

# 干旱胁迫诱导新疆野苹果细胞程序性死亡的 细胞形态学研究

谭冬梅<sup>1,2</sup>, 许雪锋<sup>1</sup>, 李天忠<sup>1</sup>, 王 忆<sup>1</sup>, 韩振海<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学 园艺植物研究所, 北京 100094; 2. 潍坊学院 生物工程学院, 山东 潍坊 261061)

**摘要:** 用聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG6000)处理新疆野苹果(*Malus sieversii* (Ledeb) Roem.) 幼苗。通过对其叶片及根系中各细胞器的超微结构分析发现, 干旱胁迫能诱导新疆野苹果发生细胞程序性死亡, 并具有以下特点: 随着干旱处理时间的延长, 根系中各细胞器形态结构发生变化的时间普遍早于叶片; 同是叶片, 海绵组织中各细胞器形态结构发生变化的时间早于栅栏组织; 同是根系, 皮层细胞中各细胞器形态结构变化的时间普遍早于中柱细胞。

**关键词:** 干旱胁迫; 新疆野苹果; 细胞程序性死亡; 细胞形态学; 诱导

中图分类号: S661. 01 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2007)01- 0050- 06

## Cytomorphological Studies of Programmed Cell Death in *Malus sieversii* Induced by Drought Stress

TAN Dong-mei<sup>1,2</sup>, XU Xue-feng<sup>1</sup>, LI Tian-zhong<sup>1</sup>, WANG Yi<sup>1</sup>, HAN Zhen-hai<sup>1</sup>

(1. Institute of Horticultural Plants, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Department of Agriculture and Engineering, Weifang University, Weifang 261061, China)

**Abstract:** Seedlings of *Malus sieversii* treated with polyethylene glycol (PEG6000) were used to study the characteristics of *Malus* species under drought stress. Programmed cell death occurred in *sieversii* under drought stress, which can be observed through cellular ultrastructure of leaves and roots and had the following features: under drought stress, the changes of organelle morphosis in roots were earlier than those in leaves. In leaves the changes of organelle morphosis in spongy mesophylls were earlier than those in palisade parenchymas. In roots the changes of organelle morphosis in cortical cells were earlier than those in pericycle cells. Results showed that an alternative method to identify programmed cell death in *Malus* plants was to observe the cellular ultrastructure.

**Key words:** Drought stress; *Malus sieversii*; Programmed cell death; Cytomorphological; Induce

细胞程序性死亡(Programmed cell death)或细胞凋亡(Apoptosis)是多细胞甚至单细胞生物体在内外因子的诱导下,由基因控制的一种细胞主动死亡途径,是生物体调节正常发育和抗病、抗逆等不良环境不可缺少的一种生命活动,是细胞生命活动的基本特征之一<sup>[1]</sup>。细胞程序性死亡是一种主动过程,涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用;是非病理条件下为更好地适应生存环境主动采取的一种死亡方式;以细胞的固缩、染色质浓集、凋亡小体的形成及细胞核DNA特征性降解为细胞程序性死亡的主要形态及生化特征<sup>[2]</sup>。

光镜与电镜一直是观察组织及细胞形态最重要的手段,观察细胞程序性死亡亦不例外。尤其是超微结构的观察可显示凋亡细胞的许多特征,为确定细胞程序性死亡发生的最可靠的方法之一,且在动物体中通过该法已观察到细胞程序性死亡发生时的细胞形态学变化特征<sup>[3,4]</sup>。而在植物体中,由于外界环境变化或其他原因诱发细胞程序性死亡时,它们的细胞形态(无论是光镜还是电镜观察下)呈现怎样的变化规律,以及与细胞被动死亡的差异还不清楚。本试验采用多年生木本苹果属植物—新疆野苹果作为试材,拟研究干旱胁迫是否能诱导其发生细

