

# 一氧化氮在植物根系生长发育过程中的作用研究进展

熊杰 符冠富 杨永杰 陶龙兴

中国水稻研究所/水稻生物学国家重点实验室,杭州 310006

**摘要** 一氧化氮作为重要的气体信号分子,在植物体内参与的生理调节和信号转导功能已经成为新的研究热点。近年来,有关NO在植物根系生长发育过程中的作用研究取得了较大进展,特别是在植物根系中NO的合成和产生、NO调节植物根系生长和发育的详细具体过程以及这些过程中参与的信号转导途径等方面。本文对植物根系中NO的产生方式、NO在调节植物根系生长发育过程中的作用及其参与的信号转导途径的最新研究进展进行系统综述和展望,以加深对植物根系生长发育过程和NO信号分子功能的认识。

**关键词** 一氧化氮;根系生长发育;信号转导;一氧化氮合成酶;硝酸还原酶

**中图分类号** Q 946 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)03-0375-09

根系在整个植物生长发育过程中发挥着一系列重要的作用,它不仅是植物吸收水分和养分的重要器官,而且对于维持植物在土壤中的固着具有十分重要的意义<sup>[1-2]</sup>。此外,某些植物根系还具有合成和贮藏有机物或进行营养繁殖的功能。植物根系的生长发育受到内部遗传信息和外部环境因子的双重影响,植物激素等信号分子同样对植物根系的生长发育起着调控作用。

近年来,作为重要的气体信号分子一氧化氮(nitric oxide, NO)在植物体内的生理功能已经成为新的研究热点。随着研究的深入,人们发现NO在植物体内发挥着多种多样的生理功能,目前已知的功能包括生长发育的调节和控制、生物和非生物逆境抗性、植物激素相互作用等。此外,NO还参与调节诱导木质素合成、细胞程序性死亡、气孔关闭、根系重力感应等众多生理过程。研究表明,NO参与了黄瓜(*Cucumis sativus*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)、水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)等植物根系伸长、不定根、侧根和根毛发生等过程的调节<sup>[3-6]</sup>。这些研究结果表明,NO在植物根系生长发育过程中起着十分重要的作用。

本文对植物根系中NO的产生方式和NO在调

节植物根系生长发育过程中的作用及其参与的信号转导途径的最新研究进展进行系统回顾和展望,以加深对植物根系生长发育过程和NO信号分子功能的认识。

## 1 植物根系中NO的合成途径

植物体内的NO来源十分丰富,尽管近十年来许多研究都十分关注植物中NO的产生方式,但是迄今为止,许多问题仍没有被彻底阐述清楚。虽然前人对植物根系中NO的主要合成位置和方式进行了总结概括<sup>[7]</sup>,但是人们对植物根系中NO产生方式的了解还十分有限。目前普遍认为植物根系中的NO合成途径包括酶促合成途径(enzymatic reactions)和非酶促合成途径(nonenzymatic reactions) 2种方式<sup>[8]</sup>,但是,对于这2种NO合成途径和它们包含的各种NO合成系统的特异作用,以及各个NO合成系统和途径之间的相互作用和协调过程尚不清楚,各系统间在植物根系NO合成过程中发挥多大作用均有待于进一步研究。

### 1.1 NO的酶促合成途径

植物细胞质中的硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)是植物中第一个发现的合成NO的酶,它

收稿日期: 2010-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871473)、浙江省自然科学基金项目(Y3100090, Y3110040)、浙江省重点项目(2008C22073, 2009C32048)和浙江省三农五方项目(SN200806)

熊杰,博士,助理研究员,研究方向:水稻逆境生理与栽培学. E-mail: jixiong@zju.edu.cn

通讯作者:陶龙兴,博士,研究员,研究方向:水稻逆境生理与栽培学. E-mail: lxtao@fy.hz.zj.cn

能够将硝酸盐还原成为亚硝酸盐,再将亚硝酸盐还原产生 NO<sup>[9]</sup>。很早以前研究人员就发现植物能够释放出 NO,而且 NO 的释放量与植物体内的亚硝酸盐含量密切相关<sup>[10]</sup>。接着,研究人员发现活体植物细胞内的 NR 能够增加亚硝酸盐的积累量,并且能够催化亚硝酸盐释放出 NO<sup>[11-13]</sup>。随后,研究人员发现分离纯化的 NR 在植物体外同样能够将亚硝酸盐还原成 NO<sup>[14-16]</sup>。

植物根系细胞质中的 NR 活性受硝酸盐和氧气含量等外界环境因子的影响和调节<sup>[17]</sup>,在缺氧条件下,植物根系 NR 活性显著增强<sup>[18]</sup>,通常情况下,低亚硝酸盐水平的细胞质内开始积累亚硝酸盐,或者将过量积累的亚硝酸盐排出到质外体中<sup>[19-20]</sup>。除了光照、CO<sub>2</sub> 浓度等环境条件影响植物根系 NR 活性外,许多外源物质同样能够调节 NR 活性。例如,果糖能够显著刺激植物根系中 NR 活性,而叠氮化钠、谷胱甘肽等物质却能够抑制植物根系中的 NR 活性<sup>[21]</sup>。除了这些定位在根系细胞质中的硝酸还原酶外,植物根系细胞质膜上还结合着一类特异性的硝酸还原酶(plasma membrane-bound nitrate reductase, PM-NR),与细胞质中存在的硝酸还原酶不同,这些与质膜相结合的硝酸还原酶能够利用琥珀酸盐作为电子供体在细胞外质体中将硝酸盐还原成亚硝酸盐<sup>[22]</sup>。研究表明,外界的硝酸盐浓度由 5 mmol/L 增加到 25 mmol/L 时,烟草根系 PM-NR 活性呈线性显著增强,当外界硝酸盐浓度超过 25 mmol/L 时,PM-NR 活性开始降低<sup>[17]</sup>,这表明高浓度的硝酸盐能够抑制 PM-NR 活性。此外,植物根系细胞质膜上还存在 1 种特异性亚硝酸-NO 还原酶(nitrite-NO reductase, NI-NOR),该酶与质膜结合的硝酸还原酶(PM-NR)共同作用,将细胞质外体中的硝酸盐还原成 NO。与细胞质中的硝酸还原酶不同,这些结合在质膜上的亚硝酸还原酶不是利用 NADH 作为电子供体,而是利用还原型细胞色素 c 作为电子供体<sup>[20]</sup>。

