

植物线粒体、活性氧与信号转导^{*}

罗银玲, 宋松泉^{*}

(中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303)

摘要: 活性氧(ROS)的产生是需氧代谢不可避免的结果。在植物细胞中, 线粒体电子传递链(ETC)的复合物 和 是 ROS 产生的主要的部位。交替氧化酶和可能的内源鱼藤酮不敏感的 NADH 脱氢酶通过保持 ETC 的相对氧化状态限制线粒体产生 ROS。线粒体基质中的抗氧化酶系统与小分子量的抗氧化剂一道起 ROS 的解毒作用。ROS 除了引起细胞的伤害外, 在植物中还能够作为一种普遍存在的信号分子起作用。在低浓度时, ROS 能诱导防御基因的表达和引起适应反应; 在高浓度时, 引起细胞死亡。一氧化氮是植物合成和释放的一种气体, 也可作为信号分子调节植物的生长和发育。

关键词: 线粒体; 活性氧; 解毒作用; 信号转导; 一氧化氮

中图分类号: Q945.18 **文献标识码:** A

Plant mitochondria, reactive oxygen species and signaling transduction

LUO Yin-ling, SONG Song-quan^{*}

(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China)

Abstract: The production of reactive oxygen species (ROS) is an unavoidable consequence of aerobic metabolism. In plant cells, complexes and of mitochondrial electron transport chain (ETC) are major sites of ROS production. The alternative oxidase and possibly internal rotenone-insensitive NADH dehydrogenase limit mitochondrial ROS production by keeping the ETC relatively oxidized. Antioxidative enzyme system in mitochondrial matrix, together with small antioxidants, functions detoxification of ROS. Besides causing cellular damage, ROS can act as ubiquitous signal molecules in plants. At low concentrations ROS induce expression of defence genes and adaptive response, at high concentrations cell death is initiated. Nitric oxide is a gaseous molecule that synthesized and released by plants, it control growth and development of plants as a signal molecule.

Key words: mitochondria; reactive oxygen species; detoxification; signal transduction; Nitric oxide

在正常情况下, 植物细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和清除是平衡的; 但是, 当植物体遭遇外来胁迫(包括生物和非生物胁迫, 如极端温度、水分胁迫、病原菌入侵等)时, ROS 的产生和代谢将失去平衡, 产生氧胁迫^[1]。在发生氧胁迫时, 会产生过量的 ROS, 如超氧阴离子自由基(O_2^-), 过氧化氢(H_2O_2), 羟自由基($HO\cdot$), 一氧化

氮($NO\cdot$)等。ROS 能与细胞内各种生物大分子起反应, 导致 DNA、蛋白质的伤害和脂质的过氧化^[2]。

对于需氧生物来说, ROS 是代谢过程中不可避免的产物。植物细胞中产生 ROS 的部位有叶绿体、线粒体和过氧化物体等^[3], 其中线粒体是产生 ROS 的主要部位。ROS 即可以通过电子传递过程产生, 如线粒体和叶绿体的电子传递; 也可以通过代谢产

^{*} 收稿日期: 2003-06-06; 修改稿收到日期: 2003-09-28
基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KSCX2-SW-117); 中国科学院“百人计划”资助项目
作者简介: 罗银玲(1978-), 女(汉族), 硕士研究生。
^{*} 通讯联系人。Correspondence to: SONG Song-quan.
© 2004 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

生,如脂肪酸的 β 氧化^[4].

研究表明,在植物细胞内 ROS 不仅与逆境胁迫^[5]、叶片^[6]和种子衰老^[7],以及种子的脱水敏感性^[8,9]有关,而且可以作为信号分子引起植物和细胞内的分子、生化和生理反应^[1,10,11]. 目前,人们普遍认为,ROS 与植物细胞的程序性死亡(programmed cell death, PCD)有关;在植物的 PCD 过程中 ROS 可能起两方面的作用,一是作为信号分子启动引起细胞死亡的反应^[12],二是在植物细胞的死亡过程中起直接的作用^[13].

