

植物细胞程序性死亡(PCD)的研究进展

于维华, 陈鹏, 王莉, 李小平

(扬州大学农学院园艺系, 江苏扬州 225009)

摘要: 细胞死亡是动、植物生长发育过程中常见的一种生命现象, 而细胞程序性死亡(PCD)是细胞遵循自身生命活动程序, 并受多种因子调控的一种积极的死亡方式。近年来随着动物中 PCD 研究的深入, 植物 PCD 亦得到相应的研究。植物细胞程序性死亡研究不仅可揭示植物衰老、死亡的内部变化规律, 而且可为其生长发育的调控提供依据和技术。该文试对有关 PCD 的特点、研究意义及近年来的研究概况与方法进行简述与评价。

关键词: 植物; 细胞程序性死亡; 发育调控; 综述

中图分类号: Q942 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2004)02-0146-06

Advances in studies on programmed cell death (PCD) in plants

YU Wei-hua, CHEN Peng, WANG Li, LI Xiao-ping

(*Department of Horticulture, Agricultural College of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China*)

Abstract: Cell death is a commonly encountered life phenomenon in animals and plants during their growth and development. Programmed cell death (PCD) controlled by multi-factors is an active behaviour of terminating life, which follows itself programme. In recent years, PCD is further researched in animals as well as in plants. A study on PCD in plants not only enunciates their inside changing laws of senescence and death, but also could give a basis and technique to control and regulate their growth and development. Based on above ideas, this article gives a brief introduction of the characters of PCD and its significance, conditions and methods of researches.

Key words: plant; programmed cell death; developmental regulation; overview

植物细胞程序性死亡(Programmed cell death, PCD)是细胞正常发育过程中采取的一种自身基因调控的主动死亡方式, 是植物发育过程中不可缺少的一部分。二十世纪 80 年代尤瑞麟(1985)首次报道了正常小麦珠心细胞衰退的超微结构变化, 90 年代初, Greenberg 等(1994, 1996)发现在植物对病原体的防御反应中存在类似动物细胞的程序性死亡现象, 从此植物 PCD 引起了人们的关注。植物和动物 PCD 两者之间是否存在差异, 逆境中植物 PCD 如

何发生和调控, 以及 PCD 在植物生长发育过程中起了何种作用, 这些问题的提出使植物 PCD 成为当前生物研究的热点。

1 PCD 的特点

PCD 最初是在动物中发现的。Glucksman 在 1951 年提出了 PCD 的概念; 1965 年 Lockshio 首次提出 PCD 是多细胞动物组织中细胞对特定生理性

收稿日期: 2003-05-07 修订日期: 2003-07-22

基金项目: 江苏省科技攻关项目(苏科技(2002)467号)

作者简介: 于维华(1978-), 女, 山东肥城人, 硕士生, 植物学专业, 研究方向为果树发育生理。

刺激产生的反应的死亡方式(陈毅坚, 2000); Kerr等(1972)在描述多细胞有机体在发育过程中出现的细胞自然死亡现象时提出了细胞凋亡(Apoptosis)的概念。由于PCD和凋亡时细胞表现相同的形态特征,许多人认为凋亡就是PCD。研究表明,凋亡是PCD过程中伴随出现的特定形态、生化特征,也有一些细胞在PCD过程中并不表现凋亡的特征,这一类细胞死亡被称为非程序性细胞死亡(王忠, 1999)。Lee和Chen(2002)在水稻叶片的衰老过程中观察到非程序性的细胞死亡。通过电子显微技术, TUNEL(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end in situ labeling)和DNA梯带等检测方法,观察到死亡细胞的细胞质降解,但没有明显的和凋亡相关的形态学特征。由此可见,凋亡是PCD在形态学上的表现,两者不完全等同。PCD与一般意义上的衰老、坏死不同,其表现出的特点是:PCD发生时细胞和染色质浓缩,细胞膜突出形成质膜小泡,脱落后形成PCD小体;同时核酸内切酶激活, DNA断裂,在含溴化乙锭的琼脂糖凝胶上电泳出现典型的“梯状”条带(Wacker等, 1997)。