自从 Crawford 等在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中发现了哺乳动物 NO 合成酶(NO synthase, NOS)基因的同源基因 AtNOS1 以来,越来越多的研究表明植物中存在着与哺乳动物中相类似的 NOS 活性<sup>[23]</sup>,该酶能够在 NADPH 作用下将 L-精氨酸氧化为 N-羟基精氨酸,再进一步氧化生成 NO 和 L-瓜氨酸<sup>[9]</sup>。植物根系中同样存在着这种 NOS<sup>[24]</sup>,在拟南芥 NOS 缺失突变体根系中,NO 含

量显著减少,植株正常的生长发育过程受到影响。由于检测方式的差异,目前有关 NOS 活性在细胞内的定位报道结果略有差异,但一般认为 NOS 活性主要定位在细胞质和过氧化物酶体中<sup>[23]</sup>。然而,也有一些学者开始质疑 AtNOS1 在拟南芥中作为 NOS 的功能,他们无法重复一些早期的试验结果,无法利用 AtNOS1 或者来自其他植物中的类似酶来催化 L-精氨酸产生 L-瓜氨酸或者 NO<sup>[9,25]</sup>。一些观点认为,尽管 AtNOS1 可能不是一个典型意义上的 NO 合成酶,但它还是与植物体内的 NO 合成和积累密切相关<sup>[9,23]</sup>。另一些观点认为,Crawford 研究小组从拟南芥中发现的不同于哺乳动物 NOS 的 NO 合成酶 AtNOS1 的功能有待进一步确认<sup>[26]</sup>,因而该基因被重新命名为 NOA1(nitric oxide associated 1),以避免和动物的 NOS 混淆<sup>[27-28]</sup>。

至今一些研究<sup>[29-31]</sup>同样验证了植物中 NOS 活性,但尚未从植物中发现具有确切 NOS 功能的基因或蛋白,从植物基因组中也未能发现与动物 NOS 具有高度同源性的基因<sup>[32]</sup>。总之,有关植物 NOS 研究领域充满挑战,同时存在重大的突破机遇,采用生化分析和巧妙的筛选策略分离相关突变体仍然是值得思索和实践的有效途径<sup>[33]</sup>。最近,Foresi 等<sup>[34]</sup>在 *Ostreococcus* 属的 2 个绿藻品种中分别克隆到依赖于 Arg 的 NOS 基因,这是首次有关植物 NOS 基因克隆的报道,该研究结果为证实植物中存在 NOS 提供了有力的直接证据。

笔者利用与 NO 特异性相结合的荧光染料 DAF-FM-DA 测定了不同处理下水稻幼苗根尖中的 NO 含量,试验结果表明,NOS 抑制剂 L-NMMA 处理能够显著降低水稻幼苗根尖中的 NO 含量,而 NR 抑制剂钨酸盐(tungstate)处理对水稻幼苗根尖中的 NO 含量没有明显影响,这说明 NOS 在水稻幼苗 NO 产生过程中发挥着重要作用,NOS 是水稻幼苗中合成 NO 的关键酶<sup>[6,24]</sup>。Zhao 等<sup>[35]</sup>在研究硝酸盐对玉米根尖伸长的抑制作用过程中同样发现 NOS 是玉米根尖中合成 NO 的关键酶。除了在单子叶植物水稻和玉米中外,在拟南芥和木槿等双子叶植物中,人们同样发现 NOS 是根尖中合成 NO 的关键酶<sup>[35-36]</sup>。

## 1.2 NO 的非酶促合成途径

除了通过酶促合成途径产生 NO 外,植物根系还能通过非酶促合成途径产生 NO<sup>[37-38]</sup>。在质外体中,抗坏血酸和酚类物质在低 pH 值条件下能够作

为还原剂直接将亚硝酸盐还原成为 NO<sup>[9,39]</sup>。此外,根际微生物的活动也是根中 NO 的重要来源,通过硝化或反硝化作用,根际土壤中的根瘤菌等微生物能够通过还原硝酸盐等途径产生 NO,增加植物根中的 NO 含量<sup>[20,39-40]</sup>。

## 2 NO 对植物根系生长发育的作用和影响

植物根系的生长发育受到内部遗传信息和外部环境因子的双重影响,除光照、水分、营养、氧气等外界环境的影响外,植物激素等信号分子同样对植物根系的生长发育起着重要调控作用。作为重要的气体信号分子,近年来有关 NO 参与植物根系生长发育

调节过程的相关报道不断增加,表 1 概括了近年来的主要相关报道。

### 2.1 NO 对植物根系伸长和重力感应的影响

NO 在植物根系伸长和重力感应过程中发挥着重要的作用。Gouver 等<sup>[3]</sup>首次报道了 NO 缓释剂处理能够诱导玉米根尖的伸长,NO 清除剂甲基蓝能够抑制 NO 缓释剂诱导的玉米根尖伸长,NO 诱导的根尖伸长还与 NO 浓度密切相关。此外,他们还推测 NO 和 IAA 在诱导玉米根尖伸长的过程中共享了某些信号转导途径。NO 不仅能够刺激白羽扇豆种子萌发和根系生长,还能有效缓解重金属 Pb 和 Cd 对根系生长的抑制作用,试验结果表明,NO 是通过激活 SOD 酶活性间接或直接清除重金属诱