收稿日期:2006- 09- 06

基金项目:北京市重点实验室资助项目

作者简介:谭冬梅(1972-),女,江苏常熟人,博士,主要从事果树逆境生理与分子生物学研究

通讯作者:韩振海(1963-),男,陕西人,博士生导师,主要从事逆境生理与分子生物学研究。

胞程序性死亡, 以便为研究植物细胞程序性死亡的生理学机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

选取均匀一致的新疆野苹果种子, 去除种壳及其他杂质, 蒸馏水浸泡 12 h, 沙布包好放在培养皿中, 置于 4℃冰箱中层积。层积过程中每隔 2 d 用清水冲洗 3 遍, 尽量甩干水分以免发霉。选发芽一致的种子播入蛭石中, 室温下培养。待幼苗长至 4 片真叶时, 移入 1/2 剂量的 Hoagland 营养液<sup>[5]</sup>培养 7 d 后, 改用全剂量的 Hoagland 营养液进行营养液培养。营养液用 KOH 调至 pH 6.0, 每 7 d 更换一次营养液, 每天定时通气, 人工恒定日光灯光源, 14 h 光照, 光照强度 400 μmol/(m<sup>2</sup>·s), 温度为白天 25~ 28℃, 夜间 22~ 25℃。

1.2 处理

将 6 月龄幼苗分别移入含有 20% 聚乙二醇

(Polyethylene glycol, PEG6000) 的营养液中进行水分胁迫处理, 对照为正常营养液水培。从胁迫处理开始, 每隔 4 h 取样一次, 选取幼苗顶端第 4 片生长一致的叶片以及新生白色根尖作为试材。

1.3 方法

取新生白色根尖, 用锋利的双面刀片切成 2~ 3 mm; 切取叶片主叶脉四周的叶肉组织, 修成 2~ 3 mm 长, 2~ 3 mm 宽的小叶块, 进行常规电镜观察包埋。采用瑞典 LKB II 型超薄切片机切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色, 透射电镜观察并拍照<sup>[6]</sup>。

2 结果与分析

2.1 叶片电镜切片观察

无论是栅栏组织还是海绵组织, 正常组织中各细胞器的超微结构都是正常形态(图 1-A, 图 1-D; 图 2-A, 图 2-D; 图 3-A, 图 3-D)。用 20% PEG 6000 处理不同时间后, 各细胞器开始发生不同程度的形态变化如表 1 所示。

表 1 20% PEG 6000 处理不同时间新疆野苹果叶片各细胞器超微结构变化

Tab. 1 The ultrastructural changes of organelles in leaves of *M. sieversii* treated with 20% PEG 6000

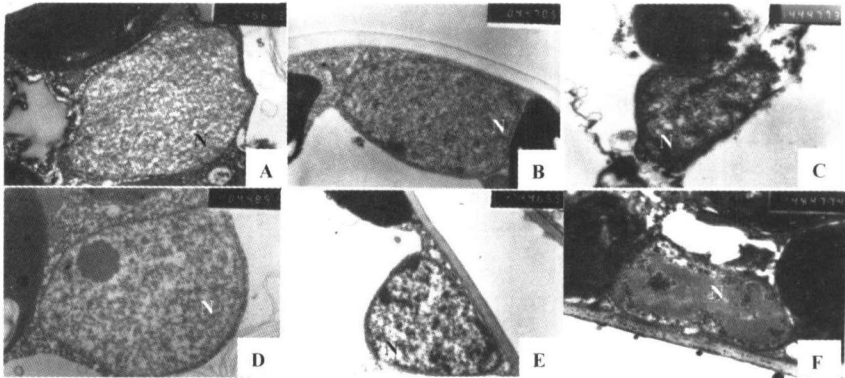
组织类别 Tissue type	细胞核 Nucleus	线粒体 Mitochondrion	叶绿体 Chloroplast
海绵组织 Spongy mesophylls	12 h, 染色质凝聚、边缘化 32 h, 细胞核变形	8 h, 外膜开始出现断裂 20 h, 外膜消失	4 h, 部分基粒类囊体结构模糊 24 h, 结构松散, 外膜消失
栅栏组织 Palisade parenchymas	8 h, 染色质凝聚、边缘化 32 h, 几乎解体	8 h, 外膜开始出现断裂 28 h, 外膜消失	12 h, 部分基粒类囊体结构模糊 32 h, 结构松散, 外膜消失

