



植物一氧化氮合成代谢与信号转导研究进展与展望

龚心如^{1,2}, 詹妮^{1,2}, 胡济梁^{1,2}, 左建儒^{1,2,3}, 陈立超^{1,2*}

1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 中国科学院分子植物科学卓越创新中心, 北京 100101

* 联系人, E-mail: lcchen@genetics.ac.cn

收稿日期: 2022-04-20; 接受日期: 2022-06-17; 网络版发表日期: 2022-09-26

国家自然科学基金(批准号: 32170312, 31830017)资助

摘要 一氧化氮(nitric oxide, NO)是有机体内一种重要的气体信号小分子, 通过介导S-亚硝基化修饰、酪氨酸硝基化修饰等翻译后修饰, 影响蛋白的稳定性和活性. 在植物中, NO调控生长发育和胁迫响应等多个生物学过程, 并与植物激素、活性氧等信号分子之间形成复杂的交互调控网络, 精细调控植物生长发育的各阶段, 以维持植物的正常生命活动. 本文概述了NO的合成与代谢、作用机制, 以及NO在植物生长发育、胁迫响应中的重要生物学功能.

关键词 一氧化氮, 信号分子, S-亚硝基化修饰, 硝基化修饰

一氧化氮(nitric oxide, NO)是结构简单、性质活泼、无色无味、难溶于水但具有一定脂溶性的气体自由基小分子. 20世纪80年代以前, NO一直被认为是没有生物学功能的大气污染物组分. 1980年, Furchgott等人^[1~3]发现乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)舒张血管的作用是依赖于血管内皮释放的一种可扩散物质, 该物质促进血管平滑肌舒张, 因此被命名为血管内皮舒张因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF). 之后内皮舒张因子的化学本质被证实为NO. 至此, NO作为生物体内重要的信号转导分子进入研究者的视野, 在维持血管平滑肌舒张、稳定血压、神经传递、细胞凋亡等生理途径发挥重要功能^[4~6].

NO在植物中的研究起步稍晚, 但越来越多的研究证实NO作为植物体内重要的信号分子, 广泛参与植物生长发育和胁迫应答, 包括种子的休眠与萌发、根部形态建成、气孔开闭、开花、叶片衰老等生理过程^[7~16]. 本文将从NO合成代谢、生理功能及作用方式等方面介绍近年来植物NO研究领域的重要进展.

1 NO的合成与代谢

1.1 NO的合成

动物中NO主要通过一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)途径合成^[17], NOS以L-精氨酸(L-argi-

引用格式: 龚心如, 詹妮, 胡济梁, 等. 植物一氧化氮合成代谢与信号转导研究进展与展望. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 322–333

Gong X R, Zhan N, Hu J L, et al. A perspective view of nitric oxide: biosynthesis, metabolism and signaling in plants (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 322–333, doi: [10.1360/SSV-2022-0075](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0075)

nine)和O₂为底物, 利用还原态烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)提供的还原力, 催化L-精氨酸氧化形成羟基精氨酸, 进一步氧化生成副产物L-瓜氨酸(L-citrulline)并释放出NO.

利用生物化学等方法, 研究人员发现多种植物存在具有NOS活性的蛋白. Cueto等人^[18]发现羽扇豆属(*Lupinus albus*)的根瘤提取物可以催化L-精氨酸产生NO和L-瓜氨酸, NOS抑制剂L-N-单甲基精氨酸(L-N-monomethyl arginine, L-NMMA)能够竞争性抑制NO的合成. Corpas等人^[19]利用NO的荧光探针DAF-2 DA和DAF-FM DA, 在豌豆的叶片、茎和根中检测到NO, 而NOS抑制剂氨基胍(aminoguanidine)明显抑制NO积累, 显示豌豆中可能存在具有NOS活性的蛋白. 在拟南芥(*Arabidopsis*)中, 最初鉴定到AtNOS1蛋白被误认为是NOS, 外源施加NO能够挽救Atnos1突变体的矮化、黄叶表型, 过表达NOS1基因能够提高植物体内NOS活性^[20]. 但生化实验表明AtNOS1并不能催化L-精氨酸合成L-瓜氨酸和NO, 因此AtNOS1并不是一个典型意义上的NOS. 进一步研究表明, NOS1的生化本质是一个GTP酶(GTPase), 其对NO的调控依赖于GTP酶活性, 所以该蛋白被重新命名为NOA1(nitric oxide associated protein 1)^[21]. 尽管利用哺乳动物NOS抑制剂在多种植物提取物中检测到NOS活性, 但高等植物中尚未发现类似动物NOS同源蛋白. 植物中仅在单细胞海洋绿藻——牛头芽孢杆菌(*Ostreococcus tauri*)中鉴定到NOS, 其序列特征与动物的3类一氧化氮合酶eNOS, iNOS和nNOS的相似度分别为42%, 43%和34%^[22]. 对1000多种陆生植物和藻类的转录本数据进行搜索比对, 在陆生植物中没有发现典型NOS序列, 而在265种藻类中鉴定到15种NOS-like序列, 表明不同于动物, 陆生植物可能已经进化出新的NO合成途径^[23].

目前的研究表明, 植物NO合成分为酶促途径和非酶促途径(图1). 硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)途径是植物NO合成的主要酶促途径. 在植物氮同化过程中, 位于细胞质的NR以NAD(P)H为电子供体, 通过转移两个电子, 将硝酸盐还原为亚硝酸盐, 同时NR也可以利用NAD(P)H的还原力进一步将亚硝酸盐还原生成NO^[24]. Yamasaki和Sakihama^[25]利用电化学及化学发光的方法检测到NR在NADH和亚硝酸盐存在的条件下催化NO合成, 这一过程能够被NR抑制剂叠氮化钠

有效阻断, 表明亚硝酸盐可以作为NR的底物促进NO合成. 向日葵(*Helianthus annuus*)和菠菜(*Spinacia oleracea*)叶片的NO积累部分依赖于NR, 显示NR参与植物体内NO合成^[26]. Berger等人^[27]最近的研究表明, 在苜蓿(*M. truncatula*)与根瘤菌(*Rhizobium*)共生过程中, NO的合成与MtNR1和MtNR2的表达以及NR活性密切相关, MtNR1和MtNR2在合成NO的结节原基和成熟结节的固定区特异性表达, 并且NR抑制剂钨酸盐显著降低NO的产生^[28]. Horchani等人^[29]也证明在MtNR1和MtNR2的RNAi苜蓿株系结节中NO合成降低, 而野生型结节在施加NO₃⁻或NO₂⁻后, NO的水平上升, 说明NR对于共生过程中NO的合成具有不可或缺的作用.