2 PCD研究的意义

植物PCD是植物生长过程中的必要组成部分。细胞死亡后被其它细胞吸收利用或构成利于自身发展的特殊结构,对植物的生长发育及新陈代谢起重要作用。如皮层细胞死亡后形成通气组织;筛管细胞死亡后形成了输导组织;植物表面覆盖的一层死亡细胞,具有保护机体,减少水分蒸发的作用等。植物在遇到某些逆境,如高盐、水涝和低温时,某些细胞、组织或器官也会发生PCD,从而度过不良环境,这是植物在进化过程中自身形成的对环境的适应能力。深入研究PCD的发生机制,了解植物的生长发育的本质及逆境条件下植物的自身调控,对控制植物病害的发生,农作物品种选优、粮食生产及贮藏保鲜的改良具有重要意义。

3 植物PCD的研究概况

细胞死亡伴随在组织和器官形态分化过程中,对生物的发育和生存都有重要意义。动物中PCD的研究较早,其发生机理和生化特征均得到较为深

入的研究,目前在免疫学、胚胎学及医学方面已取得了许多成果。其中最能引起人们广泛兴趣的是如果能改变PCD中起关键作用的基因的活性,就可以调节致病细胞的死亡,这无疑对治疗疾病将有重大意义。植物的衰老死亡是其生长发育的重要过程,随着研究的不断深入,动物PCD的研究结果推动了植物方面的研究。研究发现植物和动物PCD发生时两者表现出相似的细胞学特征,及伴随DNA条带及酶活性的变化。但两者又有差异,动物发生PCD后,细胞很快被其他细胞吞噬降解,以防有害细胞内含物泄露引起周围细胞受损(Jacobson和Weil, 1997);而植物中的死亡细胞在有些情况下可构成某种特殊组织,如维管系统中导管及筛管细胞通过PCD形成的机械组织(王雅清等, 1998)。许多证据还显示,活性氧、乙烯、 Ca^{2+} 、水杨酸及氧化氮等是外界环境诱导PCD发生的信号(Pan等, 2002),使植物在逆境下表现出一些特殊反应,如受病原菌侵害时发生超敏反应;高温或高浓度时产生热激蛋白、防卫蛋白等。这些情况引起了人们的极大兴趣,通过大量研究,目前植物PCD取得了较明显的进展。

3.1 植物PCD的细胞学研究

尤瑞麟在研究小麦珠心细胞衰退过程时引入了PCD的概念。随后Eleftherion(1986)研究了小麦原生韧皮部细胞核解体过程中的超微结构变化,但其中并没有提及PCD。Li等(2002)在银杏胚珠贮粉室的早期发育中发现参与形成贮粉室的珠心细胞死亡是PCD过程。玉米胚胎发育过程中母体组织通过胚柄传送营养物质,当完成其功能后,胚柄细胞发生程序性死亡(Yeung和Meinke, 1993)。Giuliani等(2002)通过TUNEL和DNA梯带检测也发现玉米胚胎发育中在特定的位点和时期发生PCD。

植物体中运输水分和无机盐的管状分子及行使机械支持功能的各种厚壁组织,成熟时都是丧失生命力的死亡细胞,它们的发育成熟过程本身就是PCD。Miller等(1995)用原位检测DNA片段的方法研究了高等植物中导管分子的分化。王雅清等用原位末端标记的方法,通过观察杜仲次生木质部发育过程的超微结构变化,证实了其导管分子的分化是PCD过程。