通过叶片电镜观察可以看出, 随着干旱处理时间的延长, 海绵组织中各细胞器形态结构发生变化的时间均早于栅栏组织, 且变化程度也大于栅栏组织。具体观察结果如下:

2.1.1 叶片细胞核变化 海绵组织在处理 12 h 时

细胞核染色质凝聚并边缘化(图 1-B); 32 h 时核基质浓缩, 细胞核变形(图 1-C)。栅栏组织在 8 h 时细胞核染色质开始凝聚并边缘化(图 1-E); 32 h 时细胞核几乎解体(图 1-F)。

2.1.2 叶片线粒体变化 海绵组织的线粒体在处



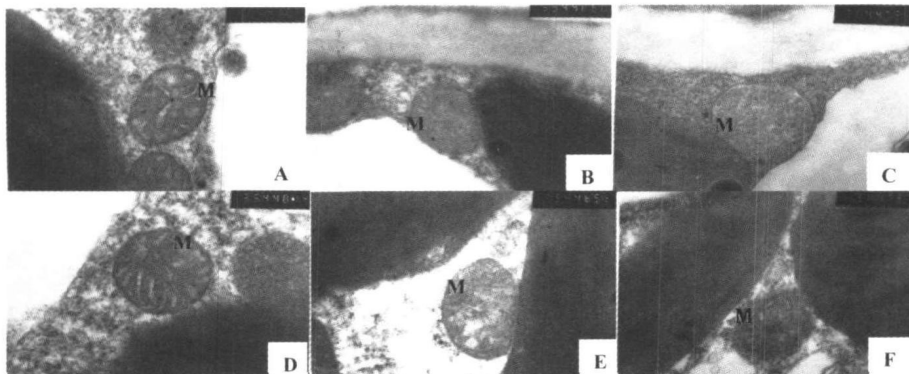
A. 正常, 海绵组织(10 000×); B. 处理 12 h, 海绵组织(10 000×); C. 处理 32 h, 海绵组织(14 000×); D. 正常, 栅栏组织(10 000×); E. 处理 8 h, 栅栏组织(10 000×); F. 处理 32 h, 栅栏组织(14 000×); N. 细胞核  
A. Normal, spongy mesophylls(10 000×); B. 12 h after treated, spongy mesophylls(10 000×); C. 32 h after treated, spongy mesophylls(14 000×); D. Normal, palisade parenchyma(10 000×); E. 8 h after treated, palisade parenchyma(10 000×); F. 28 h after treated, palisade parenchyma(14 000×); N. Nucleus

图 1 新疆野苹果叶片细胞核的超微结构

Fig. 1 Ultrastructure on Organdle of nucleus in leaves of *M. sieversii*

理到 8 h 时外膜开始出现不规则的断裂(图 2-B); 20 h 时外膜几乎完全消失(图 2-C)。栅栏组织在处理 8

h 时外膜开始出现点断裂(图 2-E); 28 h 时外膜几乎全部消失(图 2-F)。



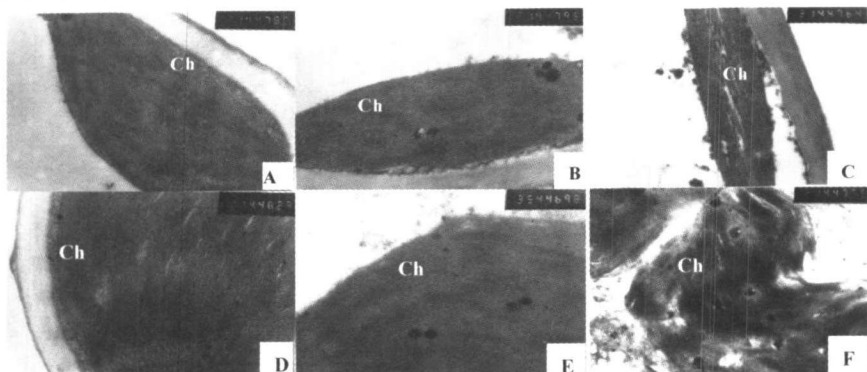
A. 正常, 海绵组织(35 000 $\times$ ); B. 处理 8 h, 海绵组织(35 000 $\times$ ); C. 处理 20 h, 海绵组织(35 000 $\times$ ); D. 正常, 栅栏组织(35 000 $\times$ ); E. 处理 8 h, 栅栏组织(35 000 $\times$ ); F. 处理 28 h, 栅栏组织(35 000 $\times$ ); M. 线粒体  
A. Normal, spongy mesophylls(35 000 $\times$ ); B. 8 h after treated, spongy mesophylls(35 000 $\times$ ); C. 20 h after treated, spongy mesophylls(35 000 $\times$ ); D. Normal, palisade parenchyma(35 000 $\times$ ); E. 8 h after treated, palisade parenchyma(35 000 $\times$ ); F. 28 h after treated, palisade parenchyma(35 000 $\times$ ); M. Mitochondrion