NO也可以由质膜结合蛋白亚硝酸-一氧化氮还原酶(nitrite-NO reductase, Ni-NOR)催化合成. 在烟草根部, 当pH为6.0时, Ni-NOR以还原型细胞色素c为电子供体, 将亚硝酸盐还原为NO^[30]. 盐胁迫下, 在黄瓜幼苗根系中也检测到较高的Ni-NOR活性, 根系中NO的含量显著升高, 增强黄瓜幼苗对盐胁迫的抗性^[31], 表明Ni-NOR是NO合成的重要途径. 低氧条件下, 以亚硝酸盐、NADH和黄嘌呤作为还原底物, 过氧化物酶黄嘌呤氧化还原酶(Xanthine oxidoreductase, XOR)也能催化亚硝酸盐还原为NO^[32].

NO还可以通过多胺(polyamines)或羟胺(hydroxylamines)的途径产生. 多胺(如精胺和亚精胺)水平升高诱导NO的产生, 羟胺介导NO的生成参与缺氧组织中的活性氧(reactive oxygen species, ROS)调节^[33].

此外, 在抗坏血酸或其他还原剂存在的情况下, 当质外体处于酸性环境, NO可以通过非酶促反应生成^[34]. Bethke等人^[35]发现外源施加亚硝酸盐可以快速诱导大麦糊粉层NO的合成, 进一步的研究表明, 亚硝酸盐进入酸性的质外体后, 通过非酶促反应合成NO.

1.2 NO的清除

作为化学性质活泼的信号分子, NO能够与生物体内的活性分子反应生成多种衍生的化合物, 即活性氮(reactive nitrogen species, RNS), 包括S-亚硝基硫醇(S-nitrosothiols, RSNOs)、S-亚硝基谷胱甘肽(S-nitroso-glutathione, GSNO)和过氧亚硝基(peroxynitrite, ONOO⁻)等. RNS的稳态对于植物的正常生长发育具有重要意义(图1).

动物的黄酮类血红蛋白、血红蛋白和还原酶等能

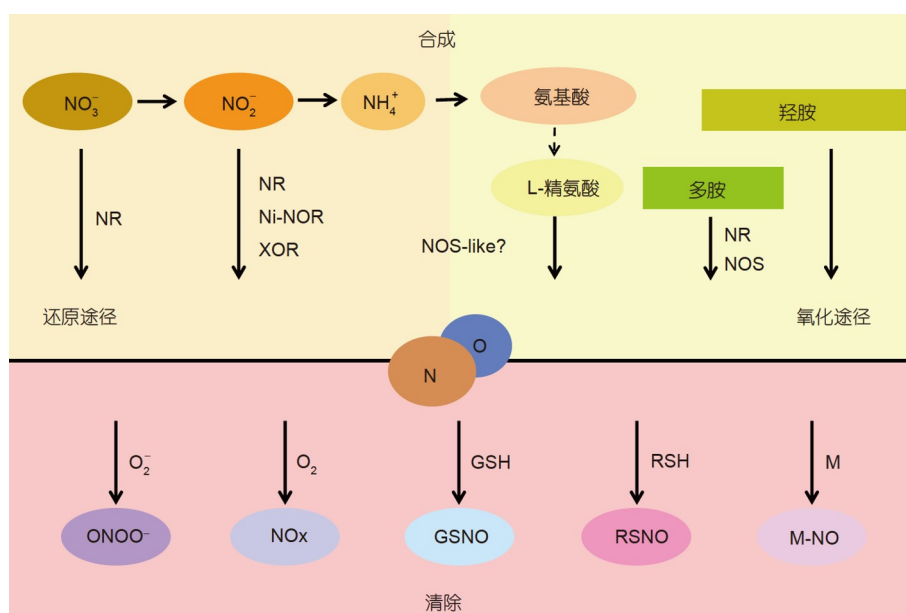


图 1 植物中NO的主要代谢通路

Figure 1 The main metabolic pathways of NO in plants

够清除过多的NO^[36,37]。植物也有多种NO的清除和转化机制。血红蛋白(Haemoglobins)被还原为亚铁血红蛋白后,可以通过双加氧反应催化NO氧化为硝酸根,清除体内过多的NO^[28,38]。NAD(P)H脱氢酶合成超氧阴离子,与NO反应生成过氧亚硝酸盐,降低体内NO水平^[39]。NO能够与O₂相互作用生成硝酸盐和亚硝酸盐,或通过与脂质过氧自由基(LOO•)反应生成硝基脂肪酸^[40]。

NO与还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)反应生成GSNO, GSNO作为NO在生物体内的活性形式发挥重要的生物学功能。亚硝基谷胱甘肽还原酶(GSNO reductase, GSNOR)催化GSNO不可逆的降解,生成谷胱甘肽二硫键(GSSH)、N-羟基亚磺酰胺(GSNHOH)和铵根离子(NH₄⁺),调控生物体内NO稳态。GSNOR最初在细菌(*Escherichia coli*)、酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和小鼠(*Mus musculus*)巨噬细胞中被发现具有降解GSNO的活性^[41]。拟南芥编码GSNOR蛋白的基因是一个单拷贝基因GSNOR1, GSNOR1的T-DNA插入突变体*gsnor1-3*表现出矮化、丛生、育性降低等生长发育缺陷表型^[42]。当*gsnor1-3*突变体受到病原菌*Pst* DC3000侵染时,表现出对*Pst* DC3000敏感表型,突变体中水杨酸(salicylic acid, SA)信号通路受到影响,抗病基因的表达水平下降,表明GSNOR1参与植物的

免疫响应过程^[43]。2008年Lee等人^[44]在筛选拟南芥耐热突变体时发现, *GSNOR1*缺失的等位突变体*hot5-2*和*hot5-4*表现出与*gsnor1-3*类似的生长发育严重缺陷表型,并且*hot5-2*和*hot5-4*突变体在高温处理后叶绿体降解加速、叶片黄化,说明GSNOR1/HOT5参与调控植物对高温的耐受性。百草枯(paraquat)诱导活性氧的产生,导致细胞凋亡,在筛选百草枯抗性突变体时鉴定到*paraquat resistant2 (par2)*^[45],该突变体表现出对百草枯不敏感表型,*par2*突变体内NO含量明显高于野生型Col-0,进一步鉴定发现PAR2基因编码的也是GSNOR1蛋白。综上,GSNOR作为调控体内GSNO水平的关键因子,通过控制生物体内NO水平,广泛参与调控植物的生长发育和胁迫抗性。

2 NO的生理功能

NO广泛分布于生物体的各组织器官中,通过与植物激素、活性氧等信号分子交互作用,调控众多生物学过程。

2.1 NO参与植物生长发育过程

NO促进种子萌发,研究表明NO能够打破拟南芥和大麦(*Hordeum vulgare*)的种子休眠,而NO清除剂2-

苯-4,4,5,5-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物[2-(4-carboxy-phenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide, cPTIO]能维持种子的休眠状态^[7,46,47]。拟南芥种子萌发过程中, 种子吸胀后胚乳中的NO含量迅速增加, NO促进转录因子ABI5与Cullin4的互作, 诱导ABI5通过26S蛋白酶体途径降解, 解除ABA对种子萌发的抑制作用, 促进种子萌发^[48]。