1 线粒体是 ROS 产生的主要的细胞器

线粒体的主要功能是为细胞提供能量,以及为其他大分子的生物合成提供碳骨架. 植物组织中消耗的氧,约有 1% 用于 ROS 的产生^[14]. 在正常情况下,哺乳动物细胞内, O_2^- 和 H_2O_2 的浓度分别为 $10^{-12} \sim 10^{-11}$ mol/L 和 $10^{-9} \sim 10^{-7}$ mol/L,处于很低的水平. 关于植物细胞内 ROS 浓度的报道很少,

Puntarulo 等^[14]的研究表明,在正常条件下,大豆(*Glycine max*)胚轴中 H_2O_2 的浓度为 5 μ mol/L;而当用氨基三唑(aminotriazole)抑制过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性时, H_2O_2 的浓度可达到 50 μ mol/L,比哺乳动物的水平高得多;但这种现象是否普遍,还有待进一步证实.

植物线粒体的电子传递链(electron transport chain, ETC)包括四种复合物(complex, C),即 NADH 脱氢酶(NADH dehydrogenase, CI),琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, C_{II}),辅酶 Q-细胞色素 bc₁ 还原酶(ubiquinol-cytochrome bc₁, C_{III}),细胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase, C_{IV}),它们具有与动物线粒体相似电子传递特性(图 1). 但是,植物的 ETC 还包括五种在哺乳动物线粒体中不存在的酶:1 种交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)和 4 种 NAD(P)H 脱氢酶(图 1),这 4 种脱氢酶具有与黄素蛋白(flavoproteins)非常相似的特性,因此也是 ROS 产生的潜在位点.

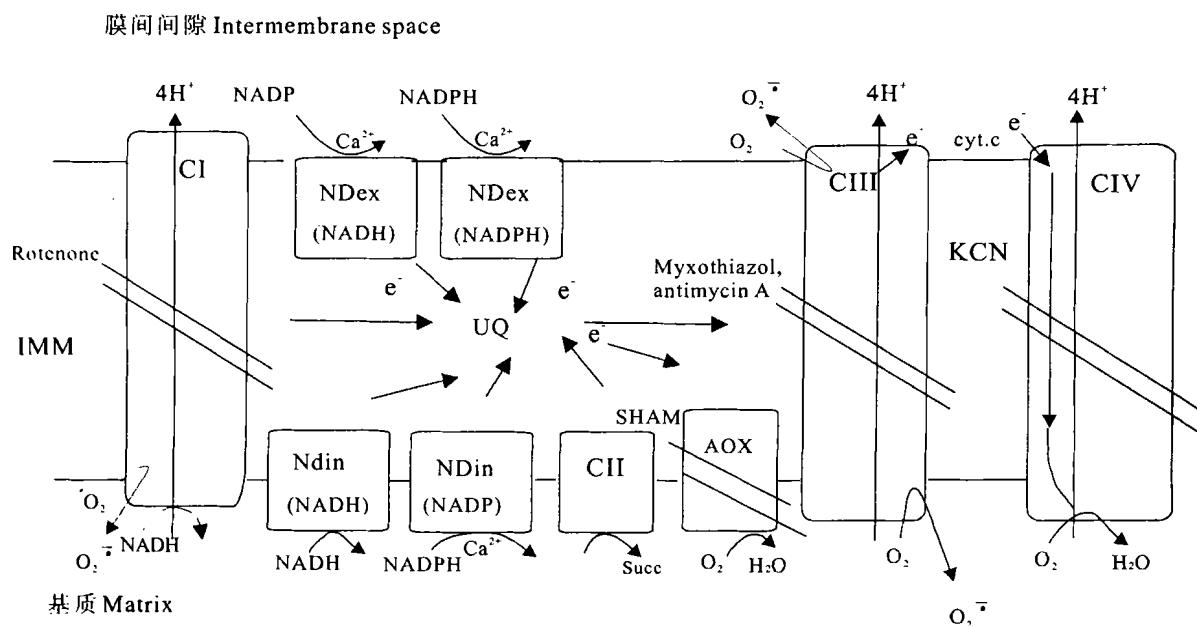


图 1 植物线粒体内膜上的电子传递链

图中标明了植物线粒体的专一酶,复合物 I、II、III 和 IV 的 H^+ -泵,复合物 I、II 和 III 的抑制剂,以及在两个主要位点复合物 I 和 III 的 ROS 产生. 由于半醌与复合物 I 的两个位点结合,其中一个靠近线粒体内膜的内表面,另一个靠近外表面,ROS 可能在内膜的两面形成. CI. 复合物 I. NADH 脱氢酶; C_{II}. 复合物 II. 琥珀酸脱氢酶; C_{III}. 复合物 III. 辅酶 Q-细胞色素 bc₁ 还原酶; C_{IV}. 复合物 IV. 细胞色素 c 氧化酶; cyt. 细胞色素; succ. 琥珀酸; SHAM. 水杨酰肼酸^[15]

