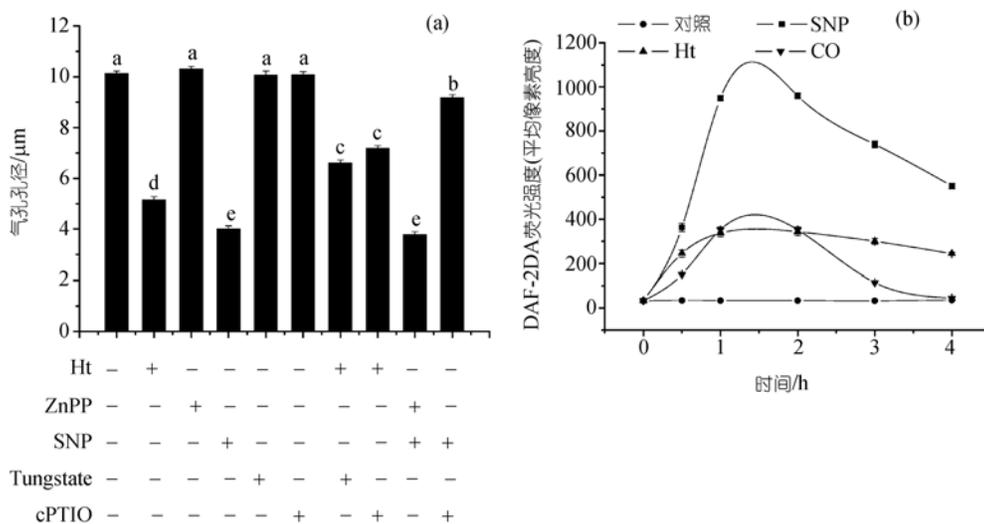


图3 NO可能参与CO诱导的气孔关闭

(a) NO 参与 Ht 诱导的气孔关闭(2 h); (b) CO 和 Ht 诱导蚕豆表皮条 NO 释放的时间进程。其中的数值是 120 个(3 次)测量值的平均值(±SE)。不同字母表示通过 Duncan's 测验处理间差异达 0.05 显著水平

诱导的气孔关闭。

进一步使用 NO 特异性荧光探针 DAF-2DA 检测, 发现在持续 4 h 的处理过程中, 外源 CO 溶液、Ht 以及 NO 供体 SNP 可以在处理的 0.5~2 h 内诱导 NO 的释放(图 3(b)和图 4), 此后 NO 荧光信号逐步减弱, 而且 NO 荧光信号强弱的时间进程变化(图 3(b))与气孔关闭与否存在着一定的平行关系(图 2(d)). 在处理 2 h 后, 对照样品中的 DAF-2DA 产生的绿色荧光仅有微量存在(平均像素亮度[mgpi]: 25.0 ± 5.8); SNP, Ht 或 CO 水溶液处理后, 保卫细胞中的荧光信号明显增强(平均像素亮度分别为 1092.3 ± 4.4 , 319.1 ± 6.3 和 340.9 ± 8.8 , 图 3(b)和图 4).

SNP 处理产生的 NO 信号在 1~2 h 达到顶点, 并主要分布在整個保卫细胞, 后者与 ABA 的结果是一样的; Ht 或 CO 水溶液处理后 NO 信号则主要位于气

孔中心区域, 并在之后逐渐衰减(图 3(b)和图 4(b)). 为了确证荧光强度反映了 NO 含量, 在装载探针时也同时加入 NO 专一性清除剂 cPTIO. 图 4(b)的结果还表明, 结合 cPTIO 与 Ht 及 CO 的各种组合, DAF-2DA 荧光强度与对照处理大致相当. 进一步实验还发现, ABA, Ht 和 CO 溶液诱导的 NO 荧光信号可以分别被 ZnPP, Hb 或 Tungstate 不同程度地减弱. 结合气孔变化的结果, 我们进一步推测, 血红素加氧酶产生的 CO 是通过诱导 NR 释放 NO 来参与 ABA 诱导的气孔关闭.