图 2 新疆野苹果叶片线粒体的超微结构

Fig 2 Ultrastructure on Organelle of mitochondrion in leaves of *M. sieversii*

2.1.3 叶片叶绿体变化 在对叶绿体的观察中发现, 新疆野苹果海绵组织叶绿体在处理 4 h 时部分基粒类囊体开始变得模糊不清(图 3-B); 24 h 时类

囊体结构松散, 外膜消失(图 3-C)。栅栏组织中, 在处理 12 h 时部分类囊体开始变得模糊不清(图 3-E); 32 h 时类囊体结构松散, 外膜消失(图 3-F)。



A. 正常, 海绵组织(21 000 $\times$ ); B. 处理 4 h, 海绵组织(21 000 $\times$ ); C. 处理 24 h, 海绵组织(21 000 $\times$ ); D. 正常, 栅栏组织(21 000 $\times$ ); E. 处理 12h, 栅栏组织(21 000 $\times$ ); F. 处理 32 h, 栅栏组织(21 000 $\times$ ); Ch. 叶绿体  
A. Normal, spongy mesophyll(21 000 $\times$ ); B. 4 h after treated, spongy mesophyll(21 000 $\times$ ); C. 24 h after treated, spongy mesophyll(21 000 $\times$ ); D. Normal, palisade parenchyma(21 000 $\times$ ); E. 12 h after treated, palisade parenchyma(21 000 $\times$ ); F. 32 h after treated, palisade parenchyma(21 000 $\times$ ); Ch. Chloroplast

图 3 新疆野苹果叶片叶绿体的超微结构

Fig 3 Ultrastructure on Organelle of chloroplast in leaves of *M. sieversii*

细胞核染色质凝聚并边缘化是细胞程序性死亡的典型形态特征, 因此不难推出, 干旱胁迫可以诱导新疆野苹果的叶片发生程序性死亡。在细胞程序性死亡过程中, 叶片中线粒体和叶绿体均有不同的变化规律。其中线粒体的变化主要是外膜的完整性破坏, 而叶绿体的变化主要发生在基粒类囊体的结构上, 程序性死亡可以导致其结构趋于松散。同时, 栅栏组织各细胞器的变化均晚于海绵组织。

## 2.2 根系电镜切片观察

无论是皮层细胞还是中柱细胞, 正常细胞中各细胞器的超微结构都是正常形态(图 4-A, 图 4-E; 图

5-A, 图 5-E; 图 6-A, 图 6-D)。用 20% PEG6000 处理不同时间后, 各细胞器开始发生不同程度的形态变化如表 2 所示。

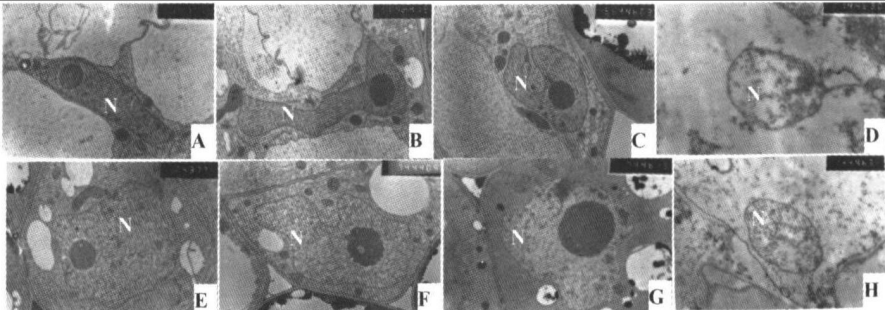
通过对根系的电镜观察可以看出, 随着干旱处理时间的延长, 皮层细胞中各细胞器形态结构变化的时间均早于中柱细胞, 且变化程度也明显大于中柱细胞。具体观察结果如下:

