

一氧化氮可能参与细胞外钙调素诱导蚕豆气孔关闭的过程*

李建华¹ 吕品^{1,2} 刘银谦¹ 陈玉玲^{1**}

1. 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016; 2. 河北医科大学基础医学院, 石家庄 050017

摘要 细胞外钙调素(CaM)被发现能够调节蚕豆及拟南芥气孔运动, 而且G蛋白、 H_2O_2 及 Ca^{2+} 参与这一过程. 从接受刺激到引起气孔关闭保卫细胞要经历复杂的信号转导, 因此细胞外CaM调控气孔运动的信号转导途径还需要深入探讨. 研究中以蚕豆下表皮条为材料, 用表皮条生物分析和荧光显微技术研究了一氧化氮(NO)在细胞外CaM促进气孔关闭过程中的作用. 结果表明: 细胞外CaM能诱导保卫细胞内NO升高, 一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 N^G -氮-L-精氨酸-甲酯(L-NAME)和NO清除剂2-苯-4, 4, 5, 5-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物(PTIO)抑制了这一过程, 而硝酸还原酶(NR)抑制剂 NaN_3 则没有抑制作用; L-NAME和PTIO也抑制细胞外CaM诱导的气孔关闭过程, 而 NaN_3 不能抑制这一过程. 说明细胞外CaM主要通过NOS途径诱导NO合成, 从而诱导气孔关闭. 质膜 Ca^{2+} 通道抑制剂及 Ca^{2+} 螯合剂处理实验结果表明, 细胞外CaM对保卫细胞内NO的诱导过程依赖 Ca^{2+} 内流. 文中结果为NO参与细胞外CaM调节气孔运动的过程提供了直接证据.

关键词 蚕豆 保卫细胞 细胞外钙调素 一氧化氮 Ca^{2+}

气孔运动控制着水分蒸腾和 CO_2 的进入, 对水分代谢和光合作用都有着重要的调节作用. 因此, 多年来气孔运动机理一直是植物生理学研究的热点. 目前研究得比较清楚的是保卫细胞ABA的信号转导途径. 在ABA诱导气孔关闭的过程中, 有多种信号分子参与, 如 Ca^{2+} 及其多种调节途径, 异三聚体G蛋白、激酶、磷酸酶等等^[1,2]. NO最早是作为植物对病原及逆境反应的信号分子被研究的, 但近几年的一系列报道表明, NO介导ABA、水杨酸和茉莉酸诱导气孔关闭的过程^[3-6], 而且拟南芥一氧化氮合酶(NOS)的发现及其突变体 $Atnos1$ 气孔对ABA反应的缺陷为NO的作用提供了直接证据^[7].

气孔的开关受多种刺激的调节, 目前已知在植物中存在并调控气孔运动的有ABA、生长素、细胞

分裂素、茉莉酸、水杨酸等^[1,5,6]. 钙调素是一种有多种调节功能的钙结合蛋白, 广泛存在于真核生物, 对动植物的多种生理过程起着重要的调节作用. 植物细胞外广泛存在CaM, 并具有调节细胞增殖、花粉萌发及花粉管伸长、诱导特定基因表达等广泛的生理功能^[8-10]. 那么, 细胞外CaM对气孔运动有没有调节功能呢? 我们首先用免疫电子显微镜技术证明了蚕豆保卫细胞壁存在CaM, 而且外源纯化CaM具有调节气孔运动的功能^[11], 随后肖玉梅等^[12]用western技术检测到拟南芥表皮细胞壁存在分子质量为17ku的 Ca^{2+} 结合蛋白. 关于细胞外CaM调节气孔运动的机理, 我们利用G蛋白 α 亚基突变体和 Ca^{2+} 及 H_2O_2 成像技术初步证明细胞外CaM可能是通过激活质膜G蛋白, 引起 Ca^{2+} 升高; G蛋白和

2006-07-24 收稿, 2006-10-13 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 30670173)及河北省教育厅博士基金(批准号: B2003107)资助项目

** 通信作者, E-mail: chenying99@163.com

Ca²⁺可能激活NADPH氧化酶促进H₂O₂合成, H₂O₂打开质膜Ca²⁺通道, 引起保卫细胞内Ca²⁺进一步升高; 最后引起气孔关闭^[13,14]. 至此我们对细胞外CaM诱导气孔关闭的信号转导研究得到了初步结论, 通过比较发现, 参与细胞外CaM诱导气孔关闭的Ca²⁺、G蛋白、H₂O₂等信号分子也是保卫细胞ABA信号转导途径的成员, 说明细胞外CaM和ABA在保卫细胞中的信号途径存在交叉. 那么近年来被广泛证明参与保卫细胞ABA、水杨酸、茉莉酸等信号途径的NO是否参与了细胞外CaM调控的气孔运动呢? 本研究以蚕豆下表皮条为材料, 用表皮条生物分析和荧光显微技术研究了NO在细胞外CaM诱导气孔关闭过程中的作用.