3.2 植物PCD的生理学研究

生物体内的细胞受自身发育阶段提供的遗传信息,或其周围细胞和微环境提供的信号作用,包括细

胞相互接触提供的信号以及周围环境中的活性物质、激素等。陈鹏等(1994, 1999)在银杏种核形状及其种仁成分的分析研究中发现,不同品种类型间的种核三维度具显著或极显著差异;种仁中的氢氰酸含量与种核的宽/厚比呈极显著相关。林久生等(2001)发现在小麦叶片发生 PCD 时期,其蛋白质下降缓慢,这是由于此时部分蛋白质降解而同时新蛋白质不断合成的综合表现;当大部分细胞进入死亡时期,含量迅速下降。

Orzaez 等(1997)发现乙烯处理豌豆可促使其心皮衰老及 DNA 降解;Morgan 等(1997)发现乙烯介入玉米根中缺氧和机械障碍诱导的通气组织后形成的细胞程序性死亡。尽管乙烯在控制植物生长发育过程中的巨大作用早为人知,但乙烯信号传导途径与细胞凋亡的关系还不清楚。另外,GA 也能刺激 PCD 发生,乙烯和 GA 的作用又可被 CTK 及 ABA 所逆转。因此乙烯很可能与其他信号分子一起作用来调节 PCD。

Ca²⁺ 促进乙烯产生,已知在动物 PCD 过程中, Ca²⁺ 具有启动作用(McConkey 和 Orrenius, 1995)。虽然植物 PCD 的诱导信号和机理仍不清楚,但许多实验证据已经表明 Ca²⁺ 在该过程中起着重要作用(Roberts 和 Haigler, 1989; Raz 和 Fluhr, 1993)。研究发现 Ca²⁺ 的升高,能直接激活依赖钙的核酸内切酶,使之作用于 DNA,产生 DNA 降解(Gaido 和 Cidlowski, 1991)。

活性氧是机体发生 PCD 的信号, H₂O₂ 含量上升可诱导 PCD 的发生。光呼吸条件下转基因烟草中过氧化氢酶活性降低, H₂O₂ 浓度升高,诱导叶脉栅栏细胞死亡,超微结构可看到染色质浓缩和线粒体完整性的丧失(James 等, 2003)。

动物中研究发现 PCD 过程是由一系列特异的半胱氨酸蛋白酶类(cysteiny l aspartate-specific proteinases, caspases)所控制的。caspases 被激活后,作用于底物蛋白,使蛋白质分解,引起细胞的凋亡。许多试验表明植物 PCD 中也发生 caspase 的活化。茶叶的主要成分茶多酚在诱导鼻咽癌细胞发生凋亡过程中, caspase-3 活化,切割 DNA,使一些参与 DNA 损伤修复的酶及 DNA 依赖的蛋白激酶失活,从而导致细胞凋亡(罗非君等, 2000)。大豆根节的发育过程是 PCD 过程,在其发育过程中有半胱氨酸蛋白酶(cysteine protease, CP)的表达。对根节停止固氮后的第 5 周、7.5 周、10 周的研究发现随

着根的生长和衰老, CP 基因表达增强, H₂O₂ 大量积累(Florence 等, 2003),这也可解释 PCD 过程中 H₂O₂ 含量的升高。

3.3 PCD 的生物学研究

超敏反应(Hypersensitive response, HR)也是一种 PCD。PCD 不仅是细胞正常发育所必须的过程,也是植物一种重要的防卫反应。植物一旦受病原菌侵染后,其感染点周围细胞发生 PCD,使植物体产生系统获得性抗性(System Acquired Resistance, SAR),以防止病原菌的传播。这是植物对不良环境条件做出的反应。通过分离突变体,调节超敏性细胞死亡反应的相关组成已被检测到,但具体是哪些执行了细胞的程序性死亡,还没有结论,且植物中这种形式的 PCD 是否和其他方式的 PCD 以及动物中的细胞凋亡相同,还需要进一步的遗传和生化分析(Dominique 等, 1998)。