NO调控拟南芥下胚轴的伸长。NO含量降低的 *nial nia2 noal* 三突变体下胚轴长度明显高于野生型, 而外源施加NO供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)能够显著抑制黑暗下的下胚轴伸长, 表明NO负调控下胚轴的伸长^[49]。

NO参与植物根系形态建成的调控。在低浓度条件下, NO促进初生根的生长。高浓度NO情况下, 细胞分裂减少, 根部分生组织活性降低, 植物根部生长被抑制^[50,51]。NO含量降低的突变体 *noal* 和 *nial nia2 noal* 根部由于细胞分裂不正常而只有极少量的分生组织细胞, 呈现发育异常的表型^[52]。此外, 根毛作为高等植物一种特殊的细胞类型, 在根部吸收水分和营养的过程中发挥重要作用, 而NO对于根毛区的胞吞作用以及囊泡运输是必需的, 并且NO参与拟南芥根毛形成的起始和延伸阶段, 外源施加SNP促进植物根系形态建成^[53,54]。

NO调节气孔运动。气孔的保卫细胞感知外界刺激调控气孔的开闭, 这一过程由复杂的信号转导通路调控。García-Mata和Lamattina^[9]发现NO参与气孔运动的调控, 外源施加NO供体可以诱导蚕豆(*Vicia faba*)和紫鸭跖草(*Tradescantia spp*)的气孔关闭以减少蒸腾作用。在ABA诱导气孔关闭的信号级联反应中, NO通过控制K⁺和Ca²⁺通道, 维持保卫细胞中离子稳态平衡, 从而调控气孔运动^[55]。

研究表明NO能够促进叶片扩张, 延缓植物的成熟和衰老, 促进植株的去黄化, 抑制拟南芥的花期转变。NO积累的突变体 *nox1* 表现出晚花表型, 而NO含量降低的突变体 *nos1* 则表现早花表型。花分生组织特异基因 *LEAFY (LFY)* 是花起始的重要决定因子, 通常在花期开始前表达量逐渐升高, NO抑制 *LFY* 的表达从而延迟植物开花, 并且这种抑制作用呈现明显的剂量效应。此外, NO抑制开花促进因子 *CONSTANS* 和 *GIGANTEA* 的表达, 增强开花抑制因子 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 的表达, 延迟植株的花期转变, 导致植物晚花^[10]。

综上, NO作为气体信号分子广泛参与调控植物的生长发育(图2), 包括种子萌发、根系形态建成、气孔运动、花期转变以及衰老。

2.2 NO参与调控植物胁迫应答

(1) NO参与植物对病原菌抗性反应。NO在植物抗病反应中起重要作用。当植物受到病原微生物侵染后, 植物体内NO含量急剧增加, 即NO爆发, 影响植物的抗病性。NO能够以依赖于cGMP(cyclic guanosine monophosphate)的方式增加气孔保卫细胞的Ca²⁺浓度, 诱导抗病基因的表达^[56]。病原菌侵染通常导致ROS含量急剧升高, NO能与ROS协同作用, 诱导超敏反应发生, 使局部组织细胞死亡^[57]。水杨酸途径是植物抵抗病原菌的主要途径之一, NO供体处理烟草植株或培养的烟草悬浮细胞能够有效诱导SA信号途径中抗病相关基因的表达。Feechan等人^[43]发现 *gsnorr1-3* 突变体中, *R*基因介导的植物抗病性显著降低, 进一步研究表明 *GSNOR1* 基因突变所导致的NO水平升高通过调控SA信号途径调节植物抗病性。

(2) NO参与植物对盐胁迫的响应。Tanou等人^[58]发现NO供体SNP预处理柑橘(*Citrus aurantium*)叶片可以有效降低NaCl所引起的叶片损伤程度。盐胁迫条件下, 外源施加NO供体促进黄瓜下胚轴和胚根的生长以及小麦胚芽和胚根的生长, 表明NO能促进盐胁迫下的植物根系形态建成^[59]。拟南芥 *noal* 突变体中NO合成能力同野生型相比显著降低, Zhao等人^[60]的研究表明, 盐处理导致该突变体种子萌发受到明显抑制, 且植物在盐胁迫下的存活率也显著降低, 说明NO参与拟南芥对盐耐受性的调控。CaM作为植物体内主要的Ca²⁺传感器, 参与植物对包括盐胁迫在内的多种环境胁迫响应, 盐胁迫条件下AtCaM1和AtCaM4与GSNOR1结合并抑制其酶活性, 促进NO积累以抵御盐胁迫^[61]。

(3) NO参与植物对干旱的响应。NO调控谷物、豆类、果树和蔬菜等对干旱胁迫的响应。干旱处理导致黄瓜植株中的NO含量明显增加^[62]。外源施加NO诱导蚕豆、白杨的气孔关闭, NO清除剂cPTIO处理抑制气孔关闭, 说明NO可能是促进气孔关闭的信号分子。干旱引起ROS爆发, NO在提高过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的同时, 激活其他抗氧化酶如抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和交替氧化酶, 并诱导非酶

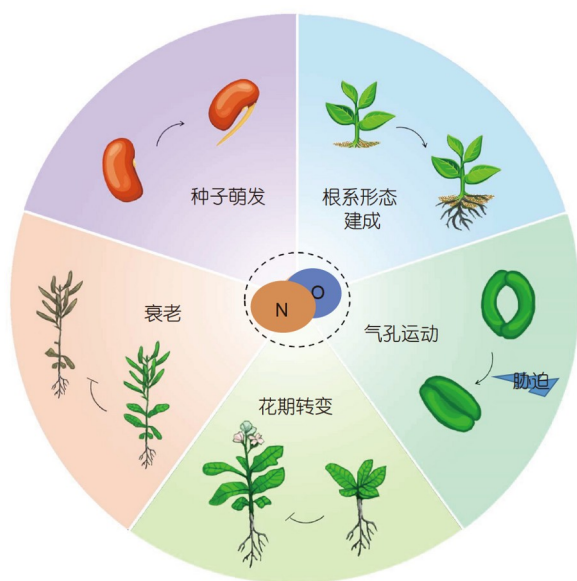


图2 NO调控植物生长发育过程
Figure 2 NO regulates plant development

类抗氧化物如抗坏血酸盐(ascorbate, AsA)和GSH的产生, 通过酶促和非酶促抗氧化系统维持ROS稳态, 增强植物对干旱胁迫的耐受性^[63,64].