1 材料和方法

1.1 实验材料

蚕豆(*Vicia faba* L.)种子用0.1% HgCl₂消毒后浸泡24h, 然后在25℃培养箱中催芽2—3d, 待胚根长至0.5cm时, 培养在营养土中(营养土: 蛭石=2:1). 温室条件: 光/暗周期为12h/12h, 光照强度为200 μmol·m⁻²·s⁻¹, 温度为22℃/17℃, 相对湿度为70%. 培养期间无任何水分胁迫. 取生长3—4周幼苗顶端完全展开的叶片进行实验.

1.2 荧光显微技术测定保卫细胞内NO的变化

选取3—4周幼苗顶端完全展开的叶片, 置于KCl缓冲液(10 mmol/L MES/Tris, 50 mmol/L KCl, pH6.1)中, 照光使气孔开放, 撕取下表皮, 分别置于对照缓冲液(10 mmol/L MES/Tris, 50 mmol/L KCl, 100 μmol/L CaCl₂, pH6.1)和用缓冲液配制的处理液中, 25℃处理1h后, 加入NO荧光探针DAF-2DA溶液, 使终浓度为10 μmol/L, 避光孵育1.5h, 然后用表皮条缓冲液冲洗多次, 除去吸附的染料. 处理好的表皮条置于荧光显微镜(OLYMPUS BX51)下观察, 在明场下找到视野, 然后用488 nm蓝光激发, 发射光540 nm, 进行拍照, 采集保卫细胞的荧光照片.

1.3 表皮条的生物学分析

选取3—4周幼苗顶端完全展开的叶片, 撕取下表皮, 用毛笔轻轻刷去残存的叶肉细胞, 在

50 mmol/L KCl(10 mmol/L MES/Tris, pH6.1)溶液中照光90 min, 使气孔完全开放, 然后转到缓冲液(同上)和用缓冲液配制的不同处理溶液中2h. 在显微镜下进行观察, 测量气孔孔径. 每个表皮条取4个视野, 每个视野测量10个气孔的孔径. 实验重复3次, 取平均值, 计算标准偏差, n=120.

2 结果

2.1 NO诱导气孔关闭

已有报道表明NO能促进气孔关闭^[3-5], 我们首先确定在我们的培养条件下NO供体SNP能促进蚕豆气孔关闭, 如图1结果所示, 100, 200, 300, 400 μmol/L的SNP能诱导气孔开度不同程度地减小, 处理后气孔孔径分别为处理前的72.94%, 53.29%, 29.01%, 6.69%, 显示SNP浓度越高, 气孔孔径越小. 说明外源NO可以诱导气孔关闭, 且作用效果随浓度的增加而增强. 考虑到药物浓度过高可能对气孔造成一定的伤害, 本文实验SNP浓度均采用200 μmol/L.

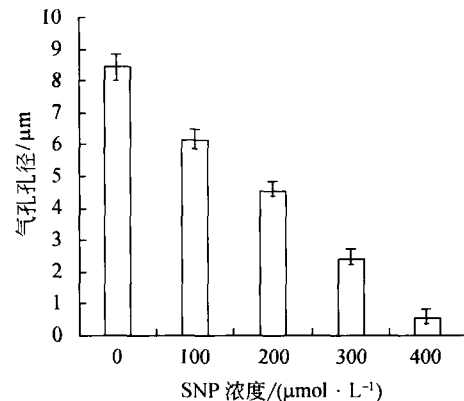


图1 不同浓度SNP诱导蚕豆气孔关闭

2.2 NO参与细胞外CaM调控气孔运动的过程

我们已报道的免疫电子显微镜和免疫荧光技术结果均表明蚕豆保卫细胞壁存在CaM, 并且外源纯化CaM能促进气孔关闭, 抑制气孔开放, 最适浓度为10⁻⁸ mol/L^[11]. 那么NO是否参与细胞外CaM调控的气孔运动呢? 我们用外源CaM与NO的特异清除剂PTIO或NO合成关键酶NOS的抑制剂L-NAME同时处理开放气孔, 2h后记录气孔开度. 如图2结果显示, 细胞外CaM单独处理开放气孔, 气