3.4 植物 PCD 的诱导研究

尽管 PCD 参与植物发育的许多过程,但由于植物体中发生 PCD 的细胞比率小,相对过程短,因此不利于 PCD 的检测及其机制的深入研究。许多实验表明,植物 PCD 可以被一定的外界条件诱导产生。Wang 等(1996)用真菌毒素三羧酸丙烯酸单酯诱导番茄原生质体及小叶凋亡,观察到典型的 DNA “梯状”条带和类似 PCD 小体的结构。周军等(1999)发现,在适当浓度的乙烯利处理下,胡萝卜原生质体也产生了典型的凋亡特征。另外 Morgan 等(1997)在不同类型的植物中的研究证明,乙烯能诱导豌豆、玉米和胡萝卜等产生细胞凋亡。孙英丽等(1999)发现细胞色素 C 可以诱导植物细胞产生典型的 PCD。Jones(2002)也发现在管状分子分化过程中,线粒体释放细胞色素 C 到细胞质中,而且 Ca²⁺ 也诱导细胞色素 C 的释放,这和管状分子分化时需要 Ca²⁺ 的结论是一致的。

4 PCD 的研究途径与方法

PCD 的研究途径与方法很多,目前主要采用的有形态学观察法和生化检测法(张亚历等, 1996)。

4.1 形态学观察法

形态学观察法是研究细胞形态最直接的方法。发生 PCD 和坏死的细胞形态存在显著差别,可通过切片来观察。

4.1.1 石蜡切片染色法 石蜡能切成极薄而连续的

切片,是显微技术上最重要的一种方法,制片时可根据不同要求进行染色。吖啶橙(AO)和溴化乙锭(EB)双重染色法、台盼蓝染色法及 DAPI 染色法利用染料对细胞膜的通透性不同来区别 PCD 与坏死;甲基绿—派诺宁染色法则是利用甲基绿对 DNA 染色的特异性和派诺宁在酸性条件下对 RNA 的亲水性,使得 PCD 时细胞核和细胞质呈现不同染色(Moffitt,1994)。

4.1.2 透射电镜超薄切片观察法 电子显微镜是观察细胞形态的最好方法,在电镜下细胞核和细胞器亚微结构清晰易辨,比单纯的光学显微镜观察可靠。样品制成超薄切片后,经醋酸双氧铀和柠檬酸染色,在电镜下观察,可清楚看到发生 PCD 的细胞的结构。

4.2 生化检测法

PCD 发生时,核酸内切酶激活,导致 DNA 非随机性断裂成 180~200 bp 的片段,可利用此特点来检测 PCD 的发生。

4.2.1 电泳法 常见的有琼脂糖凝胶电泳和彗星电泳两种方法。

4.2.1.1 琼脂糖凝胶电泳 PCD 过程中 DNA 断裂,在含 EB 的琼脂糖凝胶上电泳出现“梯状”条带,是 PCD 的典型特征。虽然 Bowen 等(1993)在观察凋亡细胞时并没有发现明显的 DNA 降解或“梯状”条带,但目前仍把 DNA 电泳时呈现的“梯状”条带看作是 PCD 最重要的鉴别方法。缺点是这种方法需要较多数目的 PCD 细胞的存在。

4.2.1.2 彗星电泳 细胞发生 PCD 时 DNA 断裂成不等长的片段,在电流作用下,移出细胞核,荧光染料染色后可观察到彗星图案。彗星电泳法可精确反映细胞的凋亡,且灵敏度高。缺点是彗星电泳还不能直接检测带壁植物细胞的 PCD(姜晓芳等,1998)。

4.2.2 末端标记法 包括简易末端标记、5'末端³²P 标记和原位末端标记。

4.2.2.1 简易末端标记法 PCD 过程中细胞在核酸内切酶作用下产生具有粘性末端的 DNA 片段,这种 DNA 片段可被 Klenow 聚合酶补平。Rosl(1992)利用这种原理,采用³²P 标记的核苷酸对纯化的 DNA 进行简单的末端标记和放射自显影,检测梯状条带中核苷酸片段。