表 1 有关 NO 参与调节植物根系生长发育过程的相关报道

Table 1 Reports on the involvement of NO during plant root growth and development

植物种类 Plant species	器官(组织) Organ(tissue)	生理过程 Process
玉米 <i>Zea mays</i> <sup>[3]</sup>	根尖 Root tip	促进根尖伸长 Inhibiting root tip elongation
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> <sup>[4,41-43]</sup>	外植体 Explant	促进不定根发生 Promoting adventitious root organogenesis
羽扇豆 <i>Lupinus luteus</i> <sup>[44]</sup>	根 Root	抑制根系生长 Inhibiting root growth
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> <sup>[5,45-46]</sup>	根 Root	促进侧根发生 Promoting lateral root organogenesis
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> <sup>[5]</sup>	主根 Primary root	抑制主根生长 Inhibiting primary root growth
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> <sup>[47]</sup>	根 Root	促进根毛发育 Promoting root hair development
莴苣 <i>Lactuca sativa</i> <sup>[47]</sup>	根 Root	促进根毛发育 Promoting root hair development
玉米 <i>Zea mays</i> <sup>[35]</sup>	根 Root	抑制根伸长 Inhibiting root elongation
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> <sup>[43]</sup>	外植体 Explant	促进不定根发生 Promoting adventitious root organogenesis
木槿 <i>Hibiscus moscheutos</i> <sup>[36]</sup>	根 Root	维持根系伸长 Maintaining root elongation
水稻 <i>Oryza sativa</i> <sup>[6,40]</sup>	根 Root	抑制根系生长 Inhibiting root growth
苜蓿 <i>Medicago truncatula</i> <sup>[48]</sup>	根 Root	调节谷胱甘肽含量 Regulating GSH content
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> <sup>[49]</sup>	根 Root	调节纤维素含量 Regulating cellulose content
小麦 <i>Triticum aestivum</i> <sup>[50]</sup>	根 Root	抑制根系生长 Inhibiting root growth
人参 <i>Panax ginseng</i> <sup>[51]</sup>	根 Root	促进不定根发生 Promoting adventitious root organogenesis
水稻 <i>Oryza sativa</i> <sup>[6,52]</sup>	根 Root	促进不定根发生 Promoting adventitious root organogenesis
水稻 <i>Oryza sativa</i> <sup>[53]</sup>	根 Root	调节细胞壁成分 Regulating cell wall composition

导产生的 ROS 来缓解毒害作用的<sup>[44]</sup>。研究表明,NO 对维持木槿(*Hibiscus moscheutos*)和玉米根系的伸长同样是不可缺少的,NO 特异性清除剂[2-(4-carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide(cPTIO)]处理能够显著抑制根系的伸长<sup>[35-36]</sup>。除了直接参与维持植物根系伸长外,外源 NO 处理还能够显著缓解重金属 Cd、Pb、Cu、Al 以及盐胁迫对植物根系伸长造成的抑制<sup>[6,35-36,54-57]</sup>。现在一般认为外源 NO 缓解逆境对植物根系伤害的机理包括以下三点:第一,作为抗氧化直接清除逆境胁迫诱导产生的 ROS;第二,调节根系抗氧化酶系统清除逆境胁迫诱导产生的 ROS;第三,激活一系

列逆境抗性基因的表达和调控<sup>[24]</sup>。然而,NO 缓解植物逆境伤害的全部生理机制至今还未被完全阐明,其中许多过程和方式还不为人知。

除了维持根系伸长以及缓解逆境环境对根系伸长的抑制外,NO 还能够抑制植物根系的伸长。Kopyra 等<sup>[44]</sup>研究发现,高浓度的外源 NO 能够有效抑制白羽扇豆根系的发生和伸长,高浓度的外源 NO 同样能够显著抑制番茄根系的伸长<sup>[5]</sup>。研究还表明,根内积累的高浓度 NO 同样能够有效抑制水稻和小麦根系的伸长和生长<sup>[40,50]</sup>。这些结果表明,NO 对植物根系伸长和生长的影响与其浓度密切相关。一般而言,低浓度的 NO 能够维持甚至促进根

系的生长和伸长,而高浓度的 NO 对根系的伸长和生长具有抑制作用。笔者的研究<sup>[6]</sup>结果证实了这一观点,低浓度的 NO 能够促进水稻幼苗根系伸长,而高浓度的 NO 抑制了水稻幼苗根系的伸长。试验结果还表明,NO 清除剂 cPTIO 处理显著降低了水稻根尖 NO 含量,但对水稻幼苗冠根的伸长没有抑制作用,这表明内源 NO 含量对维持水稻幼苗冠根伸长不是必需的,很有可能 NO 在双子叶植物主根伸长过程中起着十分重要的作用<sup>[6,24]</sup>。

重力感应过程中根尖积累的 NO 同样显著增加<sup>[5,47,58]</sup>。施用 NO 特异性清除剂 cPTIO 能够有效阻碍生长素诱导的不定根、侧根和根毛的发生以及根重力感应现象,这表明内源 NO 在调节根系重力感应过程中同样发挥着重要的作用。