(4) NO参与植物对低温和高温胁迫的响应. 低温处理后, 拟南芥野生型植物中NO含量显著增加, 而NR双突变体 $nia1\ nia2$ 中NO合成显著低于野生型, 并且低温处理后 $nia1\ nia2$ 突变体植株的存活率同野生型相比明显降低. 进一步的实验发现, SNP预处理显著提高 $nia1\ nia2$ 植株低温处理后的存活率, 而NO合成抑制剂预处理降低野生型植物对低温的抗性, 表明NO在拟南芥低温胁迫的响应中发挥重要的保护作用^[65].

NO预处理显著降低高温对水稻幼苗的损害程度, 提高小麦叶片和玉米幼苗的成活率, 显示NO参与植物对高温应激的调控^[66]. 拟南芥热敏感突变体 $hot5-2$ 和 $hot5-4$ 在高温处理后叶绿体降解加速, 表明HOTS/GSNOR1参与植物对高温耐受性的调控^[44]. 高温诱导拟南芥茎尖部位的NO合成爆发, NO以GSNO的形式通过维管束向根部传递. 转录因子GT-1感知NO信号, 激活热激转录因子基因 $HsfA2$ 表达, 启动植物对高温的响应^[67]. 在豌豆(*Pisum sativum*)和芸苔属(*Brassica juncea*)中检测到热刺激下植物体内总体SNO水平显著上升, 热刺激也诱导柑橘中NO, SNO和 O_2^- 的水平显著升高^[59], 说明NO/RNS的稳态平衡对植物高温耐受具

有重要调控作用, 这种稳态失衡会阻碍ROS/RNS的解毒途径, 从而导致热应激下植物的过度氧化和硝化损伤. NO在高温应激中发挥作用可能是通过降低ROS的水平, 因为NO可以激活抗氧化酶, 如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和APX等在热应激中的表达^[68].

2.3 NO与生物活性小分子相互作用

NO与植物激素、 Ca^{2+} 等协同调控多种代谢过程, 共同维持植物正常生长发育. 在植物早期生长过程中, NO与赤霉素(Gibberellic acid, GA)形成协同调控, NO激活GA合成关键酶 $GA3ox1$ 和 $GA3ox2$ 的转录, 促进GA合成, 打破种子休眠^[69]. NO调控生长素(Auxin)信号途径促进植物根系发育, 一方面NO介导生长素信号途径关键蛋白TIR1发生S-亚硝基化修饰(S-nitrosylation), 促进其与下游Aux/IAAs互作, 加速生长素降解从而刺激生长素的再合成^[70]; 另一方面NO通过直接抑制IAA氧化酶活性从而减少生长素的降解^[71]. Ca^{2+} 是生物体内重要信号分子, 调控多种生理过程, 研究表明 Ca^{2+} 与NO信号存在复杂的交互调控, NO供体能够诱导胞内 Ca^{2+} 浓度增加^[72], 而 Ca^{2+} 也参与植物体内NO代谢. 高温通过刺激质膜环核苷酸控制的离子通6(CNGC6), 介导胞外 Ca^{2+} 内流, 调控NO合成, 拟南芥 $cngc6$ 突变体中高温诱导的NO爆发受到明显抑制^[73]. 盐处理促进拟南芥胞内 Ca^{2+} 浓度增加^[74], 钙调蛋白(calmodulin, CaM)结合 Ca^{2+} , 与GSNOR1蛋白的互作增强, 抑制GSNOR1的酶活, 从而促进NO含量增加, 提高植物对盐胁迫的抗性^[61]. 此外, 紫外胁迫诱导植物产生芥子酸酯, 保卫细胞中ROS, NO和 Ca^{2+} 等信号分子明显积累, 促进气孔关闭^[75].

3 NO的作用机制

NO在生物体内发挥信号转导功能主要依赖蛋白质翻译后修饰, 包括金属亚硝基化修饰(metal nitrosylation)、半胱氨酸(cysteine, Cys)S-亚硝基化修饰和酪氨酸硝基化修饰(tyrosine nitration)等.

3.1 金属亚硝基化修饰

金属亚硝基化是指NO与金属蛋白活性中心的金属离子反应生成亚硝基化金属蛋白(M-NO), 通过改变金属蛋白构象, 影响蛋白活性. 可溶性鸟苷酸环化酶

(sGC)催化三磷酸鸟苷转化为环磷酸鸟苷(cGMP), 参与调控血管平滑肌松弛和神经传递过程. NO与sGC亚铁血红素结合, 通过金属亚硝基化修饰激活sGC, 增加第二信使cGMP的合成, 抑制血管平滑肌的Ca²⁺内流^[4]. 拟南芥AtNOGC1蛋白具有保守血红素基序, 该蛋白具有鸟苷环化酶活性, NO与其亚铁血红素辅基结合, 通过金属亚硝基化修饰增强AtNOGC1活性, 调控下游信号转导^[76].

豆血红蛋白(leghemoglobin, Lb)主要存在于豆科植物的根瘤中, 能够结合血红素辅基. 该蛋白在根瘤菌入侵豆科植物根部形成根瘤时合成. 当植物处于水淹条件下, Lb与根瘤菌反硝化作用产生的NO和亚硝酸盐反应, 通过金属亚硝基化修饰发挥重要的解毒作用^[77].

3.2 S-亚硝基化修饰

S-亚硝基化修饰是NO通过共价结合蛋白质特定半胱氨酸上的巯基, 生成S-亚硝基硫醇(S-nitrosothiols, SNO)的过程. 1992年Stamler等人^[78]利用牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)作为底物, 第一次检测到了NO与BSA反应的产物SNO. S-亚硝基化修饰是动态的可逆反应, 被修饰的蛋白可以在硫氧还蛋白(thioredoxins, TRXs)的作用下发生去亚硝基化修饰, 维持生物体内蛋白亚硝基化水平稳定^[79]. 此外, S-亚硝基化修饰还受到转亚硝基化的调控^[13]. 研究表明S-亚硝基化的发生具有高度的选择特异性, 被修饰的半胱氨酸残基通常具有一定序列特征, 即(H, K, R)CX(D, E), 其中X为任意氨基酸, 半胱氨酸的两边分别包含一个碱性氨基酸和一个酸性氨基酸, 形成一个疏水的环境^[80]. 但并非所有的蛋白质发生S-亚硝基化修饰都具有这种特征, 蛋白质的空间结构对亚硝基化修饰也产生一定的影响, Hu等人^[81]认为酸性氨基酸残基在决定修饰靶位点具有重要的作用. S-亚硝基化修饰被认为是一种与磷酸化相似的新的信号转导调控方式, 通过调控靶蛋白活性、靶蛋白稳定性、亚细胞定位以及蛋白互作等方面, 发挥广泛的生物学功能^[82].