4.2.2.2 5'末端³²P 标记法 这种方法用于定量检测 pg 水平上 PCD 细胞核小体间的碎片。用碱性磷

酸酶将纯化的 DNA 末端脱磷酸化后,在 T₄ 多核苷酸激酶作用下将 5'末端用³²P 标记,在琼脂糖凝胶电泳后的条形带上,从标记的 DNA 黑色显影上可推知细胞的凋亡程度。此法敏感性高于琼脂糖凝胶电泳(Huang 和 Plukett,1992)。

4.2.2.3 原位末端标记法 原位末端标记法是检测 PCD 的一种特异且灵敏的方法。石蜡包埋后切片,脱蜡后用胃蛋白酶消化,将标记的核苷酸原位掺入 DNA 缺口,再经辣根过氧化物酶标的抗生素蛋白抗体作用,二氨基联苯胺(DAB)显色后在显微镜下可看到 PCD 细胞呈阳性反应,出现黄褐色沉淀(王雅清等,1998)。

4.2.3 流式细胞光度计检测法 流式细胞光度计可进行植物细胞核 DNA 含量的测定,此法操作简单,精确度高。PCD 时,DNA 发生断裂,用流式细胞光度计检测,在 DNA 直方图上可看到凋亡细胞二倍体峰的减少;坏死细胞在细胞周期中出现不同程度的减少,亚二倍体细胞量多少不等。

5 植物 PCD 的研究展望

植物 PCD 的研究已有结果报道,随着研究的逐步深入,发现植物 PCD 需要研究的方面还很多。植物体发生 PCD 的机理还不清楚,植物细胞中与 PCD 有关的基因研究还远没有动物深入。尽管许多实验表明植物 PCD 与动物是相似的,但分子水平共同特征少,目前仅发现少数几个基因参与植物 PCD 的过程(华志明等,1998)。研究过程中常局限于某一特定现象,很少有将这些现象和植物发育的具体过程联系起来,加上植物生长周期较长,给研究带来一定困难。植物 PCD 的研究如果能与植物的经济利用联系起来,将具有重要实践价值。某些干果类果品,如银杏、板栗等在发育过程中形成的坚硬种壳限制了其体积的继续增大,且种壳结构影响其贮藏保鲜,降低了商品价值和经济效益。现有的研究结果表明,这层木质化硬壳的形成直接与 PCD 有关。如能发现诱导果实发育中 PCD 发生的因子,通过人为调控,改变生长发育期,提高果品产量和品质,则将会极大地推动果树现代化生产的发展。

参考文献:

- 王 忠. 1999. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社, 35-36.