2.2.1 根系细胞核变化 皮层细胞的细胞核在处理 4 h 时变形(图 4-B), 20 h 时染色质凝聚并边缘化(图-C), 32 h 时外膜存在, 但内部结构已经开始降解, 没有典型的细胞核结构, 只能称为类核物质(图

4 D), 之后就观察不到细胞核的形态, 可能已经降解为小碎片。中柱细胞的细胞核在 8 h 时变形(图 4 F), 28 h 时染色质凝聚并边缘化(图 4 G), 32 h 时内部结构开始降解, 称为类核物质(图 4 H), 之后就观察不到细胞核的形态, 可能已经降解为小碎片。

表 2 20% PEG6000 处理不同时间新疆野苹果根系各细胞器超微结构变化  
Tab 2 The ultrastructural changes of organelles in roots of *M. sieversii* treated with 20% PEG6000

组织类别 Tissue type	细胞核 Nucleus	线粒体 Mitochondrion	叶绿体 Chloroplast
皮层细胞 Cortical cells	4 h, 变形 20 h, 染色质凝聚、边缘化 32 h, 内部结构消失	4 h, 部分外膜消失 12 h, 外膜消失, 内腔出现空洞 32 h, 解体	8 h, 小泡增多 24 h, 加剧 之后消失
中柱细胞 Pericycle cells	8 h, 变形 28 h, 染色质凝聚、边缘化 32 h, 内部结构消失	12 h, 部分外膜消失 24 h, 内腔出现空洞 32 h, 解体	8 h, 小泡增多 24 h, 加剧 之后消失

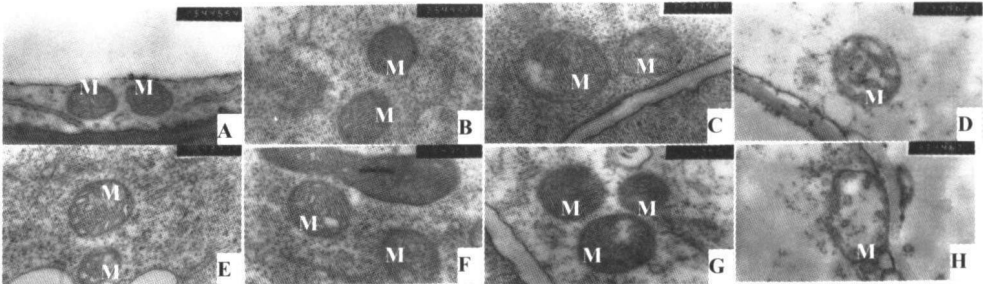


A. 正常, 皮层细胞(5 600×); B. 处理 4 h, 皮层细胞(5 600×); C. 处理 20 h, 皮层细胞(5 600×); D. 处理 32 h, 皮层细胞(21 000×); E. 正常, 中柱细胞(7 400×); F. 处理 8 h, 中柱细胞(7 000×); G. 处理 28 h, 中柱细胞(7 000×); H. 处理 32 h, 中柱细胞(14 000×); N. 细胞核  
A. Normal, cortical cell(5 600×); B. 4 h after treated, cortical cell(5 600×); C. 24 h after treated, cortical cell(5 600×);  
D. 32 h after treated, cortical cell(21 000×); E. Normal, pericycle cell (7 400×); F. 8 h after treated, pericycle cell(7 000×);  
G. 28 h after treated, pericycle cell (7 000×); H. 32 h after treated, pericycle cell(14 000×); N. Nucleus

图 4 新疆野苹果根系细胞核的超微结构

Fig 4 Ultrastructure on Organelle of nucleus in roots of *M. sieversii*

2.2.2 根系线粒体变化 皮层细胞中线粒体在 4 h 时外膜部分消失(图 5-B), 12 h 时外膜大部分消失, 并且部分线粒体内腔出现空洞(图 5-C), 32 h 时外膜消失, 内膜也大部分消失, 线粒体解体(图 5-D)。中柱细胞线粒体在处理 12 h 时部分外膜消失(图 5-F), 24 h 时内腔出现空洞(图 5-G), 32 h 时线粒体解体(图 5-H)。