## 2.2 NO 对不定根、侧根和根毛发生的影响

近年来,有关 NO 调节植物侧根、不定根和根毛发生的报道不断增多,研究人员对 NO 在植物根系发生过程中的作用认识愈加深刻。研究<sup>[45]</sup>证实了 NO 在黄瓜不定根、番茄侧根和拟南芥根毛发生过程中的作用。研究人员在研究吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)诱导黄瓜下胚轴产生不定根时发现,NO 清除剂 cPTIO 处理能够抑制 IAA 诱导的不定根的形成,而且外源 NO 处理能够模拟 IAA 诱导黄瓜下胚轴不定根的产生<sup>[4]</sup>。进一步深入研究<sup>[4,36-38]</sup>结果表明,自上而下转运的 IAA 能够诱导 NO 在黄瓜下胚轴基部的积累,随着 NO 含量的增加,通过激活 cADPR 或 IP<sub>3</sub> 信号通路调节释放出细胞内储存的 Ca<sup>2+</sup>,或者通过激活细胞质膜上的 Ca<sup>2+</sup> 通道,将细胞外的 Ca<sup>2+</sup> 泵进细胞质中,提高细胞质中的 Ca<sup>2+</sup> 浓度,激活依赖 Ca<sup>2+</sup> 的蛋白激酶(calcium-dependent protein kinases, CDPKs),最终促进不定根的发生。研究还发现,外源 NO 能够减轻 Cu 毒害诱导产生的氧化胁迫,恢复 Cu 毒害造成的人参(*Panax ginseng*)不定根的减少<sup>[51]</sup>。

笔者在研究<sup>[6,24]</sup> Cd 对水稻幼苗根系毒害作用的过程中发现,NOS 是水稻幼苗中合成 NO 的关键酶,Cd 胁迫抑制了 NOS 活性,降低了内源 NO 含量,而一定浓度的 NO 对于维持水稻幼苗不定根根原基的发生是十分必要的,因此 Cd 胁迫能够减少水稻幼苗不定根的发生,外源 NO 处理弥补了 Cd 毒害造成的 NO 含量减少,恢复了不定根数目。通过对水稻幼苗根茎结合部进行切片显微观察,发现 NO 参与调节了水稻幼苗不定根原基的分化和形

成,而对不定根的伸长来讲不是必需的,这两个过程所受的 NO 信号调节过程不完全一致<sup>[6,24]</sup>。

外源使用的 NO 能够显著诱导番茄(*Lycopersicon esculentum*)侧根的形成,与此相反,NO 特异性清除剂 cPTIO 处理抑制了番茄侧根的形成。生长素转运抑制剂 NPA 处理导致的侧根形成抑制同样能够通过使用外源 NO 得以缓解,这表明 NO 可能作为生长素下游的信号分子参与诱导番茄侧根的形成<sup>[5,45]</sup>。在研究固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)诱导番茄侧根发生时,研究人员同样发现 NO 参与了该过程,NO 特异性清除剂 cPTIO 处理彻底抑制了固氮螺菌诱导的番茄侧根的形成,且 NO 缓释剂硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)能够部分恢复 cPTIO 造成的侧根形成抑制<sup>[46]</sup>。

作为根尖成熟区的特殊表皮结构,根毛在水分和养分吸收过程中起着重要的作用,根毛的形成受激素、温度、环境 pH 以及 P、Fe 等养分的影响。NO 作为生长素的下游信号分子参与了莴苣和拟南芥根毛的形成,且 NO 在根毛形成过程中参与的信号转导途径与在根形成过程中参与的信号转导途径相类似<sup>[47]</sup>。

## 2.3 NO 对根系结构和成分的影响

除了调控根系伸长和生长,参与不定根、侧根和不定根的形成外,NO 还能够影响植物根系的结构和成分。谷胱甘肽(glutathione, GSH)作为抗氧化剂以及金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)和植物螯合肽(phytochelatins, PCs)的前体,在植物中具有重要的功能。研究表明,NO 能够调控苜蓿根部 GSH 的合成,而且对 2 种 GSH 合成酶基因 *gshs* 和 *hgshs* 的表达调控作用有所不同<sup>[48]</sup>。此外,NO 能够通过调节番茄根系中的纤维素合成酶基因 *SIC-ESA1* 和 *SICESA3* 的表达和转录水平来改变根系中的纤维素含量和根系细胞壁结构,低浓度的 NO 处理能够增加根系中的纤维素含量,高浓度的 NO 处理降低了根系中的纤维素含量<sup>[49]</sup>。

笔者在研究水稻根系细胞成分变化过程中也观察到类似结果,低浓度的 NO 能够增加水稻根系细胞壁中的纤维素含量,高浓度的 NO 处理降低了根系细胞壁中的纤维素含量<sup>[53]</sup>。此外,还发现 NO 除了影响水稻根系细胞壁中的纤维素含量之外,还能够改变果胶和半纤维素的含量,NO 正是通过增加水稻根系细胞壁中的果胶和半纤维素的含量来缓解 Cd 对水稻的毒害作用的<sup>[24,53]</sup>。

### 3 NO在植物根系生长发育过程中参与的信号转导和基因表达调控

NO作为易扩散的气体小分子,似乎不存在特异性的受体。然而,细胞能够感受到NO信号分子。植物中的NO信号转导过程同动物中的信号转导过程相类似,包括依赖环鸟苷单磷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的信号转导和不依赖cGMP的信号转导2条途径<sup>[59]</sup>,其中不依赖cGMP的信号转导途径还包括NO通过直接调节转录因子构象来调节植物基因表达<sup>[60]</sup>。目前有关NO在植物根系生长发育过程中信号转导途径的研究结果均表明,NO既可通过依赖cGMP的信号转导途径又可通过不依赖cGMP的信号转导途径来参与调控植物根系生长发育的。