- 张亚历, 姜泊, 周殿元. 1996. 程序化细胞死亡常用研究方法. 姜泊, 等. 分子生物学常用实验方法[M]. 北京: 人民军医出版社, 170—183.
- Bowen ID, Morgan SM, Mullarby K. 1993. Cell death in the Salivary Gland of Metamorphosing Calliphora Vomitoria [J]. *Cell Biol Inter*, **17**(1): 13—33.
- Chen P(陈鹏), He FR(何凤仁), Wei J(韦军), et al. 1994. Studies on the influences on the embryo and the hydrocyanic acid content of *Ginkgo biloba* seed treated by ⁶⁰Co radioactive isotope and low temperature freezing(⁶⁰Co和速冻对银杏种胚及氢氰酸含量的影响)[J]. *Journal of Jiangsu Agricultural college*(江苏农学院学报), **15**(1): 53—56.
- Chen P(陈鹏), He FR(何凤仁), Yu BY(余碧钰), et al. 1999. Seed stone shape and the relative components in the kernel of *Ginkgo biloba*[J]. *Forestry studies in China*, **1**: 42—47.
- Chen YJ(陈毅坚). 2000. Studies on apoptosis and its mechanism(细胞凋亡及其机制研究)[J]. *Journal of Institute of Shaotong Normal School*(昭通师范高等专科学校学报), **22**(3): 83—85.
- Dominique P, Claudine B, Dominique R. 1998. The hypersensitive response: A programmed cell death associated with plant resistance[J]. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III -Sciences de la Vie*, **321**(9): 721—734.
- Eleftherious EP. 1986. Ultrastructural studies on protophloem sieve elements in *Triticum aestivum* L. nuclear degeneration[J]. *Ultract Mol Struct Res*, **95**: 47—60.
- Florence A, Rene M, Ghislaine VS, et al. 2003. Possible roles for a cysteine protease and hydrogen peroxide in soybean nodule development and senescence[J]. *New Phytol*, **158**(1): 131—138.
- Gaido ML, Cidlowski JA. 1991. Identification, purification, and characterization of a calcium-dependent endonuclease (NUC18) from apoptotic rat thymocytes, NUC18 is not histone H₂B[J]. *Biol Chem*, **266**(28): 18 580—18 585.
- Giuliani C, Consonni G, Gavazzi G, et al. 2002. Programmed cell death during embryogenesis in maize[J]. *Annal of Botany*, **90**(2): 287—292.
- Greenberg JT, Guo A, Klessig DF, et al. 1994. Programmed cell death in plant; A pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense function[J]. *Cell*, **77**: 551—563.
- Greenberg JT. 1996. Programmed cell death; A way of life for plants[C]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 12 094—12 097.
- Hua ZM(华志明), Chen MC(陈睦传), Shen MS(沈明山). 1998. Programmed cell death during plant growth and development(植物生长发育中程序性细胞死亡)[J]. *Advances on Bioengineering*(生物工程进展), **18**(3): 32—36.
- Huang P, Plunkett W. 1992. A quantitative assay for fragmented DNA in apoptotic cells[J]. *Anal Biochem*, **207**: 163—169.
- Jacobson MD, Weil M. 1997. Programmed cell death in animal development[J]. *Cell*, **88**: 347—354.
- James FD, Riikka P, Tom B, et al. 2003. Changes in hydrogen peroxide homeostasis trigger an active cell death process in tobacco[J]. *Plant J*, **33**(4): 621—632.
- Jiang XF(姜晓芳), Zhu HZ(朱海珍), Zhou J(周军), et al. 1998. Application of comet assay in plant protoplast apoptosis detection(彗星电泳法在植物原生质体凋亡检测中的应用)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **40**(10): 928—932.
- Jones AM. 2002. Programmed cell death during tracheary element differentiation[J]. *Phytopathology*, **92**(6 supplement).
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics[J]. *Cancer*, **26**: 239—257.
- Lee RH, Chen SH. 2002. Programmed cell death during rice leaf senescence is nonapoptotic[J]. *New Phytol*, **155**(1): 25—32.
- Li DH, Yang X, Cui X, et al. 2002. Early development of pollen chamber in *Ginkgo biloba* ovule[J]. *Acta Bot Sin*, **44**(7): 757—763.
- Lin JS(林久生), Wang GX(王根轩). 2001. Programmed cell death induced by osmotic stress in wheat leaves(渗透胁迫诱导的小麦叶片细胞程序性死亡)[J]. *Acta Phytobiologica Sinica*(植物生理学报), **27**(3): 221—225.
- Luo FJ(罗非君), Hu Z(胡智), Deng XY(邓锡云), et al. 2000. Tea polyphenols induces the activity of caspase-3 in nasopharyngeal carcinomal cells(茶多酚诱导鼻咽癌细胞 caspase-3 活化)[J]. *Cancer*(癌症), **19**(12): 1 082—1 086.
- McConkey DJ, Orrenius S. 1995. Calcium and cyclosporin in the regulation of apoptosis[A]. In: Kroemer G, Martinéz C (eds). *Apoptosis in Immunology*[C]. Berlin: Springer-Verlag, 95—105.
- Miller R, Lam E. 1995. In situ detection of nDNA fragmentation during the differentiation of tracheary elements on higher plants[J]. *Plant Physiol*, **108**: 489—493.
- Moffitt P. 1994. A methyl green-pyronin technique for demonstrating cell death in the Murine Tumour S₁₈₀[J]. *Cell Biol. Inter*, **18**(6): 677—679.