S-亚硝基化修饰调控靶蛋白活性. GSNOR1作为植物体内GSNO水平的关键调控因子, 本身也被NO介导的S-亚硝基化修饰调控, 研究表明S-亚硝基化修饰抑制GSNOR1的酶活^[83]. 低温诱导Rubisco酶的S-亚硝基化修饰, 其活性显著降低, 一定程度上解释了低温胁迫引起的光合作用被抑制和作物减产的缘由^[84]. 脱

氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)和谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase, GST)发生S-亚硝基化修饰后酶活增加, 增强清除ROS的能力以调节冷胁迫响应^[85]. 拟南芥细胞分裂素信号转导途径中, 磷酸基团依次从细胞分裂素受体转移到组氨酸磷酸转移蛋白(AHPs)和应答调节蛋白(ARRs), AHP1第115位半胱氨酸的S-亚硝基化阻断细胞分裂素信号途径的磷酸传递^[86]. NADPH氧化酶(NADPH oxidase)是植物抗病过程中ROS合成的关键调节因子, 研究发现NADPH氧化酶中第890位保守的半胱氨酸可以发生S-亚硝基化修饰, 通过影响第921位苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)侧链的位置从而阻碍FAD与其结合, 降低其酶活, 进一步调控植物超敏反应中的细胞死亡^[87]. 水杨酸结合蛋白3(salicylic acid binding protein 3, SABP3)是植物抗病过程中的重要成员, 该蛋白的S-亚硝基化修饰会抑制其与SA的结合, 降低其碳酸酐酶活性, 影响植物对病原菌的抗性^[57].

S-亚硝基化修饰调控靶蛋白稳定性. 在种子萌发和幼苗生长的过程中, NO介导转录因子ABI5的S-亚硝基化修饰, 促进ABI5通过26S蛋白酶途径降解, 打破ABA对种子萌发和幼苗生长的抑制作用^[48]. 低氧条件下, 拟南芥GSNOR1蛋白的第10位半胱氨酸发生S-亚硝基化修饰, 诱导GSNOR1局部构象发生改变, 暴露AIM基序与ATG8互作, 从而介导GSNOR1通过选择性自噬途径被降解^[12]. 此外, 转亚硝基化酶ROG1通过调控GSNOR1 Cys10的S-亚硝基化修饰, 也影响GSNOR1的蛋白稳定性^[13].

S-亚硝基化修饰调控靶蛋白亚细胞定位. 病原菌侵染植物激活免疫应答过程中, S-亚硝基化修饰是NO参与调控植物免疫响应的重要机制. NPR1(nonexpressor of pathogenesis-related gene1)与TGA(TGACG motif binding factor)是SA介导病原菌防御响应的重要调控因子, NPR1单体可以与还原状态的TGA1结合进而激活下游抗性基因表达. 研究发现S-亚硝基化修饰促进了NPR1蛋白以无活性的低聚物形式滞留于细胞质内, 抑制其进入细胞核行使正常功能, 进而影响下游的水杨酸途径相关基因的表达和植物抗病性^[14], 而TGA1的S-亚硝基化修饰可以增强其DNA结合活性从而激活下游PR基因的表达^[88].

S-亚硝基化修饰调控靶蛋白互作. 生长素受体TIR1蛋白的S-亚硝基化修饰增强了SCF^{TIR1/AFB}-Aux/

IAA复合体的形成, 从而促进Aux/IAA阻遏物的降解^[89]. 锌指转录因子*SRG1(SNO-regulated gene1)*是植物免疫的正调控因子, 当植物受到病原菌侵染引起NO积累促进*SRG1*的表达, *SRG1*招募EAR和TOPLESS抑制下游免疫抑制基因的表达, 激活植物免疫响应过程. 持续的NO积累介导*SRG1*第87位半胱氨酸发生S-亚硝基化修饰, 抑制*SRG1*的DNA结合和转录抑制活性, 解除*SRG1*对下游免疫抑制基因的抑制作用, 终止免疫反应, 形成NO与*SRG1*响应植物免疫的反馈调控^[90]. 细胞膜受体蛋白激酶FERONIA调控胚珠丝状器中低甲酯化果胶质的积累, 进而调控第一个花粉管诱导NO在丝状器的积累, 促进LURE1蛋白发生S-亚硝基化修饰, 抑制LURE1与其受体RPK6的结合, 导致雌配子体对花粉管的吸引能力下降, 避免多精受精的发生^[91].

3.3 酪氨酸硝基化修饰

蛋白质酪氨酸硝基化修饰是NO发挥生物学功能的重要蛋白翻译后修饰形式, 是由活性氮介导的一种不可逆的高氧化态修饰. NO与超氧阴离子(*superoxide*, $O_2^{\bullet-}$)或过氧化氢(H_2O_2)结合, 生成过氧亚硝基阴离子($ONOO^-$)或者二氧化氮(NO_2), 与酪氨酸残基芳香环的两个等价邻位碳中的任意一个共价连接, 即酪氨酸硝基化修饰^[92]. 这一过程通常被当作动物细胞病理疾病诊断和氧化应激响应的标志^[93]. 酪氨酸硝基化修饰的本质是NO与ROS的反应产物对底物蛋白造成的氧化型蛋白翻译后修饰, 硝基化的发生对于底物结构和溶剂环境具有高度的选择特异性^[92,94,95], 在多种氧化胁迫过程中发挥重要作用. 研究表明脂质氧化会造成膜蛋白发生酪氨酸硝基化修饰^[96], 抑制蛋白的活性或影响蛋白的稳定性, 从而影响多种代谢过程.

NADP-异柠檬酸脱氢酶(ICDH)是一类广泛参与碳氮代谢、氧化还原调节和氧化应激等过程的蛋白. 过氧亚硝酸盐通过介导酪氨酸硝基化修饰抑制豌豆NADP-ICDH的活性, 并随衰老进程逐渐加剧^[97]. SOD在植物抗氧化防御系统中发挥重要作用, 过氧亚硝酸盐介导线粒体锰SOD1(MSD1)第63位酪氨酸发生硝基化修饰后, 影响MSD1与底物的结合效率从而抑制其酶活^[98]. 叶绿体定位的一类过氧化物酶PrxIII是RNS稳态的一个调节因子, 正常生长条件下PrxIII能降解

$ONOO^-$, 当病原菌侵染后, PrxIII的S-亚硝基化修饰抑制其活性, 导致 $ONOO^-$ 积累, 蛋白酪氨酸硝基化修饰的增加, 从而导致脂质过度氧化^[99,100]. ABA刺激引起NO积累和 $O_2^{\bullet-}$ 的产生, 形成 $ONOO^-$, 介导ABA受体PYR/PYL/RCAR家族蛋白发生硝化作用, 被硝基化修饰的PYR/PYL/RCAR家族蛋白形成多聚体并进入26S蛋白酶体途径降解, 降低植株对ABA的敏感性^[101].