2.4 cGMP 也可能参与了 CO 诱导气孔关闭的信号转导

为了评估 cGMP 是否介导 CO 诱导气孔关闭的信号通路, 进一步采用 GC 专一性抑制剂 ODQ 和 cGMP 的类似物 8-Br 研究其对 CO 溶液诱导气孔关闭(2 h) 的影响. 图 5 的结果表明, 2 $\mu\text{mol/L}$ ODQ 逆转了 CO

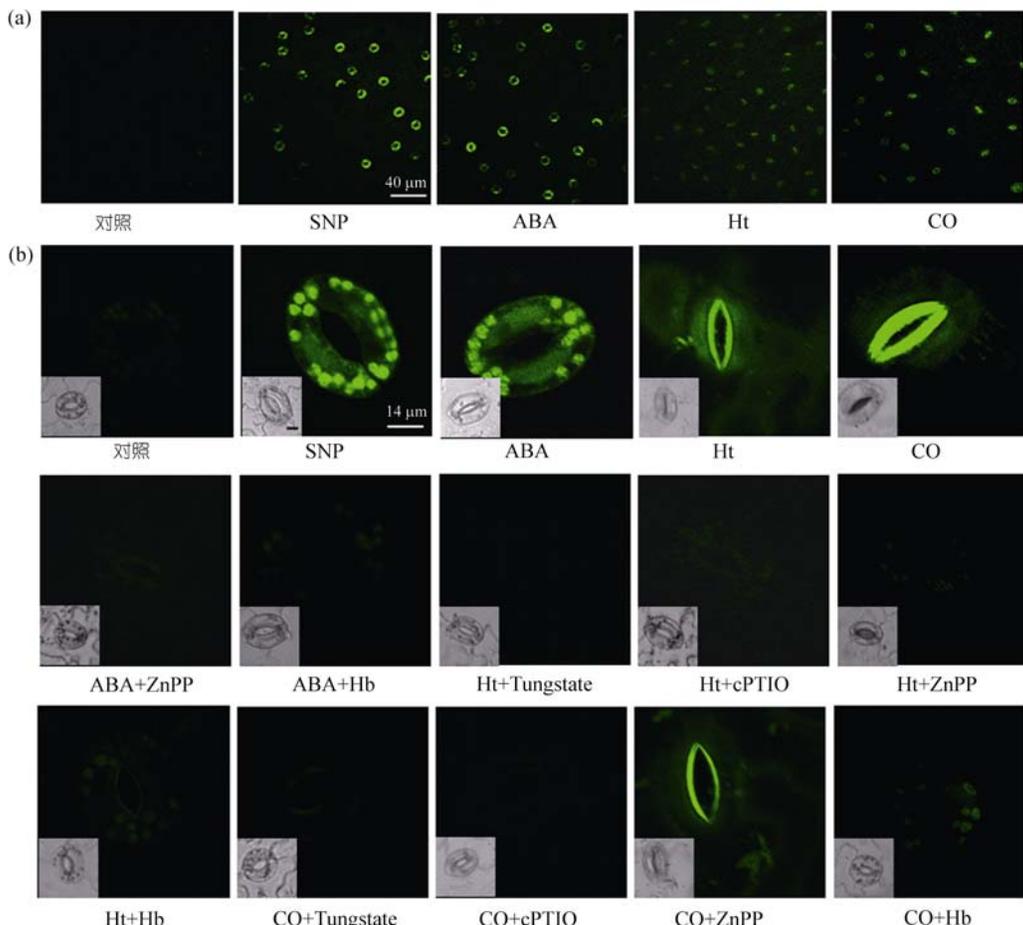


图 4 血红素加氧酶产生的 CO 通过诱导 NO 的合成参与 ABA 诱导的气孔关闭
处理时间为 2 h. (b)为(a)的放大图

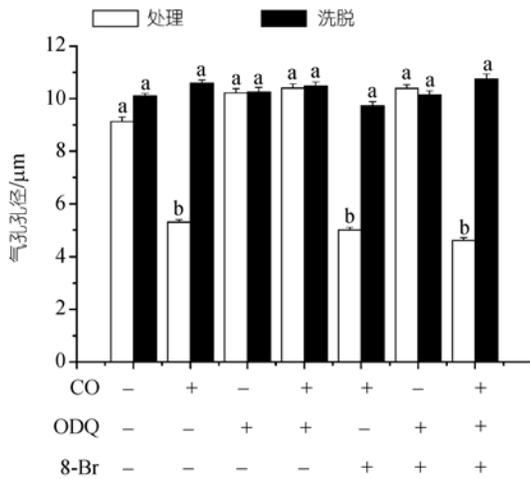


图5 cGMP可能参与了CO诱导气孔关闭的信号转导。其中的数值是120个(3次)测量值的平均值(±SE)。不同字母表示通过Duncan's 测验处理间差异达0.05显著水平