孔孔径明显减小, 是对照的 62.74% (相同浓度的 BSA 和缓冲液处理的效果一致, 结果未示); 而 CaM 和 L-NAME 或 PTIO 共同处理的气孔孔径较大, 分别为对照的 88.16% 和 90.14%, 说明 L-NAME 和 PTIO 均能削弱细胞外 CaM 的作用; 除了 NOS 途径外, 硝酸还原酶(NR)是 NO 产生的另一个途径的关键酶, 刘新等^[6]已报道 NR 的非特异性抑制剂 NaN_3 对气孔开度无明显影响, 但能够逆转 NaNO_2 诱导蚕豆保卫细胞内 NO 合成及 NaNO_2 诱导气孔关闭的过程, 说明 NaN_3 能有效地抑制蚕豆保卫细胞 NR 的活性. 我们也用 CaM 与 NaN_3 同时处理开放气孔, 图 2 结果显示, NaN_3 对 CaM 诱导气孔关闭的过程基本上没有影响, 两者共同处理的是对照的 64.46%, 与 CaM 单独处理的效果相近, 说明细胞外 CaM 诱导 NO 产生不以 NR 途径为主. 以上结果表明, NO 介导了细胞外 CaM 诱导气孔关闭的过程, 是细胞外 CaM 信号转导途径中必不可

少的成员之一. 虽然有报道表明由 NR 介导产生的 NO 参与了 ABA 调节的气孔运动^[17], 但是细胞外 CaM 诱导保卫细胞 NO 产生是以 NOS 途径为主的.

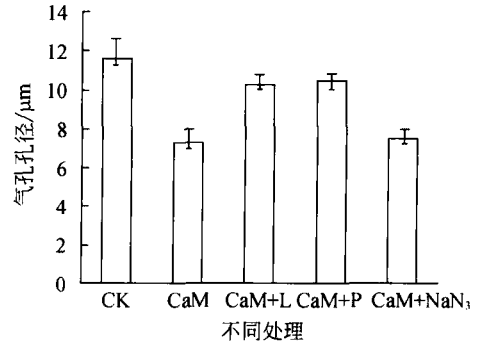


图 2 L-NAME, NaN_3 和 PTIO 对细胞外 CaM 诱导气孔关闭的影响

CK: 缓冲液; CaM: 10^{-8} mol/L CaM; CaM+L: 10^{-8} mol/L CaM + 25 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME; CaM+P: 10^{-8} mol/L CaM + 200 $\mu\text{mol/L}$ PTIO; CaM+ NaN_3 : 10^{-8} mol/L CaM + 100 $\mu\text{mol/L}$ NaN_3