4 总结与展望

从NO作为信号分子被发现至今, NO在植物生长发育和胁迫响应中的生物学功能得到揭示. 作为重要的信号分子, NO通过介导蛋白质半胱氨酸的S-亚硝基化修饰、酪氨酸硝基化修饰等翻译后修饰, 调控蛋白的稳定性和活性, 参与不同的代谢途径, 与ROS、植物激素等信号分子形成交互调控, 提高植物耐逆性, 为其在作物生产中的应用提供了重要的参考.

虽然NO的信号转导和作用方式得到一定程度的解析, 但是NO发挥生物学功能的分子机制仍有待深入探索. 不同于植物激素, 目前在植物中尚未发现特定的NO受体, 对NO受体的鉴定将为解析NO信号转导提供重要的线索.

多条植物NO合成途径已被鉴定, 这些途径是如何感知植物内源和外源信号, 从而协同调控植物生命活动, 仍需深入探讨. 此外, 目前只在某些单细胞藻类中发现与动物类似的NOS, 但是大量的研究表明高等植物中可能存在具有NOS活性的蛋白. 传统的遗传学筛选以及生物信息等研究手段并没有鉴定到高等植物的NOS, 未来化学遗传学等研究方法可能会为鉴定植物NOS提供重要帮助.

NO发挥其生物学功能主要是通过介导蛋白质翻译后修饰, 包括S-亚硝基化修饰、酪氨酸硝基化修饰等, 不同类型的翻译后修饰之间是否存在交互调控还有待深入探索. 但是目前NO介导的蛋白翻译后修饰的检测方法比较繁琐, 此外NO化学性质活泼, 检测NO的实验方法也存在一定的局限性, 建立高效灵敏的检测方法, 在植物不同组织、不同发育时期定量检测NO含量以及快速、特异地测定底物蛋白的S-亚硝基化、酪氨酸硝基化等修饰水平, 将有助于阐明NO的生理功能, 推动NO研究的开展.

参考文献

- 1 Cherry P D, Furchgott R F, Zawadzki J V, et al. Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79: 2106–2110
- 2 Furchgott R F, Zawadzki J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980, 288: 373–376
- 3 Ignarro L J, Buga G M, Wood K S, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 9265–9269
- 4 Denninger J W, Marletta M A. Guanylate cyclase and the $\cdot\text{NO}/\text{cGMP}$ signaling pathway. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1999, 1411: 334–350
- 5 Boehning D, Snyder S H. Novel neural modulators. *Annu Rev Neurosci*, 2003, 26: 105–131
- 6 Hara M R, Agrawal N, Kim S F, et al. *S*-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. *Nat Cell Biol*, 2005, 7: 665–674
- 7 Bethke P C, Gubler F, Jacobsen J V, et al. Dormancy of *Arabidopsis* seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. *Planta*, 2004, 219: 847–855
- 8 Lamattina L, Correa-Aragunde N, Garcia-Mata C, et al. Nitric oxide is required as intermediate in hormone signalling pathways that trigger root organogenesis and stomatal closure in higher plants. *Free Radical Biol Med*, 2004, 36: S42
- 9 García-Mata C, 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
- 10 He Y, Tang R H, Hao Y, et al. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition. *Science*, 2004, 305: 1968–1971
- 11 Mishina T E, Lamb C, Zeier J. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 2007, 30: 39–52
- 12 Zhan N, Wang C, Chen L, et al. *S*-nitrosylation targets GSNO reductase for selective autophagy during hypoxia responses in plants. *Mol Cell*, 2018, 71: 142–154.e6
- 13 Chen L, Wu R, Feng J, et al. Transnitrosylation mediated by the non-canonical catalase ROG1 regulates nitric oxide signaling in plants. *Dev Cell*, 2020, 53: 444–457.e5
- 14 Tada Y, Spoel S H, Pajerowska-Mukhtar K, et al. Plant immunity requires conformational changes of NPR1 via *S*-nitrosylation and thioredoxins. *Science*, 2008, 321: 952–956
- 15 Ravazzolo L, Trevisan S, Iori S, et al. Nitrate regulates Maize root transcriptome through nitric oxide dependent and independent mechanisms. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 9527
- 16 Bruand C, Meilhoc E. Nitric oxide in plants: pro- or anti-senescence. *J Exp Bot*, 2019, 70: 4419–4427
- 17 Alderton W K, Cooper C E, Knowles R G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, 2001, 357: 593–615
- 18 Cueto M, Hernández-Perera O, Martín R, et al. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS Lett*, 1996, 398: 159–164
- 19 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. *Planta*, 2006, 224: 246–254
- 20 Guo F Q, Crawford N M. *Arabidopsis* nitric oxide synthase1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence. *Plant Cell*, 2005, 17: 3436–3450
- 21 Moreau M, Lee G I, Wang Y, et al. AtNOS/AtNOA1 is a functional *Arabidopsis thaliana* cGTPase and not a nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*, 2008, 283: 32957–32967
- 22 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. *Plant Cell*, 2010, 22: 3816–3830
- 23 Jeandroz S, Wipf D, Stuehr D J, et al. Occurrence, structure, and evolution of nitric oxide synthase-like proteins in the plant kingdom. *Sci Signal*, 2016, 9: re2
- 24 Sakihama Y, Nakamura S, Yamasaki H. Nitric oxide production mediated by nitrate reductase in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: an alternative NO production pathway in photosynthetic organisms. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 290–297