- Morgan PW, Drew MC, Jordan WR, *et al.* 1997. Ethylene signal transduction and programmed cell death during aerenchyma formation in maize roots[J]. *Plant Physiol*, **114**: 31 003.
- Orzaez D, Granell A. 1997. DNA fragmentation is regulated by ethylene during carpel senescence in *Pisum sativum*[J]. *Plant*, **11**: 137-144.
- Pan JW, Chen H, Gu Q, *et al.* 2002. Environmental stress-induced programmed cell death in higher plants[J]. *Genetics*, **24**(3): 385-383.
- Raz V, Fluhr R. 1993. Ethylene signal is transduced via proteins phosphorylation events in plant[J]. *Plant cell*, **5**(5): 523-530.
- Roberts AW, Haigler CH. 1989. Rise in chlorotetracycline fluorescence accompanies tracheary element differentiation in suspension cultures of zinnia[J]. *Protoplasma*, **152**(1): 37-45.
- Rosl F. 1992. A simple and rapid method for detection of apoptosis in human cells[J]. *Nucleic Acid Res*, **20**: 5 243-5 244.
- Sun YL(孙英丽), Zhao Y(赵允), Liu CX(刘春香), *et al.* 1999. Cytochrome c can induce programmed cell death in plant cells(细胞色素 C 能诱导植物 PCD)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, **41**(4): 379-383.
- Wacker PR, Sikorska M. 1997. New aspects of the mechanism of DNA fragmentation in apoptosis[J]. *Biol*, **75**: 287-299.
- Wang H, Li J, Bostock RM, *et al.* 1996. Apoptosis: a functional paradigm for programmed plant cell death induced by a host-selective phytotoxin and invoked during development[J]. *Plant Cell*, **8**: 375-391.
- Wang YQ(王雅清), Cui KM(崔克明). 1998. Programmed cell death during the vessel element differentiation of the secondary xylem in *Eucommia ulmoides* shoots(杜仲次生木质部导管分子分化中的程序性死亡)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, **40**(12): 1 102-1 107.
- Yeung EC, Meinke DW. 1993. Embryogenesis in angiosperms: development of the suspensor[J]. *Plant Cell*, **5**: 1 371-1 381.
- You RL(尤瑞麟). 1985. Ultrastructural studies on the degeneration processes in wheat nucellar cells(小麦珠心细胞衰退过程的超微结构观察)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, **27**(4): 345-353.
- Zhou J(周军), Zhu HZ(朱海珍), Jiang XF(姜晓芳), *et al.* 1999. Ethylene induction of apoptosis in carrot protoplasts(乙烯诱导胡萝卜原生质体凋亡)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, **41**(7): 747-750.

(上接第 145 页 Continue from page 145)

继代培养仍然很困难。因此,选择培养愈伤组织的激素配方不能仅依据愈伤组织诱导率来确定,还要对愈伤组织生长量进行统计分析。这方面的工作正在进行。

参考文献:

宁正祥,黄昌贤. 1987. 黄皮的茎段培养与试管繁殖[J]. 植

物生理学通讯, **6**: 41-48.

刘云,石成璋,张均田. 1991. 黄皮酰胺的抑制脂质过氧化和脑保护作用[J]. 药学学报, **26**(3): 166-170.

杨明河,曹延怀,李伟勋,等. 1987. 黄皮叶中黄皮酰胺的分离和结构测定[J]. 药学学报, **22**(1): 33-40.