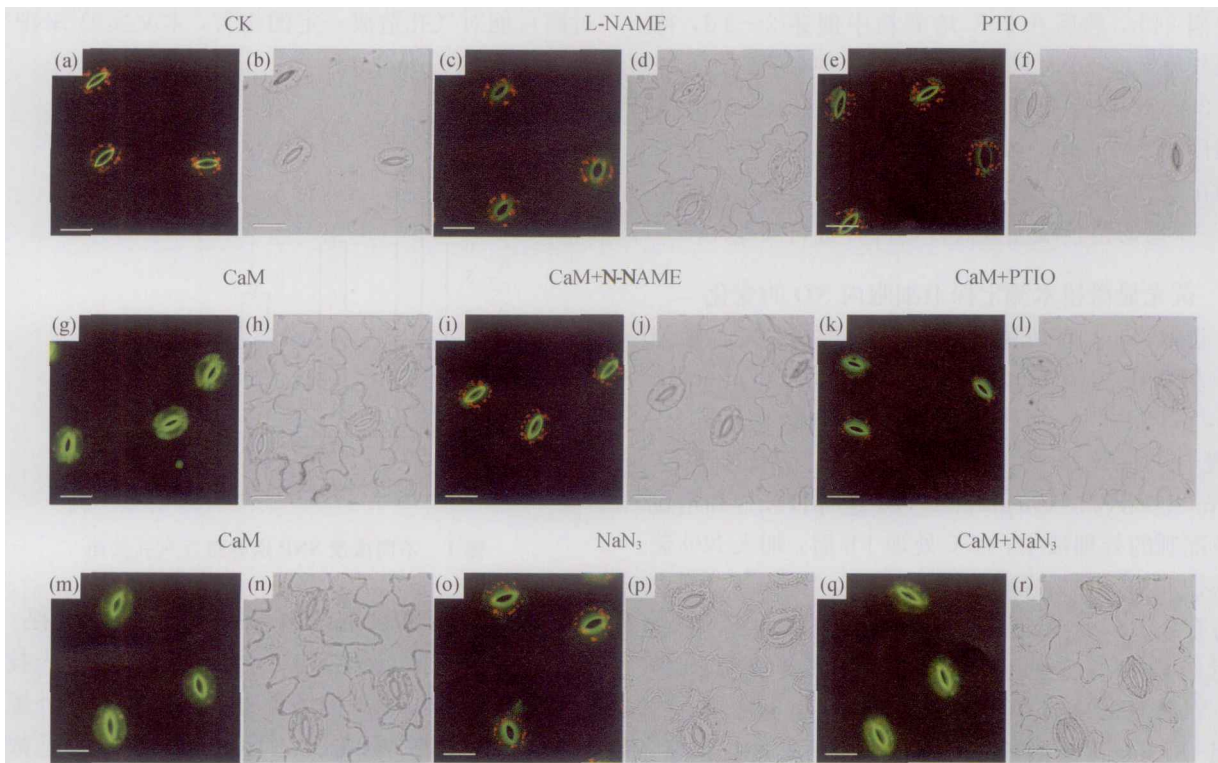


图 3 细胞外 CaM 对保卫细胞内 NO 含量的影响

(a), (c), (e) 分别为对照, 25 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME, 200 $\mu\text{mol/L}$ PTIO 处理的保卫细胞的荧光图; (b), (d), (f) 分别为相应的透射图; (g), (i), (k) 分别为 10^{-8} mol/L CaM, 10^{-8} mol/L CaM + 25 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME, 10^{-8} mol/L CaM + 200 $\mu\text{mol/L}$ PTIO 处理的保卫细胞的荧光图; (h), (j), (l) 分别为相应的透射图; (m), (o), (q) 分别为 10^{-8} mol/L CaM, 100 $\mu\text{mol/L}$ NaN_3 , 10^{-8} mol/L CaM + 100 $\mu\text{mol/L}$ NaN_3 处理的保卫细胞的荧光图; (n), (p), (r) 分别为相应的透射图. Bar = 50 μm

为了进一步确定 NO 在细胞外 CaM 调节气孔运动过程中的作用,我们检测了细胞外 CaM 对保卫细胞内 NO 含量的影响. 利用 NO 特异荧光探针 DAF-2DA, 结合荧光显微技术检测了各种处理下蚕豆保卫细胞中 NO 的水平. 图 3 结果显示: 未加任何处理的保卫细胞装载 DAF-2DA 后, 保卫细胞的胞质中显示很淡的、均匀的绿色荧光, 说明在正常情况下保卫细胞有一定量的 NO 合成(图 3(a), (b)); 而用 NOS 抑制剂 L-NAME(图 3(c), (d))或 NO 清除剂 PTIO(图 3(e), (f))处理的保卫细胞内绿色荧光较弱, 表明 NO 水平较低, 推测可能的原因是 L-NAME 抑制了保卫细胞内 NOS 活性, 进而抑制了 NO 的合成; 而 PTIO 则清除了保卫细胞内大部分的 NO. 10^{-8} mol/L CaM 处理可以显著提高蚕豆保卫细胞内绿色荧光强度(图 3(g), (h)), 绿色荧光几乎掩盖了叶绿体的自发荧光, 表明 NO 水平较高, 说明细胞外 CaM 能够诱导 NO 的合成(相同浓度的 BSA 和缓冲液处理的效果一致, 结果未示); CaM 和 L-NAME 同时处理的保卫细胞内, NO 水平也相对较低(图 3(i), (j)); CaM 和 PTIO 同时处理的保卫细胞中绿色荧光强度也大大减弱(图 3(k), (l)), 说明细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成可能通过 NOS 途径, 而且保卫细胞内的 NO 处于合成和分解的动态平衡中, 细胞外 CaM 能诱导 NO 的合成, 而合成的 NO 能够被 PTIO 有效地清除掉. NR 的抑制剂 NaN_3 处理的保卫细胞绿色荧光较弱(图 3(o), (p)), 表明 NO 水平较低; 用外源 CaM 与 NaN_3 同时处理的保卫细胞中绿色荧光强度显著增强(图 3(q), (r)), 与 CaM 单独处理的保卫细胞荧光强度相近(图 3(m), (n)), 这也证明了细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成的主要途径不是 NR. 综合上述结果, 我们推测: 细胞外 CaM 能够诱导气孔保卫细胞内 NO 合成, 而且 CaM 可能是通过 NOS 途径来诱导 NO 的产生.

NO 含量测定结果和气孔孔径测量结果一致, 均提供证据表明 NO 确实存在于细胞外 CaM 诱导的气孔关闭的信号途径中, 其可能的作用模式是: 细胞外 CaM 通过一定的途径激活 NO 合成的关键

酶 NOS, 催化保卫细胞内 NO 产生; NO 含量升高后诱发一定的生理生化反应, 促使气孔关闭.