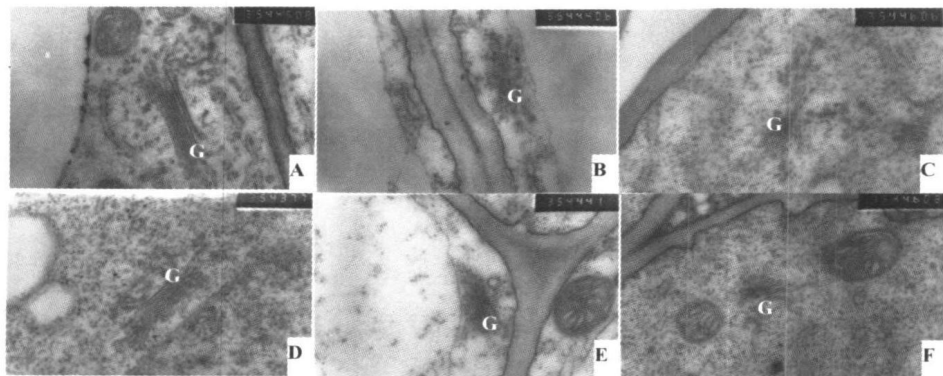


A. 正常, 皮层细胞(35 000×); B. 处理 4 h, 皮层细胞(35 000×); C. 处理 12 h, 皮层细胞(35 000×); D. 处理 32 h, 皮层细胞(35 000×); E. 正常, 中柱细胞(35 000×); F. 处理 12 h, 中柱细胞(35 000×); G. 处理 24 h, 中柱细胞(35 000×); H. 处理 32 h, 中柱细胞(35 000×); M. 线粒体  
A. Normal, cortical cell(35 000×); B. 4 h after treated, cortical cell(35 000×); C. 12 h after treated, cortical cell(35 000×);  
D. 32 h after treated, cortical cell(35 000×); E. Normal, pericycle cell(35 000×); F. 12 h after treated, pericycle cell(35 000×);  
G. 24 h after treated, pericycle cell (35 000×); H. 32 h after treated, pericycle cell(35 000×); M. Mitochondrion

图 5 新疆野苹果根系线粒体的超微结构

Fig 5 Ultrastructure on Organelle of mitochondrion in roots of *M. sieversii*

2.2.3 根系高尔基体变化 皮层细胞中高尔基体在处理 8 h 时由扁平囊出芽形成小泡增多(图 6 B), 24 h 时小泡增多现象加剧(图 6 C), 之后便观察不到高尔基体, 可能已经降解, 无法观察到其结构。中柱细胞中, 高尔基体在处理 8 h 时小泡增多(图 6 E), 24 h 时小泡增多现象加剧, 之后便观察不到高尔基体(图 6 F), 可能在处理 24 h 后高尔基体已经解体, 无法观察到其结构。



A. 正常, 皮层细胞(35 000 $\times$ ); B. 处理 8 h, 皮层细胞(35 000 $\times$ ); C. 处理 24 h, 皮层细胞(35 000 $\times$ ); D. 正常, 中柱细胞(35 000 $\times$ );

E. 处理 8 h, 中柱细胞(35 000 $\times$ ); F. 处理 24 h, 中柱细胞(35 000 $\times$ ); G. 高尔基体

A. Normal, cortical cell(35 000 $\times$ ); B. 8 h after treated, cortical cell(35 000 $\times$ ); C. 24 h after treated, cortical cell(35 000 $\times$ ); D. Normal, pericycle cell(35 000 $\times$ ); E. 8 h after treated, pericycle cell(35 000 $\times$ ); F. 24 h after treated, pericycle cell(35 000 $\times$ ); G. Golgi body