Fig. 1 The electron transport chain in the inner membrane of plant mitochondria

a. Also indicated are plant-specific enzymes, H^+ -pumping of complexes I, II, and III (per $2e^-$), inhibitors of complexes I, II, and III, as well as ROS production at the two main sites, complexes I and III. Since UQ $\cdot$ is bound to two sites in complex I, one close to the inner surface of the inner mitochondria membrane (IMM), the other close to the out surface, ROS might be found on either side of the membranes.

CI. Complex I; NADH. Dehydrogenase; C_{II}. Succinate dehydrogenase; C_{III}. Ubiquinol-cytochrome bc₁ reductase; C_{IV}. Cytochrome c oxidase; cyt. Cytochrome; succ. Succinate; SHAM. Salicylhydroxamic acid^[15]

在线粒体的电子传递过程中,电子沿着一系列氧化还原反应,最终传递给末端氧化酶,然后再传递给氧,最

后质子与离子型氧结合生成水. 但是, 位于呼吸链底物端的一些物质(如黄素蛋白, 非血红素铁蛋白(non-heme iron proteins), 醌(quinols), 尤其是半醌(semiquinols)等)发生氧化还原的能障(energy barrier)是很低的, 常常直接启动 O_2 的单电子还原(one-electron reduction), 产生 $O_2^{\cdot-}$. 在电子传递给末端氧化酶之前漏出呼吸链与氧反应生成超氧自由基的过程是线粒体产生 ROS 的主要来源. 线粒体 ETC 的 4 种复合物中, C_1 和 C_2 是产生 ROS 部位^[15]. C_1 是质子泵 NADH 脱氢酶(proton-pumping NADH dehydrogenase), 在哺乳动物的线粒体中包含 43 个不同的亚单位, 其中有 1 个黄素单核苷酸(FMN)和 6 个 Fe-S 中心^[15]. 植物线粒体的 C_1 与哺乳动物没有本质上的区别^[16]. C_1 的活性可以被鱼藤酮(rotenone)和二苯基碘(diphenyleneiodonium, DPI)抑制^[17, 18]; 被 DPI 抑制的原因可能是酶的 NADH 活性位点被共价修饰^[19]. C_2 的活性可以被 KCN 完全抑制, KCN 能阻断 Q 循环(Q cycle), 抑制泛半醌(ubisemiquinone)的生成. 所以, KCN 的添加, 可以用来区别 C_1 和 C_2 对 ROS 生成的不同贡献. 值得注意的是, C_1 产生 ROS 受 KCN 的抑制, 但不影响超氧化物歧化酶(SOD)的活性(KCN 抑制过氧化物酶(POD)的活性).

除了上述 4 种复合物外, 在植物线粒体的内膜上还存在 4 种 NAD(P)H 脱氢酶, 外部鱼藤酮不敏

感的 NADH 脱氢酶(external rotenone-insensitive NADH dehydrogenase, NDex(NADH)), 外部鱼藤酮不敏感的 NADPH 脱氢酶(external rotenone-insensitive NADPH dehydrogenase, NDex(NADPH)), 内部鱼藤酮不敏感的 NADH 脱氢酶(internal rotenone-insensitive NADH dehydrogenase, NDin(NADH)), 内部鱼藤酮不敏感的 NADPH 脱氢酶(internal rotenone-insensitive NADPH dehydrogenase, NDin(NADPH))^[15]; 其中, NDin(NADH) 和 NDin(NADPH) 位于线粒体内膜的内侧, NDex(NADH) 和 NDex(NADPH) 位于线粒体内膜的外侧. 它们分别氧化线粒体内膜两侧的 NAD(P)H, 产生 e^- 进入 ETC(图 1). 在这 4 种酶中, 只有 NDin(NADH) 的活性是不依赖 Ca^{2+} 的, 其它 3 种酶都需要 Ca^{2+} 活化. 因为具有依赖 Ca^{2+} 的特性, 所以, 只有在胁迫的条件下才可能被激活^[15]. 关于这 4 种酶的定位、理化特性、抑制剂及影响因素, 在 Miller^[15] 的综述中已有较详尽的阐述; 但是, 这些酶活性的调节因子仍需要进一步的研究.