2.3 细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成依赖于细胞外 Ca^{2+}

有报道表明 NOS 在体外的活性依赖 Ca^{2+} / CaM^[7], 暗示此酶在细胞内的活性也依赖 Ca^{2+} ; 细胞外 CaM 能诱导保卫细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高, 且升高程度随细胞外 Ca^{2+} 浓度升高而增强^[13, 14], 说明细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 Ca^{2+} 升高主要依赖于 Ca^{2+} 内流. 图 4 结果显示, 如果细胞外 Ca^{2+} 被 EGTA 螯合掉, CaM 不能诱导气孔关闭. 因此推测可能存在以下途径: 细胞外 CaM 诱导细胞外 Ca^{2+} 内流, 胞内升高的 Ca^{2+} 激活 NOS, 从而催化保卫细胞内 NO 合成. 如果细胞外 Ca^{2+} 进入细胞的过程受到抑制, 细胞外 CaM 诱导 NO 升高的过程就会受到影响. 图 5 结果证明了这一点, Ca^{2+} 螯合剂 EGTA(图 5(c), (d))或质膜 Ca^{2+} 通道抑制剂 LaCl_3 (图 5(e), (f))单独处理的保卫细胞内 NO 的合成低于未加任何处理的对照(图 5(a), (b))保卫细胞内 NO 水平, 表明在正常情况下保卫细胞内 NO 的含量也依赖于细胞外 Ca^{2+} 的内流; 外源 CaM 显著诱导保卫细胞内 NO 升高(图 5(g), (h)), 而 CaM 和 EGTA(图 5(i), (j))或 LaCl_3 (图 5(k), (l))共同处理的 NO 水平远远低于 CaM 单独处理的水平. 以上结果证明了细胞外 CaM 诱导保卫细胞 NO 合成依赖于细胞外 Ca^{2+} 的内流.

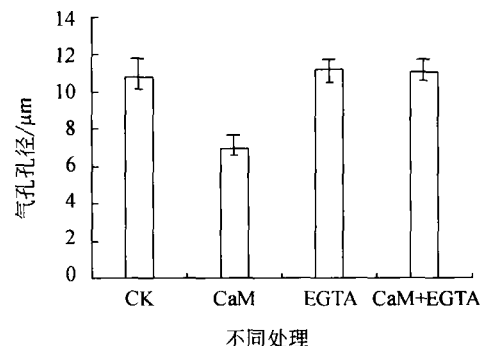


图 4 EGTA 处理后, 细胞外 CaM 不能使气孔关闭

CK: 缓冲液; CaM: 10^{-8} mol/L CaM; EGTA: 2 mmol/L EGTA; CaM+EGTA: 10^{-8} mol/L CaM+2 mmol/L EGTA