#### 3.1 NO作为生长素的下游信号分子参与依赖于cGMP的信号转导途径

作为最早发现的植物激素,生长素在调节植物根系生长发育过程中的作用已被人们广泛接受。研究显示,NO不仅能够模拟IAA诱导植物不定根、侧根和根毛的发生,而且还能够模拟IAA刺激根系的伸长以及重力感应作用。此外,NO能够有效逆转抑制生长素由上向下运输的抑制剂N-1-萘基酞氨酸(N-1-naphthyl phthalamic acid, NPA)的作用,且生长素诱导的细胞周期调控基因的表达能够被NO特异性清除剂cPTIO所阻止或延迟<sup>[5,41,58]</sup>。这些研究结果表明,NO很有可能作为生长素下游的信号分子参与调节植物根系的生长发育,这表明内源NO是生长素起作用所必需的。在植物中,向下运输的生长素能够通过未知的途径诱导NO的产生并促进不定根的形成,这表明在目前已知的生长素诱导的植物根系生长发育过程中,诱导合成NO是一个普遍的信号途径。

NO能够通过调节鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase, GC)活性迅速增加细胞内的重要信号分子cGMP的浓度。据报道<sup>[61-62]</sup>,GC抑制剂6-苯胺-5,8-喹啉二酮(6-anilino-5,8-quinilinedione)能够抑制生长素和NO处理诱导的黄瓜下胚轴不定根的形成,而且使用能够透过细胞膜的cGMP类似物8-Br-cGMP处理能够逆转该抑制作用,该证据有力证实了NO作为生长素的下游信号分子通过激活GC活性,催化合成cGMP来诱导不定根的形成。cGMP能够通过激活蛋白激酶产生第二信使环腺苷

二磷酸核糖(cyclic adenosine diphosphate ribose, cADPR)来调节各种植物细胞内的Ca<sup>2+</sup>浓度。使用阻碍cADPR/雷洛定敏感Ca<sup>2+</sup>通道或阻碍cADPR合成的药物也能够抑制NO诱导的不定根的发生,这表明cADPR参与了植物不定根的形成<sup>[43]</sup>。IP<sub>3</sub>能够激活依赖于IP<sub>3</sub>的Ca<sup>2+</sup>通道,诱导储存在植物细胞内内质网和液泡中的Ca<sup>2+</sup>向外释放,或者通过激活细胞质膜上的Ca<sup>2+</sup>通道,将细胞外的Ca<sup>2+</sup>泵进细胞质中,提高细胞质内的Ca<sup>2+</sup>浓度,进一步激活依赖Ca<sup>2+</sup>的蛋白激酶(CDPKs),最终促进不定根的发生<sup>[4,41-43]</sup>。依赖于IP<sub>3</sub>的Ca<sup>2+</sup>通道抑制剂能够显著抑制生长素或NO诱导的不定根的发生。cADPR同IP<sub>3</sub>一样,是能够激活Ca<sup>2+</sup>通道的第二信使,研究<sup>[4,41-43]</sup>表明,cADPR能够同IP<sub>3</sub>一道激活Ca<sup>2+</sup>通道,提高细胞质内的Ca<sup>2+</sup>浓度,并进一步激活依赖于Ca<sup>2+</sup>的蛋白激酶(CDPKs),参与NO和生长素诱导的信号响应途径,诱导不定根的发生。

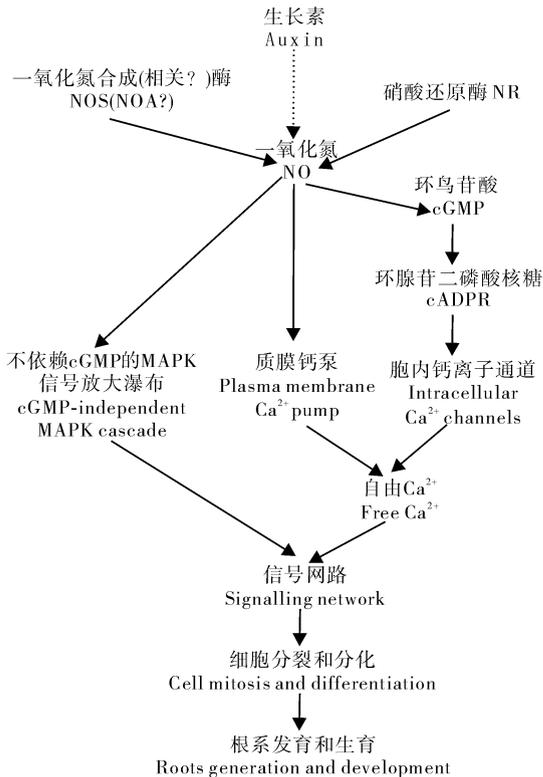
#### 3.2 NO作为生长素的下游信号分子参与不依赖于cGMP的信号转导途径

生长素在诱导植物不定根形成过程中能通过激活分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)来进行信号级联放大。利用NO特异性清除剂cPTIO处理能够抑制生长素激活的MAPK活性,表明NO在该过程中具有重要的意义<sup>[4,41-43]</sup>。同时,NO诱导的MAPK活性不受GC抑制剂LY83583的影响,表明MAPK介导的信号级联放大过程似乎不依赖cGMP的存在<sup>[42]</sup>。这说明NO除了能够作为生长素的下游信号分子通过cGMP信号途径来直接激活MAPK活性外,还能够作为生长素的下游信号分子不经过cGMP信号途径直接激活MAPK活性,进行信号级联放大,促进不定根的发生。

综上所述,现有的研究结果表明,植物中,向下运输的生长素能够通过未知的途径诱导NO的产生,NO通过激活GC活性增加细胞内的cGMP含量,然后cGMP通过增加cADPR和IP<sub>3</sub>等其他可能的第二信使分子水平来提高细胞质内Ca<sup>2+</sup>浓度和CDPK活性,促进不定根形成。此外,NO还能够激活不依赖于cGMP的MAPK活性进行信号级联放大过程,促进不定根形成。NO激活的所有这些途径似乎是不定根形成所必需的,当其中任何一个途径被抑制的时候,生长素和NO的诱导效果就会丧失。