2 植物线粒体的氧化胁迫防御策略

低浓度的 ROS 能提高植物细胞的抗氧化防御机制, 从而清除活性氧, 使细胞不受伤害. 但 ROS 可以与蛋白质、脂类和 DNA 作用, 引起酶活性降低, 膜透性和突变增大^[2]. 在植物线粒体中, 存在几种减少 ROS 产生的可能机制(表 1).

表 1 植物线粒体对氧化胁迫的防御策略^[15]

Table 1 Strategies for the defence against oxidative stress in plant mitochondria^[15]

第一道防线 First line of defense	避免 ROS 的产生 Avoidance of ROS production 通过 By (a) 维持可利用底物和 ATP 需求的平衡 Maintaining a balance between substrate availability and ATP requirement (b) AOX 的活化 Activation of AOX (c) 解偶联蛋白的活化 Activation of uncoupler protein (d) 鱼藤酮不敏感的 NAD(P)H 脱氢酶的活化, ETC 被保持在适当的氧化状态 Activation of rotenone-insensitive NAD(P)H dehydrogenases, ETC is kept adequately oxidized
第二道防线 Second line of defense	ROS 的解毒作用 Detoxification of ROS 通过 Mn SOD 将超氧化物转变成过氧化氢 Superoxide is converted to H_2O_2 by Mn SOD 通过 By (a) 过氧化氢酶 CAT (b) 抗坏血酸/谷胱甘肽循环 The ascorbate/ glutathione cycle (c) 谷胱甘肽过氧化物酶系统 The glutathione peroxidase system (d) 硫氧还蛋白系统, 清除 H_2O_2 The thioredoxin system, hydrogen peroxid is detoxified
第三道防线 Third line of defense	ROS 引起的伤害的修复 Repair of ROS-mediated damage 通过谷胱甘肽过氧化物酶, 修复脂肪酸氢过氧化物 Fatty acid hydroperoxides, by glutathione peroxidase 通过二硫键的还原, 修复蛋白质 Proteins, e. g. by reduction of disulfide bridges 通过切除修复 DNA DNA, e. g. by excision repair

2.1 交替氧化酶

因为 O_2 是与还原型的电子传递组分起反应

所以, 减少 ROS 产生的途径之一就是阻止 ETC 的过量还原. 避免 ROS 的产生被认为是减少其潜在伤

害效应的第一道防线(表1). 长期以来, AOX 被看作是一种“溢出机制(overflow mechanism)”, 以吸收细胞色素链饱和后剩下的电子^[20]. 有实验证明, 在丙酮酸存在时, AOX 能与未饱和的细胞色素链竞争电子^[21]. 用氯霉素处理细胞和组织引起 $C \sim$ 的活性降低时, AOX 和 NDex(NADH)的活性就会比对照增加数倍^[22]. Purvis 和 Shewfelt^[23] 最早提出 AOX 在 ETC 中起减少 ROS 产生的作用. Wagn-er^[24] 报道, 在矮牵牛(*Petunia hybrida*) 的细胞培养过程中, H_2O_2 的加入可以诱导 AOX 的合成. Maxwell 等^[25] 的研究又表明, 在 AOX 过量表达的细胞中, ROS 的量仅为对照细胞的一半; 相反, 在通过反义技术减少 AOX 表达的细胞中, 其 ROS 的量比对照细胞多 5 倍. 所以, 作为 1 条电子传递支路, AOX 的存在在一定程度上限制了 ROS 的产生.

2.2 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶

ROS 一旦生成, 就必须被有效地清除, 使其伤害达到最小. 这样, ROS 的清除就构成了减少其有害作用的第二道防线(表1, 图2). O_2^- 在 SOD 催化下转变成 O_2 和 H_2O_2 . H_2O_2 又在 CAT 的催化下转变成 O_2 和 H_2O . 在植物体内, 有 3 种形式的 SOD, Fe-SOD, Mn-SOD 和 Cu-Zn-SOD; 其中, Fe-SOD 位于叶绿体, Mn-SOD(KCN 不敏感的)位于线粒体和过氧化物体, 而 Cu-Zn-SOD 在叶绿体、细胞质和细胞间隙都有分布^[26]. 当植物线粒体的 Mn-SOD 基因在 Mn-SOD 缺乏的酵母菌株(yeast strain)中表达时, 细胞重新获得了对氧化胁迫的抵抗力^[27]. 动物线粒体中有 CAT; 但在植物线粒体内是否有 CAT 还不清楚.