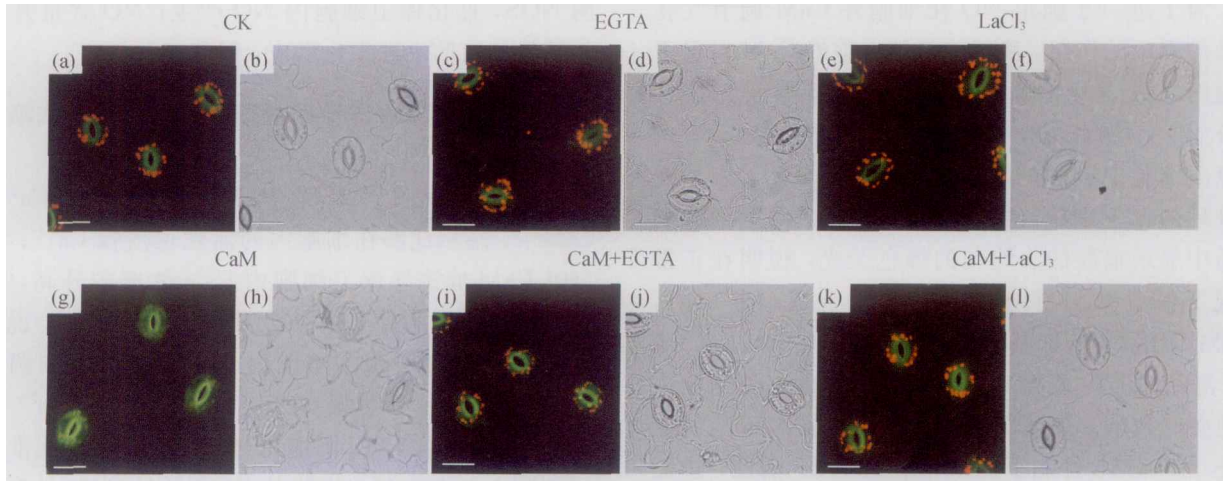


图5 EGTA或LaCl₃处理后,细胞外CaM不能引起保卫细胞内NO含量升高

(a), (c), (e) 分别为对照, 2 mmol/L EGTA, 1 mmol/L LaCl₃ 处理的保卫细胞的荧光图; (b), (d), (f) 分别为相应的透射图; (g), (i), (k) 分别为 10⁻⁸ mol/L CaM, 10⁻⁸ mol/L CaM+2 mmol/L EGTA, 10⁻⁸ mol/L CaM+1 mmol/L LaCl₃ 处理的保卫细胞的荧光图; (h), (j), (l) 分别为相应的透射图. Bar=50 μm

细胞外CaM诱导NO合成需要细胞外Ca²⁺内流,那么NO诱导气孔关闭的过程是否还依赖于细胞外Ca²⁺呢?我们用NO供体SNP与EGTA共同处理了开放气孔,图6结果显示,两者共同处理后气孔不能关闭,说明EGTA阻止了SNP诱导气孔关闭的作用,SNP诱导气孔关闭也依赖于细胞外Ca²⁺.

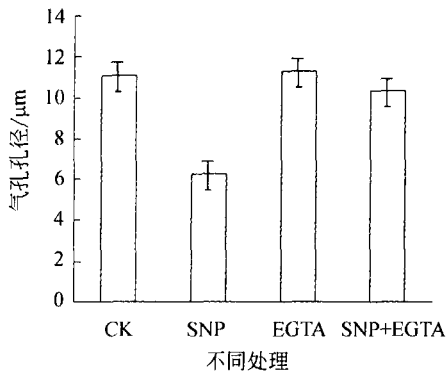


图6 EGTA处理后,SNP不能使气孔关闭

CK: 缓冲液; SNP: 200 μmol/L SNP; EGTA: 2 mmol/L EGTA; SNP+EGTA: 200 μmol/L SNP+2 mmol/L EGTA

以上结果表明,NO参与了细胞外CaM诱导气孔关闭的过程,其可能的作用方式是:细胞外CaM诱导保卫细胞内Ca²⁺升高,Ca²⁺与细胞内CaM结合后,激活NOS,催化NO的合成,NO可能通过诱

导细胞外Ca²⁺内流从而促进气孔关闭.

3 讨论

气孔运动受多种信号分子的调节,如ABA、水杨酸、茉莉酸等.我们近年的研究表明,CaM能在细胞外引起气孔关闭,且Ca_v,H₂O₂可能参与了该过程^[11,13,14].鉴于保卫细胞信号转导的复杂性,我们对细胞外CaM诱导气孔关闭的信号途径进行了进一步的研究.

最近几年很多报道表明NO可以诱导多种植物如蚕豆、拟南芥、鸭跖草等的气孔关闭^[4,7,15].也参与介导了ABA、水杨酸、茉莉酸等多种刺激诱导的气孔关闭过程^[3,5,6].使用NO清除剂PTIO与外源纯化CaM一起处理开放气孔,外源CaM诱导气孔关闭的效应被逆转,暗示NO可能是细胞外CaM诱导气孔关闭过程中的重要信号分子之一;那么细胞外CaM诱导保卫细胞内NO产生是通过NOS途径还是NR途径呢?NOS抑制剂L-NAME能逆转细胞外CaM诱导气孔关闭的过程,而NaN₃对细胞外CaM诱导气孔关闭的过程没有影响,说明细胞外CaM诱导保卫细胞内NO合成可能主要是通过NOS,而不是NR途径.