对气孔关闭的诱导效应($P < 0.05$), 而且后者的诱导效应在洗脱实验后可以被恢复, 而ODQ单独处理时则对气孔行为没有明显影响。另外, 50 μmol/L 8-Br阻断了ODQ对CO效应的逆转作用, 具有与CO处理相类似的表现。同时, 8-Br与ODQ共同处理未引起气孔的显著变化, 8-Br与CO共同处理则与CO单独处理具有相似的表现。上述结果暗示, cGMP可能参与了CO诱导气孔关闭的信号转导。

3 讨论

近来的研究已经表明, CO是动物体内一种全新的第二信使。同时, 尽管从1959年以来有不少研究发现植物在幼苗生长过程中存在着CO释放的现象^[9], 但是其合成机理以及生物学意义一直不太清楚。本研究结果显示, 能够引起蚕豆叶片气孔关闭的ABA处理能诱导内源CO释放的增加以及合成酶HO活性的提高(图1); ABA诱导的蚕豆气孔关闭也可以被CO合成酶抑制剂ZnPP和CO/NO清除剂血红蛋白(Hb)部分阻断(图2(a))。这是植物中存在有ABA诱导CO释放的首次报道。最近, Noriega等人^[25]的研究发现, 镉处理后的大豆叶片中也存在着HO-1过表达的现象, 并进一步推测植物HO也可能参与抗氧化防护系统。Yannarelli等人^[26]也发现H₂O₂信号分子可以参与UV-B紫外线诱导的大豆叶片HO表达, 从而降低氧化伤害。结合上述结果, 我们进一步提出, 植物在应答各种非生物胁迫中可能也存在有通过诱导HO活性从而导致CO迅速释放的现象, ABA, H₂O₂和CO等

信号分子在细胞各组份中可以形成更加紧密的通讯系统, 并与其耐性有关。

已有研究表明, ABA参与气孔关闭可能是通过位于质膜上或者叶绿体内的受体。例如, 张大鹏教授的研究小组最近发现的一个ABA受体ABAR是定位于质体内且参与催化叶绿素合成和质体-核信号转导的蛋白质镁整合酶的H亚基(CHLH)^[27], 而CO合成酶HO也定位于质膜上或叶绿体内^[13], 考虑到HO和镁整合酶分别是原卟啉插入Fe²⁺以及Mg²⁺从而降解生成亚铁血红素和光敏色素生色团以及Mg-原卟啉的代谢酶^[28], HO的代谢产物CO具有诱导种子萌发和幼苗生长^[14]、气孔关闭以及侧根发生的激素类似特性^[29], 因此HO, 镁整合酶和ABA受体之间的可能关系值得进一步研究。

本研究进一步通过药理学、生理学及解剖学证据发现, 外源添加CO可以显著诱导蚕豆气孔的关闭(图2), 并且该过程由两种重要的第二信使NO和cGMP介导(图3~5)。这一结果不仅可以部分增加目前并不完全被我们所了解的植物CO生理作用的知识^[14,15], 而且也进一步验证了NO在植物信号转导网络中重要的中心作用^[30]。在动物研究领域业已证明, CO可以放大NO介导的GC活化作用^[31,32]。此外, CO的生物活性亦可以通过其对NO的影响来实现, 低浓度的CO也能诱导动物细胞内的血红素结合库中释放NO^[8,33,34]。在本研究有以下的实验证据验证了NO可能参与CO诱导的气孔关闭: () 外源NO供体SNP可以诱导气孔关闭(图2(b)和(c)); () 外加诱导气孔关闭的外源CO可以诱导蚕豆表皮条释放NO(图3(b)和4); () NO专一性清除剂cPTIO及其合成酶NR抑制剂Tungstate可以逆转CO诱导的气孔关闭以及下调NO信号的强度(图3(a)和图4); () 保卫细胞中NO的释放情况与气孔关闭行为相一致(图2(d)和图3(b))。