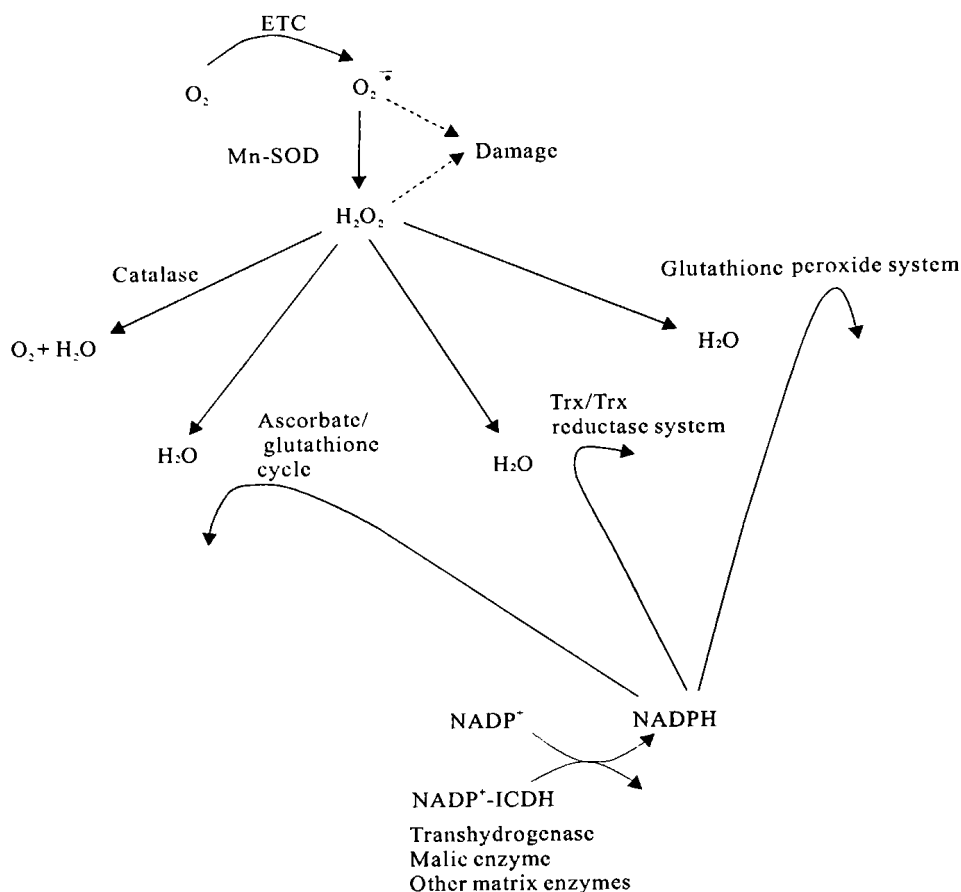


图2 植物线粒体中可能涉及 ROS 解毒作用的酶系统

Trx, 硫氧还蛋白; ICDH, 异柠檬酸脱氢酶^[15]

Fig.2 Enzyme systems possibly involved in ROS detoxification in plant mitochondria

Trx, Thioredoxin; ICDH, Isocitrate dehydrogenase^[15]

2.3 抗坏血酸/谷胱甘肽循环

在叶绿体中, 抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)/谷

胱甘肽(glutathione)循环是清除 ROS 的主要系

dase, APX), 脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, MDAR), 单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDAR) 和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR), 以及 2 种小分子量的物质(AsA 和谷胱甘肽). 在豌豆(*Pisum sativum*) 叶的线粒体中, 已经有完整的抗坏血酸/ 谷胱甘肽循环的报道^[29]; 但还有待于进一步证实. 在豌豆叶的线粒体中谷胱甘肽和 AsA 的浓度约分别为 6、24 nmol · mg⁻¹ 蛋白^[29]. 植物细胞可以经过几条途径合成 AsA, 但主要途径的最后步骤都包括 1 种线粒体酶, L-半乳糖酸- γ -内酯脱氢酶(L-galactono- γ -lactone dehydrogenase)^[30, 31].