DAF-2DA是显示NO含量变化的荧光探针,DAF以酯化形式DAF-2DA穿过质膜,细胞内的酯

酶使其水解为 DAF, DAF 与 NO 反应产生绿色荧光. DAF 不会与稳定的氮氧化物如 NO_2^- 和 NO_3^- 等反应, 也不会与其他的活性氧如超氧阴离子、 H_2O_2 和过氧化亚硝酸阴离子(ONOO^-)等反应, 是目前记录细胞内 NO 含量变化的特异染料^[16], 如在蚕豆、拟南芥、鸭跖草保卫细胞记录到 ABA 处理前后 NO 荧光强度的图像^[3,4,17]. 我们利用 DAF-2DA, 结合荧光显微摄像技术, 研究了细胞外 CaM 对保卫细胞内 NO 合成的影响. 结果表明, 细胞外 CaM 能够显著诱导保卫细胞内 NO 含量升高. 目前公认的 NO 的合成途径有 3 个, 包括 NOS, NR 和非酶途径. 细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成的过程能被 NOS 抑制剂 L-NAME 所抑制, 不能被 NR 的非特异性抑制剂 NaN_3 所抑制, 说明细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成可能主要是通过 NOS 途径. 细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 变化的结果与细胞外 CaM 诱导气孔关闭的结果一致, 均表明 NO 在细胞外 CaM 诱导气孔关闭的过程中起重要作用. Bright^[17] 等在拟南芥中证明 ABA 诱导 NO 含量升高是通过 NR 途径完成的; 而刘新等^[6] 在蚕豆的实验结果显示 JA 处理诱导保卫细胞中 NO 的产生主要来源于 NOS 途径; 本实验结果表明细胞外 CaM 主要经过 NOS 途径产生 NO, 说明不同刺激诱导产生 NO 合成的途径不同.

拟南芥 NOS 在体外的活性依赖于 Ca^{2+} / CaM^[7], 因此我们考虑细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 合成可能会依赖于 Ca^{2+} 的升高, 那么在这个过程中 Ca^{2+} 来源于细胞内还是细胞外呢? 细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 Ca^{2+} 升高是依赖于细胞外 Ca^{2+} 的浓度的^[13], 本文实验结果表明, 细胞外 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 和质膜 Ca^{2+} 通道抑制剂 LaCl_3 都能阻止细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 升高的过程, 说明细胞外 CaM 诱导保卫细胞内 NO 升高可能是依赖于细胞外 Ca^{2+} 内流的. 细胞外 CaM 诱导 NO 升高后, NO 通过一定的过程引起气孔关闭, 那么在此过程是否还依赖于细胞外 Ca^{2+} 内流呢? 尽管有报道表明 NO 能通过 cGMP 诱导保卫细胞内 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} ^[18], 但是我们的结果表明 NO 诱导蚕豆气孔关闭依赖于细胞外 Ca^{2+} 内流, 这与刘新等的结果是一致的^[19]. 最近在拟南芥证明 ABA 诱导 NO 是依赖于 H_2O_2 的, 结合我们已发表的结果推测, 细胞外

CaM 通过诱导 NO 升高促进气孔关闭的可能途径是: 细胞外 CaM 通过激活 G 蛋白诱导细胞外 Ca^{2+} 内流, G 蛋白可能与 Ca^{2+} 一起通过 NADPH 氧化酶调节 H_2O_2 合成, H_2O_2 诱导保卫细胞内 Ca^{2+} 进一步升高, Ca^{2+} 与细胞内 CaM 结合, 激活 NOS, 催化 NO 合成; 升高的 NO 通过诱导细胞外 Ca^{2+} 内流, 可能同时通过其他途径使胞内 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} , 最后使气孔关闭. 那么在细胞外 CaM 诱导气孔关闭的过程中, G 蛋白, H_2O_2 , Ca^{2+} 以及 NO 之间是否为上下游关系, 还需要进一步研究.

参 考 文 献

- Schroeder JI, Kwak JM, Allen GJ. Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature*, 2001, 410: 327—330
- Hetherington AM. Guard cell signaling. *Cell*, 2001, 107: 711—714
- Neill SJ, 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
- 刘新, 张蜀秋, 娄成后. 气孔运动调控中过氧化氢和一氧化氮信号途径的交叉作用. *自然科学进展*, 2003, 13 (4): 355—358
- 刘新, 石武良, 张蜀秋, 等. 一氧化氮参与茉莉酸诱导蚕豆气孔关闭的信号转导. *科学通报*, 2005, 50(5): 453—458
- 刘新, 张蜀秋, 娄成后. 一氧化氮参与水杨酸对蚕豆气孔运动的调控. *科学通报*, 2003, 48(1): 60—63
- Guo FQ, Okamoto M, Crawford NM. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science*, 2003, 302(10): 100—103
- Biro RL, Sun DY, Serlin BS, et al. Characterization of oat calmodulin and radioimmunoassay of its subcellular distribution. *Plant Physiol*, 1984, 75: 382—386
- 孙大业, 马力耕. 细胞外钙调素——一种植物中的多肽信使? *中国科学, C 辑*, 2001, 31: 289—297
- Ma L G, Xu XD, Cui SJ, et al. The presence of a heterotrimeric G protein and its role in signal transduction of extracellular calmodulin in pollen germination and tube growth. *Plant Cell*. 1999, 11: 1351—1364
- Chen YL, Zhang XQ, Chen J, et al. Existence of extracellular calmodulin in the lower epidermis of the leaves of *Vicia faba* and its role in regulating stomatal movements. *Acta Bot Sin*, 2003, 45: 40—46
- Xiao YM, Chen YL, Huang RF, et al. Depolymerization of actin cytoskeleton is involved in stomatal closure-induced by extracellular calmodulin in *Arabidopsis*. *Science in China Ser C Life Sciences*, 2004, 47(5): 454—460