图 6 新疆野苹果根系高尔基体的超微结构

Fig 6 Ultrastructure on Organelle of Golgi body in roots of *M. sieversii*

由细胞核染色质的形态变化可以判断, 干旱胁迫可以诱导新疆野苹果的根系发生程序性死亡。而且在细胞程序性死亡过程中, 根系中线粒体和高尔基体的变化也呈一定的规律性。线粒体的变化主要是外膜的完整性破坏和内腔的空洞化, 而高尔基体的变化则主要是小泡的增多。同时, 中柱细胞各细胞器的变化均晚于皮层细胞。

从新疆野苹果叶片和根系中各细胞器的超微结构观察可以看出, 随干旱处理时间的延长, 根系各细胞器形态结构发生变化的时间普遍早于叶片, 并且各细胞器的降解程度也明显大于叶片。

综合分析认为: 在受到干旱胁迫时, 根系抗干旱的能力大于叶片。叶片中海绵组织在干旱胁迫下首先发生反应, 而根系中皮层细胞先产生反应。这种在同一器官中不同组织间的反应差别可能是植物组织细胞应对外界不利环境的一种防御反应。

### 3 讨论

在本研究中发现, 无论是叶片还是根系的细胞核随处理时间的延长都会出现细胞核内染色质的凝聚及边缘化, 并且根系中的细胞核会出现明显的变形现象。在根系及叶片处理的后期, 细胞核内物质降解而核被膜依然存在, 整个细胞核只能称之为“类核物质”, 但是始终没有凋亡小体的产生。这表明, 在植物细胞程序性死亡的过程中, 细胞核中的染色质在处理后期直接开始降解, 并不像动物细胞一样由膜包裹形成凋亡小体。这种现象的产生与植物细胞壁的存在有着直接的关系, 可能正是由于细胞壁的存在才没有使细胞核降解为“凋亡小体”, 而是形成了“类核物质”。这个结果与前人的研究成果相似<sup>[7,8]</sup>。

细胞程序性死亡是一个主动的、需要消耗能量的细胞死亡方式, 在其进行期间仍然有很活跃的代谢行为。在动物细胞的程序性死亡过程中, 线粒体通常是最后解体的细胞器, 它可能是在这一时期起了为代谢提供充足能量的作用。在植物中, 参与能量转化和代谢的主要细胞器除了线粒体外还包括叶绿体。我们在试验中发现, 尽管线粒体的外膜有破损现象, 但是新疆野苹果的组织细胞仍然保持很大的活力(叶片仍然健康生长); 在整个细胞程序性死亡过程中, 叶绿体超微结构的变化要晚于线粒体; 这些现象的发生可能都和叶绿体的代谢功能有关。

在本研究中, 无论是叶片还是根系的线粒体随干旱时间的延长, 其整体形态变化不大, 只是外膜发生了不同程度的降解, 偶尔有线粒体内腔的空洞化, 这些变化都是细胞程序性死亡的典型特征。外膜的降解可能会使线粒体内的细胞色素 C 释放出来, 促使植物细胞发生程序性死亡。其中的若干酶类从内膜中溢出可能也会导致和促进细胞程序性死亡的发生。已有报道表明在烟草发生细胞程序性死亡时其体内有细胞色素 C 的释放<sup>[9]</sup>, 在果树植物中是否也有细胞色素 C 的释放? 这个问题还有待于进一步研究。

在细胞程序性死亡研究中, 还未见有关叶绿体形态结构变化方面的报道。本研究中, 叶绿体整体形态随干旱时间的延长变化不大, 但是其基粒片层随处理时间的增加逐渐模糊不清, 内膜系统出现不同程度的降解。由于内膜具有较强的选择透性, 内膜降解意味着其中的蛋白及酶类会溢出到细胞质中, 影响 CO<sub>2</sub> 的固定以及光能的转化利用, 从而引起细胞程序性死亡的发生。在这个过程中有几种蛋白参与或引发植物的细胞程序性死亡? 它们是什么