2. 4 谷胱甘肽过氧化物酶

谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX) 构成了利用谷胱甘肽来减少 H₂O₂、脂质氢过氧化物和其他氢过氧化物的另一个酶家族^[2, 32]. 在哺乳动物的线粒体中, GPX 是清除 H₂O₂ 的主要酶^[2]. 尽管在植物中已经发现了几种 GPX 的类似物, 而且其中 1 种已经被纯化和鉴定, 但在植物线粒体中还未见相关的报道^[32]. 在 GPX 的超家族中, 有 1 种磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶(phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase), 它能够直接作用于脂质氢过氧化物, 而不是作用于释放的过氧羟脂肪酸(hydroperoxy fatty acid). 因此, GPX 有利于 ROS 损伤的修复, 是防御 ROS 伤害的第三道防线(表 1).

在线粒体基质中, 氧化型的谷胱甘肽(GSSG) 再生成还原型的谷胱甘肽(GSH) 可以通过抗坏血酸/ 谷胱甘肽循环, 或者通过 GPX 产生, 但都需要 NADPH 专一的谷胱甘肽还原酶催化^[33], 在 ROS 的产生和谷胱甘肽氧化水平都较高的代谢条件下, GPX 可能是主要消耗 NADPH 的酶.

2. 5 硫氧还蛋白和硫氧还蛋白还原酶系统

硫氧还蛋白(thioredoxin) 是 1 个小分子量的蛋白, 约为 12 ~ 14 kD, 其活性中心具有两个半胱氨酸残基, 它能形成氧化形式的二硫化物(Trx-(S-S)). 硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase) 利用 NADPH 将 Trx-(S-S) 转化成还原型的二硫化物(Trx-(SH₂)), 与硫氧还蛋白一起作用调节酶的活性并清除氢过氧化物(hydroperoxide) 和 H₂O₂^[2]. 在植物线粒体中, 已经鉴定了 2 种硫氧还蛋白^[34] 和 1 种硫氧还蛋白还原酶^[35]. 但是, 在植物线粒体中这种酶系统的功能目前还不清楚, 可能类似于酵母和哺乳动物线粒体中的酶系统, 与氧化胁迫的保护作用有关.

3 活性氧的信号分子作用

ROS 除了导致细胞的伤害以外, 还可以在植物细胞中作为一种普遍存在的信号分子起作用. ROS 也是胁迫反应的 1 种主要成分, 它的水平既取决于外界的胁迫剂量(stress dose)(胁迫强度 × 胁迫时间), 也决定于细胞的反应类型; 在低浓度的条件下, 能引起细胞的防御和适应反应; 而在高浓度的条件下则引起细胞死亡.

3. 1 在植物防御反应中的信号作用

随着 CAT 作为 1 种水杨酸(salicylic acid, SA) 的结合蛋白被确认, 以及在致病相关的(pathogenesis-related, PR-1) 基因的诱导中 H₂O₂ 位于 SA 的下游^[36]; 这些实验使人们注意到 H₂O₂ 在植物防御反应中的信号作用. 一系列实验表明, 在植物防御基因例如谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase) 基因(GST) 和谷胱甘肽过氧化物酶基因(GPx) 的诱导中, H₂O₂ 确实是 1 种可扩散的信号^[37]. 在玉米(*Zea mays*) 胚和叶片中, 由损伤导致的编码 CAT 基因的表达式是由 H₂O₂ 引起的^[38]. 在用无毒病原菌接种过的大豆(*Glycine max*) 细胞和未被感染的细胞之间放置 CA 陷阱(CAT trap), 可以阻断来源于被感染细胞的可扩散的信号, 而且这种 CAT 陷阱对防御基因的诱导是必须的^[37]. 经 UV-B 处理过的烟草(*Nicotiana tabacum*) 叶片, 其 PR-1 蛋白的诱导也需要 ROS 的积累^[39]. 由于葡萄糖氧化酶的组成性过量表达, 或者过氧化物体中 CAT 活性受抑制而具有较高 H₂O₂ 水平的转基因植物对病原菌具有较高的抗性、积累较多的 SA, 以及表达 PR 基因和蛋白^[40]. 在 CAT 缺乏的烟草植株叶片中, H₂O₂ 的积累不仅能局部而且系统地诱导防御蛋白(GPx, PR-1) 的产生^[40].

将拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 植株部分地暴露在过剩的光照中, 可导致未暴露叶片对光氧化胁迫(photo-oxidative stress) 的系统适应. 这种适应与 APX 基因(*Ap x2*) 的表达有关, 并认为是由 H₂O₂ 介导的; 因为 *Ap x2* 的诱导对 CAT 特别敏感. 用 H₂O₂ 预处理的拟南芥叶片也表现出对过剩的光照有耐性^[41]. 在萌发的水稻(*Oryza sativa*) 胚中, H₂O₂ 可以诱导编码 APX 的基因表达^[42]. Orozco-Cardenas 等^[43] 研究表明, 由损伤引起的 H₂O₂ 积累可以作为第二信使诱导包括蛋白酶抑制剂(proteinase inhibitor) 和多酚氧化酶(polyphenol oxidase) 在内的一亚组防御基因的表达.

在“交叉耐受性(cross-tolerance)”中, H₂O₂ 也可以作为一种信号分子. 例如, 在亚致死剂量(sub-

lethal dose) 的臭氧或 UV 中暴露以后, 增强了对致病病原菌感染的耐性^[45]; 热胁迫处理诱导对随后病原菌的抗性^[46]. 在防御反应中, H_2O_2 被普遍认为是一种信号分子, O_2^- (或者其衍生物) 也可能起这种作用. 大豆细胞对病原菌或者诱导物 (elicitor) 反应产生植物抗毒素 (phytoalexin) 被 DPI 或 SOD 抑制, 但不受 CAT 的影响^[47]. 同样, 在拟南芥伤害刺激的抗病反应 (lesion-simulating disease resistance response) 的突变体 (*lsd1*) 中, O_2^- 是一种必需的因子, 以及足够地诱导伤害的形成和 PR-1 mRNA 的积累, 而 H_2O_2 则不能^[48]. 此外, 用产生 O_2^- 的洋地黄皂甙 (digitonin) 或黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase) 处理后, 1 个编码伸展蛋白 (extension) 的番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 多基因家族成员在转录水平被诱导; 但 H_2O_2 处理则不能诱导^[49]. 因此, O_2^- 可能在防御反应中作为信号分子起作用, 不需要 H_2O_2 . 相反, 在水稻中百叶枯 (paraquat) 处理通过 H_2O_2 (被 CAT 或者 APX 的抑制作用促进) 而不是 O_2^- (被 SOD 抑制剂减少) 诱导细胞质 APX 基因^[42].

3.2 在细胞死亡中的信号作用

在植物中, 细胞的死亡有两种方式: 程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD) 和坏死 (necrosis). PCD 是受遗传控制的; 具有动物细胞中细胞凋亡 (apoptotic cell death) 的特征, 例如细胞皱缩, 细胞质和细胞核浓缩, 异染色质增加, 细胞质空泡化, 以及 DNA 片段化 (DNA fragmentation) 等^[50]. 而坏死是由严重且持续的伤害所引起的, 被认为不受遗传控制^[51]. PCD 和坏死也可能是由同一 ROS 信号起始的相同过程的两种不同结果^[52].

在大豆细胞的培养物中, 一个短的 H_2O_2 脉冲就足够活化过敏性的细胞死亡 (hypersensitive cell death) 机制^[37]. 在拟南芥悬浮培养物中, 外源的 H_2O_2 ($> 5 \text{ mmol/L}$) 能起始 1 条活性细胞的死亡途径 (需要 DNA 和蛋白质的重新合成)^[53]. 在具有较低的 H_2O_2 清除能力的转基因植物, 或者在其他过量产生形成 H_2O_2 的酶的植物中, 自发地出现细胞死亡, 或者容易地被胁迫诱导^[40]. CAT 缺乏的烟草植株短暂暴露到使 H_2O_2 的稳态紊乱的条件 (高光强) 下, 足够活化 1 个类似于不相容性植物-病原菌相互作用过程中观察到的 PCD 程序^[11].