### 3.3 NO 参与细胞周期调控基因的表达和调控

据报道<sup>[63]</sup>,生长素能够通过细胞周期中刺激 G1 期向 S 期的转换来刺激植物侧根的形成,运用生长素可以诱导 A、B、D 型细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖型蛋白激酶 (cyclin-dependent-kinases, CDKs) 的表达。此外,生长素能够抑制将细胞周期阻碍在 G1 期的休眠相关蛋白 (kip-related protein, KRPs) 的表达<sup>[63-64]</sup>,促进细胞由 G1 期向 S 期转换。有意思的是,生长素诱导的细胞周期调节基因的表达能够被 NO 特异性清除剂 cPTIO 所阻止或延迟,这表明内源 NO 是生长素起作用所必需的。研究<sup>[5]</sup>结果表明,NO 诱导的侧根形成也是生长素诱导的信号级联放大过程的一部分,生长素处理后利用 NO 特异性抑制剂 cPTIO 清除内源 NO 的时间序列试验阻碍了侧根的形成,表明 NO 是促进侧根发育第一步,调节细胞周期过程和诱导侧根原基形成过程所必需的<sup>[45]</sup>。



实线箭头表示已证实的信号途径,虚线箭头表示尚未证实的信号途径。A solid arrow indicates proved signaling pathway and a dashed arrow indicates unproved signaling pathway.

图 1 NO 参与植物根系发生和发育过程中的主要信号转导途径

Fig. 1 Schematic illustration of a proposed model for NO signalling pathway of roots generation and development

据报道<sup>[62,64-65]</sup>,在不同植物器官或植物细胞悬浮培养物中,NO 参与了调节细胞分裂过程。在番茄侧根形成过程中,对细胞周期调节基因的表达分析显示,NO 能够诱导与 G1 期向 S 期转换过程相关的细胞周期蛋白 CYCA2;1, CYCD3;1 和细胞周期蛋白依赖激酶 CDKA1 的表达,且 NO 对 CYCD3;1 的表达影响尤为显著<sup>[45]</sup>。在清除了 NO 的番茄根当中, CYCD3;1 的表达水平很低,而 CDK 抑制剂 KRP2 mRNA 的表达水平较高, CDKA1 则是组成型表达的,表达水平没有明显变化。随着生长素或 NO 的添加, KRP2 的转录水平迅速增加,同时伴随着 CYCD3;1 的显著积累<sup>[45]</sup>。

此外,生长素转运抑制剂 NPA 能够诱导细胞周期阻碍在 G1 期<sup>[62]</sup>,而在 NPA 处理下,NO 能够快速激活 CYCD3;1 mRNA 的积累,这表明在清除了生长素的根中,NO 能够诱导 CYCD3;1 的积累<sup>[45]</sup>。

总之,这些研究结果表明,在植物侧根形成过程中,NO 作为生长素下游的信号分子参与信号级联放大过程,NO 能够调节周期调控蛋白基因的表达以及 CDKs 的活性。图 1 简要概括了 NO 参与植物根系发生和发育过程中的主要信号转导过程。

## 4 展望

虽然已知 NO 能够作为生长素的下游信号分子诱导产生 cGMP、cADPR、IP<sub>3</sub>、Ca<sup>2+</sup> 等第二信使分子来激活 MAPK 活性,促进根系的生长发育,但这些第二信使分子之间产生的先后顺序和相互作用关系还没有彻底弄清楚。研究人员已知在侧根发育和胚性细胞形成过程中 NO 能够影响细胞周期调节基因的表达,研究 NO 是否是其他生长发育阶段所必须的将十分有意义。同时,研究细胞分裂过程中 NO 和细胞分裂素、ABA、油菜素内酯其他激素或分子之间的相互关系同样前景诱人。

关于 NO 通过调节水稻根系细胞壁成分来减轻重金属 Cd 毒害的研究报道结果也扩展了人们对 NO 功能的新认识<sup>[53]</sup>。除了缓解 Cd 毒害外,NO 是否还能通过调节水稻根系结构和成分来抵御其他非生物学和生物学逆境胁迫,NO 又是如何调节水稻根系结构和成分的,这些与根系生长发育相关的问题同样值得深入研究和探讨。