众所周知, cGMP在植物胞外信号向胞内代谢行为转化中扮演重要角色。已经知道, cGMP可以调节植物蛋白激酶、磷酸二酯酶和离子通道的活性, 调控基因表达, 如糊粉层中的α-淀粉酶基因^[1]。进一步的实验证据(图5)指出, CO可能以通过cGMP通路来诱导气孔关闭。例如, GC专一性抑制剂ODQ明显地逆转了0.01%饱和度的CO溶液对气孔关闭的诱导效应, 而ODQ的作用又被cGMP的类似物8-Br-cGMP所阻断。

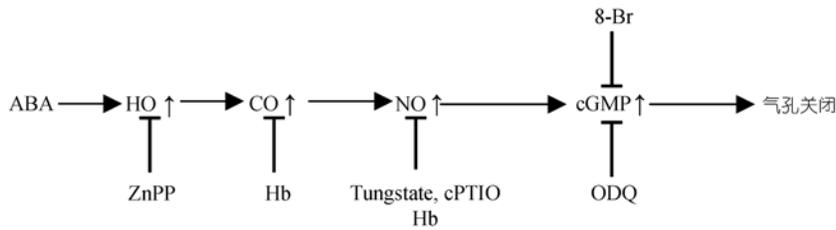


图 6 血红素加氧酶催化产生的 CO 参与 ABA 诱导气孔关闭的可能信号转导模式

总之, 本研究结果提供了有关血红素加氧酶催化产生的 CO 参与 ABA 诱导气孔关闭的可能信号转导模式, 这是一个 NO 介导的并依赖于 GC 合成 cGMP 的信号转导过程. 图 6 初步概括了 ABA, CO, NO 和 cGMP 几者之间的关系. 通常, ABA 可上调 HO 的活性, 催化合成的 CO 会导致 NR 合成 NO, 从而激活依赖于 cGMP 的信号转导途径, 最终引起气孔关闭. 此外, CO 和 NO 均有可能通过抑制细胞色素 C 氧化酶的活性来耗尽维持气孔活动所必需的 ATP^[20,35].

参 考 文 献

- 1 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: 10328—10333[DOI]
- 2 Zhao L, Zhang F, Guo J, et al. Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiol*, 2004, 134: 849—857[DOI]
- 3 García-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol*, 2001, 126: 1196—1204[DOI]
- 4 Verma A, Hirsch D J, Glatt C E, et al. Carbon monoxide: A putative neural messenger. *Science*, 1993, 259: 381—384[DOI]
- 5 Dulak J, Józkwicz A. Carbon monoxide—a “new” gaseous modulator of gene expression. *Acta Biochim Pol*, 2003, 50: 31—47
- 6 Morita T, Perrella M A, Lee M E, et al. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 1475—1479[DOI]
- 7 Watts R N, Ponka P, Richardson D R. Effects of nitrogen monoxide and carbon monoxide on molecular and cellular iron metabolism: Mirror-image effector molecules that target iron. *Biochem. J*, 2003, 369: 429—440
- 8 Thom S R, Xu Y A, Ischiropoulos H. Vascular endothelial cells generate peroxynitrite in response to carbon monoxide exposure. *Chem Res Toxicol*, 1997, 10: 1023—1031[DOI]
- 9 Wilks S S. Carbon monoxide in green plants. *Science*, 1959, 129: 964—966
- 10 Lüttge U, Fischer K. Light-dependent net CO-evolution by C₃ and C₄ plants. *Planta*, 1980, 149: 59—63[DOI]
- 11 Tarr M A, Miller W L, Zepp R G. Direct carbon monoxide photo-production from plant matter. *J Geophys Res*, 1995, 100: 11403—