蛋白? 这些蛋白是如何启动细胞程序性死亡的? 要回答这些问题还需要进行更深入的研究工作。

在动物细胞程序性死亡的研究中, 还没有学者尝试对高尔基体的形态研究, 植物中更是如此。通过本实验室的研究发现, 根系中的高尔基体随处理时间的延长出现不同程度的解体现象。在胁迫处理前期, 高尔基体的扁平囊膨胀, 并分解为许多小囊泡。到后期, 几乎全部转变成为小囊泡。这种变化会影响细胞内蛋白的合成、加工与分泌, 未合成蛋白质的前体物质可能会产生积累, 而这样的积累可能是引起细胞发生程序性死亡的原因。是什么物质的积累才能引起细胞程序性死亡的发生? 这也是今后要解决的问题。

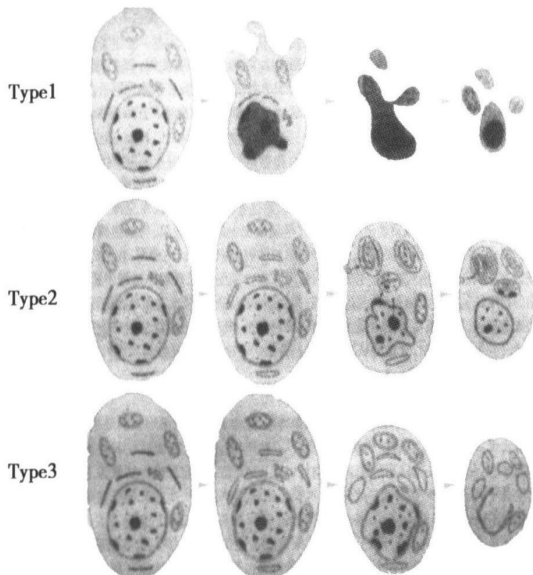


图7 计算机模拟的细胞程序性死亡的3种类型

Fig 7 Three styles on programmed cell death made in computer

此外, 在我们的研究中还发现, 随着干旱处理时间的延长, 最初有一个阶段细胞形态学的变化是属于细胞程序性死亡(各细胞器发生降解前), 可是超过一定时间后, 细胞程序性死亡就转变为细胞坏死(如细胞器的降解)。这个变化的临界时间称之为“死亡时间域”, 在域值范围内细胞是主动的、受基因调控的程序性死亡; 超过这个域值, 细胞就会变为被

动的、坏死的状态。细胞程序性死亡与细胞坏死是两种截然不同的细胞死亡方式, 但两者之间又不是完全对立的, 它们之间存在着一定的剂量关系。

有些研究中<sup>[10]</sup>, 将细胞程序性死亡的细胞形态学变化划分为3种不同的类型(图7)。本研究中, 新疆野苹果在干旱胁迫条件下各细胞器的形态结构变化与图7中第3种类型基本类似。

综合以上分析认为, 干旱胁迫可以诱导新疆野苹果发生细胞程序性死亡。

#### 参考文献:

- [1] Vaux D L, Sasser A. The molecular biology of apoptosis[ J ]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 2239- 2244.
- [2] Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide[ J ]. Science, 1995, 267: 1445- 1449.
- [3] Greenberg J T, Guo A, Klessig D F, *et al.* Programmed cell death in plants: a pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense reactions[ J ]. Cell, 1994, 77: 551- 563.
- [4] Greenberg J T. Programmed cell death: a way of life for plants[ J ]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 12094- 12097.
- [5] Hoagland D R, Arnon D I. The water culture method for growing plants without soil [ J ]. California Agricultural Experiment Station Bulletin, 1938, 347: 36- 39.
- [6] 余炳生, 张 仪. 生物学显微技术[ M ]. 北京: 北京农业大学出版社, 1989.
- [7] Ellis R E, Yuan J, Palade G E, *et al.* Mechanisms and functions of cell death[ J ]. Annu Rev Cell Biol, 1991, 7: 663- 398.
- [8] Green D R. Apoptosis pathways: the roads to ruin[ J ]. Cell, 1998, 94: 695- 698.
- [9] Stefania Pasqualini, Claudia Piccioni, Lara Reale, *et al.* Ozone-induced cell death in tobacco cultivar Bel W3 plants. The role of programmed cell death in lesion formation[ J ]. Plant Physiology, 2003, 133: 1122- 1134.
- [10] 胡 野, 凌志强, 单小云. 细胞凋亡的分子医学[ M ]. 北京: 军事医学科学出版社, 2002.