## 参 考 文 献

- [1] ITOH J, NONOMURA K, IKEDA K, et al. Crown rootless1, which is essential for crown root formation in rice, is a target of auxin response factor in auxin signaling[J]. *Plant Cell*, 2005, 17:1387-1396.
- [2] XU M, ZHU L, SHOU H X, et al. A PIN1 family gene, OsPIN1, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice[J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46:1674-1681.
- [3] GOUVER C M C P, SOUZA J F, MAGALHAES C A N, et al. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments[J]. *Plant Growth Regul*, 1997, 21:183-187.
- [4] PAGNUSSAT G C, SIMONTACCHI M, PUNTARULO S, et al. Nitric oxide is required for root organogenesis[J]. *Plant Physiol*, 2002, 129:954-956.
- [5] CORREA-ARAGUNDE N, GRAZIANO M, LAMATTINA L. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato[J]. *Planta*, 2004, 218:900-905.
- [6] XIONG J, LU H, LU K, et al. Cadmium decreases crown root number by decreasing endogenous nitric oxide, which is indispensable for crown root primordia initiation in rice seedlings[J]. *Planta*, 2009, 230:599-610.
- [7] STÖHR C, ULLRICH W R. Generation and possible roles of NO in plant roots and their apoplastic space[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53:2293-2303.
- [8] NEILL S, BRIGHT J, DESIKAN R, et al. Nitric oxide evolution and perception[J]. *J Exp Bot*, 2008, 59:25-35.
- [9] CRAWFORD N M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants[J]. *J Exp Bot*, 2006, 57:471-478.
- [10] KLEPPER L A. Nitric-oxide(NO) and nitrogen-dioxide (NO<sub>2</sub>) emissions from herbicide-treated soybean plants[J]. *Atmos Environ*, 1979, 13:537-542.
- [11] HARPER J E. Evolution of nitrogen oxides during *in vivo* nitrate reductase assay of soybean leaves [J]. *Plant Physiol*, 1981, 68:1488-1493.
- [12] KLEPPER L A. Nitric oxide emissions from soybean leaves during *in vivo* nitrate reductase assays [J]. *Plant Physiol*, 1987, 85:96-99.
- [13] KLEPPER L A. Comparison between NO evolution mechanisms of wild-type and nrl mutant soybean leaves[J]. *Plant Physiol*, 1990, 93:26-32.
- [14] YAMASAKI H, SAKIHAMA Y, TAKAHASHI S. An alternative pathway for nitric oxide production in plants: new features of an old enzyme[J]. *Trends Plant Sci*, 1999(4):128-129.
- [15] YAMASAKI H. Nitrite-dependent nitric oxide production pathway: implications for involvement of active nitrogen species in photoinhibition *in vivo*[J]. *Biol Sci*, 2000, 355:1477-1488.
- [16] ROCKEL P, STRUBE F, ROCKEL A, et al. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*[J]. *J Exp Bot*, 2000, 53:103-110.
- [17] STÖHR C. Relationship of nitrate supply with growth rate plasma membrane-bound and cytosolic nitrate reductase, and tissue nitrate content in tobacco plants[J]. *Plant Cell Environ*, 1999, 22:169-177.
- [18] STOIMENOVA M, LIBOUREL I G L, RATCLIFF R G, et al. The role of root nitrate reduction in the anoxic metabolism of roots. II. Anoxic metabolism of tobacco roots with or without nitrate reductase activity[J]. *Plant Soil*, 2003, 253:155-167.
- [19] BOTREL A, MAGNÉ C, KAISER W M. Nitrate reduction, nitrite reduction and ammonium/leucine assimilation in barley roots in response to anoxia[J]. *Plant Physiol Bioch*, 1996, 34:645-652.
- [20] STÖHR C, STREMLAU S. Formation and possible roles of nitric oxide in plant roots[J]. *J Exp Bot*, 2006, 57:463-470.
- [21] KAISER W M, WEINER H, HUBER S C. Nitrate reductase in higher plants: a case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity [J]. *Physiol Plant*, 1999, 105:384-389.
- [22] FOREY C H, GRAHAM N. Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon metabolism[M]. London: Kluwer Academic Publishers, 2002:49-62.
- [23] DEL-RÍO L A, COROAS F J, BARROSO J B. Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65:783-792.
- [24] 熊杰. NO 缓解水稻镉毒害的作用及其生理机制[D]. 杭州:浙江大学图书馆, 2009.
- [25] GUO F, OKAMOTO M, CRAWFORD N M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling [J]. *Science*, 2003, 302:100-103.
- [26] ZEMOJTEL T, FRÖHLICH A, PALMERI M C, et al. Plant nitric oxide synthase: a never-ending story? [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11:524-525.
- [27] CRAWFORD N M, GALLI M, TISCHNER R, et al. Response to Zemojtel et al: plant nitric oxide synthase: back to square one[J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11:526-527.
- [28] GUO F Q. Plant nitric oxide synthase: AtNOS1 is just the beginning[J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11:527-528.
- [29] CORPAS F J, BARROSO J B, CARRERAS A, et al. Constitutive arginine-dependent nitric oxide synthase activity in different organs of pea seedlings during plant development[J]. *Planta*, 2006, 224:246-254.
- [30] VALDERRAMA R, CORPAS F J, CARRERAS A, et al. Nitrosative stress in plants[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581:453-461.
- [31] CHAKI M, FERNÁNDEZ-OCANA A M, VALDERRAMA R, et al. Involvement of reactive nitrogen and oxygen species (RNS and ROS) in sunflower-mildew interaction [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50:265-279.