- 25 Yamasaki H, Sakihama Y. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: *in vitro* evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species. [FEBS Lett](#), 2000, 468: 89–92
- 26 Rockel P, Strube F, Rockel A, et al. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*. [J Exp Bot](#), 2002, 53: 103–110
- 27 Berger A, Boscari A, Horta Araújo N, et al. Plant nitrate reductases regulate nitric oxide production and nitrogen-fixing metabolism during the *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* symbiosis. [Front Plant Sci](#), 2020, 11: 1313
- 28 Chamizo-Ampudia A, Sanz-Luque E, Llamas A, et al. Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. [Trends Plant Sci](#), 2017, 22: 163–174
- 29 Horchani F, Prévot M, Boscari A, et al. Both plant and bacterial nitrate reductases contribute to nitric oxide production in *Medicago truncatula* nitrogen-fixing nodules. [Plant Physiol](#), 2011, 155: 1023–1036
- 30 Stöhr C, Strube F, Marx G, et al. A plasma membrane-bound enzyme of tobacco roots catalyses the formation of nitric oxide from nitrite. [Planta](#), 2001, 212: 835–841
- 31 Reda M, Golicka A, Kabała K, et al. Involvement of NR and PM-NR in NO biosynthesis in cucumber plants subjected to salt stress. [Plant Sci](#), 2018, 267: 55–64
- 32 Godber B L J, Doel J J, Sapkota G P, et al. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. [J Biol Chem](#), 2000, 275: 7757–7763
- 33 Gupta K J, Fernie A R, Kaiser W M, et al. On the origins of nitric oxide. [Trends Plant Sci](#), 2011, 16: 160–168
- 34 Wang X, Hargrove M S. Nitric oxide in plants: the roles of ascorbate and hemoglobin. [PLoS ONE](#), 2013, 8: e82611
- 35 Bethke P C, Badger M R, Jones R L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. [Plant Cell](#), 2004, 16: 332–341
- 36 Liu S X, Fabisiak J P, Tyurin V A, et al. Reconstitution of apo-superoxide dismutase by nitric oxide-induced copper transfer from metallothioneins. [Chem Res Toxicol](#), 2000, 13: 922–931
- 37 Gardner P R. Nitric oxide dioxygenase function and mechanism of flavohemoglobin, hemoglobin, myoglobin and their associated reductases. [J Inorg Biochem](#), 2005, 99: 247–266
- 38 Gupta K J, Igamberdiev A U. The anoxic plant mitochondrion as a nitrite: NO reductase. [Mitochondrion](#), 2011, 11: 537–543
- 39 Gupta P, Verma R, Verma A K, et al. A versatile tool in controlling aggregation and Ag nanoparticles assisted in vitro folding of thermally denatured zDHFR. [Biochem Biophys Rep](#), 2020, 24: 100856
- 40 Rubbo H. Nitro-fatty acids: novel anti-inflammatory lipid mediators. [Braz J Med Biol Res](#), 2013, 46: 728–734
- 41 Liu L, Hausladen A, Zeng M, et al. A metabolic enzyme for *S*-nitrosothiol conserved from bacteria to humans. [Nature](#), 2001, 410: 490–494
- 42 Rosso M G, Li Y, Strizhov N, et al. An *Arabidopsis thaliana* T-DNA mutagenized population (GABI-Kat) for flanking sequence tag-based reverse genetics. [Plant Mol Biol](#), 2003, 53: 247–259
- 43 Feechan A, Kwon E, Yun B W, et al. A central role for *S*-nitrosothiols in plant disease resistance. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2005, 102: 8054–8059
- 44 Lee U, Wie C, Fernandez B O, et al. Modulation of nitrosative stress by *S*-nitrosoglutathione reductase is critical for thermotolerance and plant growth in *Arabidopsis*. [Plant Cell](#), 2008, 20: 786–802
- 45 Chen R, Sun S, Wang C, et al. The *Arabidopsis* *PARQUAT RESISTANT2* gene encodes an *S*-nitrosoglutathione reductase that is a key regulator of cell death. [Cell Res](#), 2009, 19: 1377–1387
- 46 Bethke P C, Libourel I G L, Jones R L. Nitric oxide reduces seed dormancy in *Arabidopsis*. [J Exp Bot](#), 2006, 57: 517–526
- 47 Libourel I G L, Bethke P C, De Michele R, et al. Nitric oxide gas stimulates germination of dormant *Arabidopsis* seeds: use of a flow-through apparatus for delivery of nitric oxide. [Planta](#), 2006, 223: 813–820
- 48 Albertos P, Romero-Puertas M C, Tatematsu K, et al. *S*-nitrosylation triggers ABI5 degradation to promote seed germination and seedling growth. [Nat Commun](#), 2015, 6: 8669
- 49 Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. [Planta](#), 2000, 210: 215–221
- 50 Fernández-Marcos M, Sanz L, Lewis D R, et al. Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2011, 108: 18506–18511
- 51 Perilli S, Di Mambro R, Sabatini S. Growth and development of the root apical meristem. [Curr Opin Plant Biol](#), 2012, 15: 17–23

- 52 Sanz L, Fernández-Marcos M, Modrego A, et al. Nitric oxide plays a role in stem cell niche homeostasis through its interaction with auxin. *Plant Physiol*, 2014, 166: 1972–1984
- 53 Lombardo M C, Graziano M, Polacco J C, et al. Nitric oxide functions as a positive regulator of root hair development. *Plant Signal Behav*, 2006, 1: 28–33
- 54 Lombardo M C, Lamattina L. Nitric oxide is essential for vesicle formation and trafficking in *Arabidopsis* root hair growth. *J Exp Bot*, 2012, 63: 4875–4885
- 55 Agurla S, Gahir S, Munemasa S, et al. Mechanism of stomatal closure in plants exposed to drought and cold stress. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1081: 215–232
- 56 Bellin D, Asai S, Delledonne M, et al. Nitric oxide as a mediator for defense responses. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26: 271–277
- 57 Wang Y Q, Feechan A, Yun B W, et al. S-nitrosylation of AtSABP3 antagonizes the expression of plant immunity. *J Biol Chem*, 2009, 284: 2131–2137
- 58 Tanou G, Ziogas V, Belghazi M, et al. Polyamines reprogram oxidative and nitrosative status and the proteome of citrus plants exposed to salinity stress. *Plant Cell Environ*, 2014, 37: 864–885
- 59 Fancy N N, Bahlmann A K, Loake G J. Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant Cell Environ*, 2017, 40: 462–472
- 60 Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 144: 206–217
- 61 Zhou S, Jia L, Chu H, et al. *Arabidopsis* CaM1 and CaM4 promote nitric oxide production and salt resistance by inhibiting S-nitrosogluthione reductase via direct binding. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1006255
- 62 Arasimowicz-Jelonek M, Floryszak-Wieczorek J, Kubiś J. Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots. *Plant Sci*, 2009, 177: 682–690
- 63 Wu H, Zheng Y, Liu J, et al. Heme oxygenase-1 delays gibberellin-induced programmed cell death of rice aleurone layers subjected to drought stress by interacting with nitric oxide. *Front Plant Sci*, 2016, 6: 1267
- 64 Lau S E, Hamdan M F, Pua T L, et al. Plant nitric oxide signaling under drought stress. *Plants*, 2021, 10: 360
- 65 Zhao M G, Chen L, Zhang L L, et al. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2009, 151: 755–767
- 66 Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, et al. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci*, 2002, 163: 515–523
- 67 He N Y, Chen L S, Sun A Z, et al. A nitric oxide burst at the shoot apex triggers a heat-responsive pathway in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 2022, 8: 434–450
- 68 Song L, Ding W, Zhao M, et al. Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Sci*, 2006, 171: 449–458
- 69 Bethke P C, Libourel I G L, Aoyama N, et al. The *Arabidopsis* aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1173–1188
- 70 Terrile M C, París R, Calderón-Villalobos L I A, et al. Nitric oxide influences auxin signaling through S-nitrosylation of the *Arabidopsis* TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 auxin receptor. *Plant J*, 2012, 70: 492–500
- 71 Xu J, Wang W, Yin H, et al. Exogenous nitric oxide improves antioxidative capacity and reduces auxin degradation in roots of *Medicago truncatula* seedlings under cadmium stress. *Plant Soil*, 2010, 326: 321–330
- 72 Abdul-Awal S M, Hotta C T, Davey M P, et al. NO-mediated $[Ca^{2+}]_{cyt}$ increases depend on ADP-ribosyl cyclase activity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2016, 171: 623–631
- 73 Wang W, Zhang J, Ai L, et al. Cyclic nucleotide-gated ion channel 6 mediates thermotolerance in *Arabidopsis* seedlings by regulating hydrogen peroxide production via cytosolic calcium ions. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 708672
- 74 Jiang Z, Zhou X, Tao M, et al. Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca^{2+} influx. *Nature*, 2019, 572: 341–346
- 75 Li W, Sun Y, Li K, et al. Sinapate esters mediate UV-B-induced stomatal closure by regulating nitric oxide, hydrogen peroxide, and malate accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2022, doi: 10.1093/pcp/pcac059
- 76 Mulaudzi T, Ludidi N, Ruzvidzo O, et al. Identification of a novel *Arabidopsis thaliana* nitric oxide-binding molecule with guanylate cyclase activity *in vitro*. *FEBS Lett*, 2011, 585: 2693–2697