- 13 陈玉玲, 肖玉梅, 陈 珈, 等. G蛋白可能参与细胞外钙调素促进蚕豆气孔关闭的过程. 自然科学进展, 2003, 13(4): 343—348
- 14 Chen YL, Huang RF, Xiao YM, et al. Extracellular calmodulin-induced stomatal closure is mediated by heterotrimeric G protein and H₂O₂. Plant Physiol, 2004, 136: 4096—4103
- 15 Garcia-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. Plant Physiol, 2001, 126: 1196—1204
- 16 Kojima H, Nakatsubo N, Kikuchi K, et al. Detection and imaging of nitric oxide with novel fluorescent indicators; Diaminofluoresceins. Anal Chem 1998, 70: 2446—2453
- 17 Bright J, Desikan R, Hancock JT, et al. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. Plant J, 2006, 45: 113—122
- 18 Garcia-Mata C, Gay R, Sokolovski S, et al. Nitric oxide regulates K⁺ and Cl⁻ channels in guard cells through a subset of abscisic acid-evoked signaling pathways. Proc Natl Acad Sci, USA, 2003, 100(19): 11116—11121
- 19 刘 新, 张蜀秋, 娄成后. Ca²⁺参与NO对蚕豆气孔运动的调控. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(4): 342—346

“物理化学发展的瓶颈与思路”论坛在厦门大学举行

物理化学是化学科学的理论基础, 物理化学能否健康、协调的发展, 直接影响甚至制约整个化学学科的长期发展. 进入新世纪, 物理化学不仅在化学, 而且在生命、材料、能源和环境等重大科学领域中发挥着越来越不可替代的作用. 鉴于该学科的重要性, 国家自然科学基金委员会化学科学部已于2003年12月在吉林省长春市召开了“新世纪物理化学学科前沿与发展趋势”研讨会, 该会议的成功召开对于认清学科发展前沿与趋势, 促进我国物理化学的繁荣起到了积极的引导和推动作用. 物理化学学科的自身发展应把国家需求与科学前沿有机结合起来, 不断提出新的思路和战略思考, 探寻我国物理化学进一步发展的契机和突破口, 特别要在认真总结学科发展的经验, 及时发现和修正目前物理化学学科繁荣的背后还可能存在的问题等方面下工夫, 着力探讨如何更好地发挥自然科学基金的引领作用. 经过反复酝酿, 国家自然科学基金委员会化学科学部于2006年11月30日至12月3日在厦门大学组织召开了“物理化学发展的瓶颈与思路”论坛. 论坛由厦门大学固体表面物理化学国家重点实验室承办, 同时得到厦门大学的大立支持.

国家自然科学基金委员会副主任朱道本院士、化学科学部主任林国强院士、常务副主任梁文平及副主任陈拥军出席了会议并发言. 参加本次论坛的代表既有来自全国高校和研究所从事物理化学研究的专家, 也有来自兄弟学科的部分专家, 共计70余人.

本次论坛的特色是所有的报告人和发言者均着眼于物理化学学科发展的趋势, 以及我国物理化学学科的现状分析、瓶颈问题以及未来发展的研讨. 有56位专家作了发言. 会议的形式从以往的“表扬与自我表扬”转变为“批评与自我批评”. 专家们从物理化学的研究范畴、学科交叉中的物理化学、实验仪器和实验方法的自主研发、理论方法的创新及理论与实验的实质性合作、具有创造性思维的人才的培养及评价和选拔、学风和科研成果评价的内外部标准和国家自然科学基金的引领和推动作用的充分发挥等方面进行了深入细致的讨论. 专家们倡议, 经过开放式的反复交流探讨, 希望在近年内总结提出物理化学在实验、理论和反应体系3大方面的各自10个最具挑战的难题(最重要的基本问题). 通过把本学科长期遗留的难点问题, 清楚地摆在科研人员, 特别是年轻的科研人员和学生面前, 正确地激发他们的挑战意识和聪明才智, 将年轻学者的兴趣引导到攻克一些难点问题上, 变难点为热点, 变冷门为热门, 走在科研的前沿, 提高物理化学原始创新能力, 推进整个化学的健康、和谐发展.

(供稿: 杨俊林 高飞雪)