- [32] The *Arabidopsis* Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature*, 2002, 408: 796-815.
- [33] 刘维仲, 张润杰, 裴真明, 等. NO 在植物中的信号分子功能研究: 进展和展望 [J]. *自然科学进展*, 2008, 18(1): 10-24.
- [34] FORESI N, CORREA-ARAGUNDE N, PARISI G, et al. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth phase dependent [J]. *Plant Cell*, 2010, 22: 3816-3830.
- [35] ZHAO D Y, TIAN Q Y, LI Y H, et al. Nitric oxide is involved in nitrate-induced inhibition of root elongation in *Zea mays* [J]. *Ann Bot*, 2007, 100: 497-503.
- [36] TIAN Q Y, SUN D H, ZHAO M G, et al. Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) underlies aluminum-induced inhibition of root elongation in *Hibiscus moscheutos* [J]. *New Phytol*, 2007, 174: 322-331.
- [37] COONEY R V, HARWOOD P J, CUSTER L J, et al. Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids [J]. *Environ Health Perspect*, 1994, 102: 460-462.
- [38] WENDEHENNE D, PUGIN A, KLESSIG D F, et al. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells [J]. *Trends Plant Sci*, 2001(6): 177-183.
- [39] BETHKE P C, BADGER M R, JONES R L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues [J]. *Plant Cell*, 2004(16): 332-341.
- [40] PERRINE-WALKER F M, GARTNER E, HOCART C H, et al. Rhizobium-initiated rice growth inhibition caused by nitric oxide accumulation [J]. *Mol Microbe-Plant Interact*, 2007, 20: 283-292.
- [41] PAGNUSSAT G C, LANTERI M L, LAMATTINA L. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132: 1241-1248.
- [42] PAGNUSSAT G C, LANTERI M L, LOMBARDO M C, et al. Nitric oxide mediates the indole acetic acid induction activation of a mitogen-activated protein kinase cascade involved in adventitious root development [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 279-285.
- [43] LANTERI M L, PAGNUSSAT G C, LAMATTINA L. Calcium and calcium-dependent protein kinases are involved in nitric oxide- and auxin-induced adventitious root formation in cucumber [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57: 1341-1352.
- [44] KOPYRA M, GWÓŃDE. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus* [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2003, 441: 1011-1017.
- [45] CORREA-ARAGUNDE N, GRAZIANO M, CHEVALIER C. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57: 581-588.
- [46] CREUS C M, GRAZIANO M, CASANOVAS E M, et al. Nitric oxide is involved in *Azospirillum brasilense*-induced lateral formation in tomato [J]. *Planta*, 2005, 221: 297-303.
- [47] LOMBARDO M C, GRAZIANO M, POLACCO J C, et al. Nitric oxide functions as a positive regulator of root hair development [J]. *Plant Signal Behav*, 2006(1): 28-33.
- [48] INNOCENTI G, PUCCIARIELLO C, LE GLEUHER M, et al. Glutathione synthesis is regulated by nitric oxide in *Medicago truncatula* roots [J]. *Planta*, 2007, 225: 1597-1602.
- [49] CORREA-ARAGUNDE N, LOMBARDO C, LAMATTINA L. Nitric oxide: an active nitrogen molecule that modulates cellulose synthesis in tomato roots [J]. *New Phytol*, 2008, 179: 386-396.
- [50] GROPPA M D, ROSALES E P, IANNONE M F, et al. Nitric oxide, polyamines and Cd-induced phytotoxicity in wheat roots [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 2609-2615.
- [51] TEWARI R K, HAHN E J, PAEK K Y. Modulation of copper toxicity-induced oxidative damage by nitric oxide supply in the adventitious roots of *Panax ginseng* [J]. *Plant Cell Rep*, 2008, 27: 171-181.
- [52] XIONG J, TAO L, ZHU C. Does nitric oxide play a pivotal role downstream of auxin in promoting crown root primordial initiation in monocots? [J]. *Plant Signal Behav*, 2009(4): 1-3.
- [53] XIONG J, AN L, LU H, et al. Exogenous nitric oxide enhances cadmium tolerance of rice by increasing pectin and hemicellulose content in root cell wall [J]. *Planta*, 2009, 230: 755-765.
- [54] HU Y T, KAO C H. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves [J]. *Plant Growth Regul*, 2004, 42: 227-238.
- [55] LASPINA N V, GROPPA M D, TOMARO M L, et al. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress [J]. *Plant Sci*, 2004, 169: 323-330.
- [56] WANG Y S, YANG Z M. Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L. [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 1915-1923.
- [57] SINGH H P, BATISH D R, KAUR G, et al. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots [J]. *Environ Exp Bot*, 2008, 63: 158-167.
- [58] HU X, NEILL S J, TANG Z, et al. Nitric oxide mediates gravitropic bending in soybean roots [J]. *Plant Physiol*, 2005, 137: 663-670.
- [59] ARASIMOWICZ M, FLORYSZAK-WIECZOREK J. Nitric oxide as a bioactive signaling molecule in plant stress responses [J]. *Plant Sci*, 2007, 172: 876-887.
- [60] NEILL S J, DESIKAN R, HANCOCK J T. Nitric oxide signaling in plants [J]. *New Phytol*, 2003, 159: 11-35.
- [61] SANDERS D, BROWNLEE C, HARPER J F. Commol/Lunifacating with calcium [J]. *Plant Cell*, 1999, 11: 691-706.
- [62] HIMANEN K, BOUCHERON E, VANNESTE S, et al. Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation [J]. *Plant Cell*, 2002, 14: 2339-2351.
- [63] DE VEYLDER L, BEECKMAN T, BEEMSTER G T, et al.

- Functional analysis of cyclin-dependent kinase inhibitors of *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2001, 13:1653-1668.
- [64] BURSSSENS S, DE-ALMEIDA ENGLER J, BEECKMAN T, et al. Developmental expression of the *Arabidopsis thaliana* *CycA2;1* gene[J]. *Planta*, 2002, 211:623-631.
- [65] ROUDIER F, FEDOROVA E, LEBRIS M, et al. The *Medicago* species A2-type cyclin is auxin regulated and involved in meristem formation but dispensable for endoreduplication-associated development programs[J]. *Plant Physiol*, 2003, 131:1091-1103.

## Roles of nitric oxide in growth of plant root

XIONG Jie FU Guan-fu YANG Yong-jie TAO Long-xing

*China National Rice Research Institute/State Key Laboratory of Rice Biology,  
Hangzhou 310006, China*

**Abstract** The roles of nitric oxide (NO), a significant gas signaling molecule, in regulating plant physiology progress and modulating signal transduction is being a novel hotspot of researches. In recent decades, a great deal of important progress have been achieved on the roles of NO in the generation and development of plant root, especially on the generation of endogenous NO from plant roots, the details of NO-participated progress of root generation and development, and the related signaling pathways. In order to get further understanding of the roles of NO in plants, the update advances in studying the generation of endogenous NO in plant root and the mechanisms and signaling pathways of NO in promoting generation and development of plant root are reviewed.

**Key words** nitric oxide; root generation and development; signal transduction; nitric oxide synthase; nitrate reductase

(责任编辑:陆文昌)