- 11413[DOI]
- 12 Siegel S M, Renwick G, Rosen L A. Formation of carbon monoxide during seed germination and seedling growth. *Science*, 1962, 137: 683—684
- 13 Muramoto T, Tsurui N, Terry M J, et al. Expression and biochemical properties of a ferredoxin-dependent heme oxygenase required for phytochrome chromophore synthesis. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1958—1966[DOI]
- 14 Liu K, Xu S, Xuan W, et al. Carbon monoxide counteracts the inhibition of seed germination and alleviated oxidative damage caused by salt stress in *Oryza sativa*. *Plant Sci*, 2007, 172: 544—555[DOI]
- 15 徐霁, 宣伟, 黄本开, 等. 一氧化碳诱导绿豆下胚轴不定根的发生. *科学通报*, 2006, 51: 409—414
- 16 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: 13—16[DOI]
- 17 Pei Z M, Murata Y, Benning G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells. *Nature*, 2000, 406: 731—734[DOI]
- 18 Zhang X, Zhang L, Dong F, et al. Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Physiol*, 2001, 126: 1438—1448[DOI]
- 19 Bright J, Desikan R, Hancock J T, et al. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *Plant J*, 2006, 45: 113—122[DOI]
- 20 Pollok M, Heber U, Naik M S. Inhibition of stomatal opening in sunflower leaves by carbon monoxide, and reversal of inhibition by light. *Planta*, 1989, 178: 223—230[DOI]
- 21 Lamar C A, Mahesh V B, Brann D W. Regulation of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) secretion by heme molecules: A regulatory role for carbon monoxide? *Endocrinology*, 1996, 137: 790—793[DOI]
- 22 Longo M, Jain V, Vedernikov Y P, et al. Effect of nitric oxide and carbon monoxide on uterine contractility during human and rat pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181: 981—988[DOI]
- 23 Landaw S A, Callahan E W, Schmid R. Catabolism of heme *in vivo*: Comparison of the simultaneous production of bilirubin and carbon monoxide. *J Clin Invest*, 1970, 49: 914—925
- 24 Anderson C R, Wu W H. Analysis of carbon monoxide in commercially treated Tuna (*Thunnus* spp.) and Mahi-Mahi (*Coryphaena hippurus*) by gas chromatography/mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 7019—7023[DOI]

- 25 Noriega G O, Balestrasse K B, Batlle A, et al. Heme oxygenase exerts a protective role against oxidative stress in soybean leaves. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 323: 1003—1008[DOI]
- 26 Yannarelli G G, Noriega G O, Batlle A, et al. Heme oxygenase up-regulation in ultraviolet-B irradiated soybean plants involves reactive oxygen species. *Planta*, 2006, 224: 1154—1162[DOI]
- 27 Shen Y Y, Wang X F, Wu F Q, et al. The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor. *Nature*, 2006, 443: 823—826[DOI]
- 28 Cornah J E, Terry M J, Smith A G. Green or red: what stops the traffic in the tetrapyrrole pathway. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 224—230[DOI]
- 29 Cao Z, Xuan W, Liu Z, et al. Carbon monoxide promotes lateral root formation in rapeseed. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49: 1070—1079[DOI]
- 30 Delledonne M. NO news is good news for plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 390—396[DOI]
- 31 Cao L, Blute T A, Eldred W D. Localization of heme oxygenase-2 and modulation of cGMP levels by carbon monoxide and/or nitric oxide in the retina. *Vis Neurosci*, 2000, 17: 319—329[DOI]
- 32 Ingi T, Cheng J, Ronnett G V. Carbon monoxide: An endogenous modulator of the nitric oxide-cyclic GMP signaling system. *Neuron*, 1996, 16: 835—842[DOI]
- 33 Thom S R, Fisher D, Xu Y A, et al. Adaptive responses and apoptosis in endothelial cells exposed to carbon monoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 1305—1310[DOI]
- 34 Thorup C, Jones C L, Gross S S, et al. Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppresses endothelial NOS. *Am J Physiol*, 1999, 277: F882—889
- 35 Giuffrè A, Sarti P, D'Itri E, et al. On the mechanism of inhibition of cytochrome *c* oxidase by nitric oxide. *J Biol Chem*, 1996, 271: 33404—33408[DOI]