- 77 Sánchez C, Gates A J, Meakin G E, et al. Production of nitric oxide and nitrosylhemoglobin complexes in soybean nodules in response to flooding. *Mol Plant Microbe Interact*, 2010, 23: 702–711
- 78 Stamler J S, Simon D I, Osborne J A, et al. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds.. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 444–448
- 79 Kneeshaw S, Gelineau S, Tada Y, et al. Selective protein denitrosylation activity of Thioredoxin-*h5* modulates plant immunity. *Mol Cell*, 2014, 56: 153–162
- 80 Astier J, Rasul S, Koen E, et al. S-nitrosylation: an emerging post-translational protein modification in plants. *Plant Sci*, 2011, 181: 527–533
- 81 Hu J, Huang X, Chen L, et al. Site-specific nitrosoproteomic identification of endogenously S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2015, 167: 1731–1746
- 82 Gupta K J, Kaladhar V C, Fitzpatrick T B, et al. Nitric oxide regulation of plant metabolism. *Mol Plant*, 2022, 15: 228–242
- 83 Guerra D, Ballard K, Truebridge I, et al. S-nitrosation of conserved cysteines modulates activity and stability of S-nitrosogluthathione reductase (GSNOR). *Biochemistry*, 2016, 55: 2452–2464
- 84 Abat J K, Deswal R. Differential modulation of S-nitrosoproteome of *Brassica juncea* by low temperature: change in S-nitrosylation of Rubisco is responsible for the inactivation of its carboxylase activity. *PROTEOMICS*, 2009, 9: 4368–4380
- 85 Sehrawat A, Deswal R. S-nitrosylation analysis in *Brassica juncea* apoplast highlights the importance of nitric oxide in cold-stress signaling. *J Proteome Res*, 2014, 13: 2599–2619
- 86 Feng J, Wang C, Chen Q, et al. S-nitrosylation of phosphotransfer proteins represses cytokinin signaling. *Nat Commun*, 2013, 4: 1529
- 87 Yun B W, Feechan A, Yin M, et al. S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity. *Nature*, 2011, 478: 264–268
- 88 Lindermayr C, Sell S, Müller B, et al. Redox regulation of the NPR1-TGA1 system of *Arabidopsis thaliana* by nitric oxide. *Plant Cell*, 2010, 22: 2894–2907
- 89 Iglesias M J, Terrile M C, Correa-Aragunde N, et al. Regulation of SCFTIR1/AFBs E3 ligase assembly by S-nitrosylation of *Arabidopsis* SKP1-like1 impacts on auxin signaling. *Redox Biol*, 2018, 18: 200–210
- 90 Cui B, Pan Q, Clarke D, et al. S-nitrosylation of the zinc finger protein SRG1 regulates plant immunity. *Nat Commun*, 2018, 9: 4226
- 91 Duan Q, Liu M C J, Kita D, et al. FERONIA controls pectin- and nitric oxide-mediated male-female interaction. *Nature*, 2020, 579: 561–566
- 92 Radi R. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4003–4008
- 93 Ischiropoulos H. Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 305: 776–783
- 94 Kolbert Z, Feigl G, Bordé Á, et al. Protein tyrosine nitration in plants: present knowledge, computational prediction and future perspectives. *Plant Physiol Biochem*, 2017, 113: 56–63
- 95 Bartesaghi S, Radi R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. *Redox Biol*, 2018, 14: 618–625
- 96 Radi R. Protein tyrosine nitration: biochemical mechanisms and structural basis of functional effects. *Acc Chem Res*, 2013, 46: 550–559
- 97 Begara-Morales J C, Chaki M, Sánchez-Calvo B, et al. Protein tyrosine nitration in pea roots during development and senescence. *J Exp Bot*, 2013, 64: 1121–1134
- 98 Holzmeister C, Gaupels F, Geerlof A, et al. Differential inhibition of *Arabidopsis* superoxide dismutases by peroxynitrite-mediated tyrosine nitration. *J Exp Bot*, 2015, 66: 989–999
- 99 Romero-Puertas M C, Laxa M, Matte A, et al. S-nitrosylation of peroxiredoxin II E promotes peroxynitrite-mediated tyrosine nitration. *Plant Cell*, 2007, 19: 4120–4130
- 100 Gaupels F, Spiazzi-Vandelle E, Yang D, et al. Detection of peroxynitrite accumulation in *Arabidopsis thaliana* during the hypersensitive defense response. *Nitric Oxide*, 2011, 25: 222–228
- 101 Castillo M C, Lozano-Juste J, González-Guzmán M, et al. Inactivation of PYR/PYL/RCAR ABA receptors by tyrosine nitration may enable rapid inhibition of ABA signaling by nitric oxide in plants. *Sci Signal*, 2015, 8: ra89

A perspective view of nitric oxide: biosynthesis, metabolism and signaling in plants

GONG XinRu^{1,2}, ZHAN Ni^{1,2}, HU JiLiang^{1,2}, ZUO JianRu^{1,2,3} & CHEN LiChao^{1,2}

1 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Nitric oxide (NO) is an important gaseous signaling molecule widely distributed in living organisms, it modulates protein stability and enzyme activities mainly through post-translational modifications, including *S*-nitrosylation and tyrosine nitration. NO regulates multiple physiological processes during plant development and stress responses. Moreover, the complex interplay among NO and phytohormones, reactive oxygen species and other signaling molecules precisely regulates various stages of plant growth and development to maintain normal life activities. Here, we review the synthesis and metabolism of NO, and provide insights into the mechanism and biological significance of NO in the regulation of plant development and stress responses.

nitric oxide, signaling molecule, *S*-nitrosylation, tyrosine nitration

doi: [10.1360/SSV-2022-0075](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0075)