过敏反应 (hypersensitive response, HR) 是一种典型的不相容性的植物-病原菌相互作用^[12]. 在 HR 过程中, 在病原菌侵袭的位点氧化突发 (oxidative burst) 与细胞死亡的诱导一致. 这种局部的细胞死亡限制了侵染病原菌的扩散. 然而, 在 HR 过

程中, 抗氧化酶活性的调节可能有助于 AOS 的产生. 在通过真菌诱导物处理的 HR 的烟草细胞中, 过氧化氢酶 *Cat1* 和 *Cat2* 的 mRNA 和蛋白质水平降低, 以及酶活性被抑制; 这与 H_2O_2 的大量积累相平衡^[54]. 同样, 病毒诱导的类 HR 细胞死亡伴随着细胞质 APX 表达的抑制^[55]. 这种抑制可能有助于 H_2O_2 的积累和细胞死亡程序的活化.

在拟南芥 *lsd1* 突变体中, 是 O_2^- 而不是 H_2O_2 起始了 1 种不受控制的细胞死亡表型, 这就为 O_2^- 在植物细胞死亡中的作用提供了遗传证据^[48]. 在长日照下生长的 *lsd1* 植株自发地在叶片上形成坏死损伤, 以及不能阻止细胞死亡的扩散. 在细胞死亡扩散区域的前沿, O_2^- 显著地积累. 在自由基诱导的拟南芥细胞死亡突变体 (*rcd1*) 中, 是臭氧和 O_2^- , 而不是 H_2O_2 , 诱导细胞的 H_2O_2 积累和短暂的扩散损伤, 细胞的 O_2^- 积累取决于乙烯. 外源乙烯增加依赖于 O_2^- 的细胞死亡, 而乙烯感受的损伤阻断 O_2^- 的积累和扩散伤害^[11]. 在大麦糊粉层中, 由植物激素赤霉素导致的 PCD 也是由 H_2O_2 介导的^[10], 这就暗示, H_2O_2 不仅介导病原菌入侵引起的 PCD, 而且在发育的 PCD 中起作用.

3.3 ROS 与基因表达的调控

在拟南芥^[53] 和大豆^[56] HR 过程中, 由 H_2O_2 诱导的 PCD 需要转录和翻译. 一些研究表明在防御反应中 H_2O_2 调节基因的表达. 在大豆中, H_2O_2 诱导防御相关基因 *GST* 和 *GPX* 的表达^[37]. 在拟南芥悬浮培养物中, H_2O_2 诱导 *GST* 和苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 的表达^[53]. 在各种胁迫包括氧化胁迫后, *GST* 构成了细胞解毒作用过程中涉及的酶家族^[57]. *GPX* 在抗坏血酸-谷胱甘肽循环中清除 H_2O_2 , PAL 涉及防御相关化合物的合成^[58]. 编码 1 种蛋白体 (proteasome) 亚基的烟草基因也被 H_2O_2 诱导^[59]. 蛋白体与蛋白质的降解有关, 是 HR 细胞死亡过程中的共同特征.

H_2O_2 能诱导与 NADPH 氧化酶合成有关的基因表达^[53], 诱导萌发的水稻胚^[42] 和拟南芥叶片^[41] 中编码 APX 的基因表达. 在玉米胚和叶片中, 损伤通过 H_2O_2 诱导编码 CAT 的基因表达^[38].

在非生物胁迫条件下, H_2O_2 也参与基因表达的调节. 例如, UV-B 诱导的基因表达也通过 H_2O_2 介导; 在抗氧化剂存在时, 暴露到 UV-B 中的拟南芥植株导致由 UV 诱导的基因 *PDF1.2* 被减量调节 (down-regulation)^[60]. 已经证明 H_2O_2 诱导编码过氧化物体生物发生 (peroxisome biogenesis) 所需要的蛋白质的基因表达^[61]. 过氧化物体是 ROS、抗氧

化剂和 NO 的重要来源, 因此, 是细胞氧化还原状态的重要调节剂。有趣的是, 编码信号蛋白(signaling protein) 例如转录因子(transcription factor)、蛋白激酶(protein kinase) 和蛋白磷酸酶(protein phosphatase) 的基因也被 H₂O₂ 增量调节(up-regulation), 这些基因类似于由其他胁迫例如萎蔫、UV 辐射和细胞诱导物处理诱导的基因; 而编码半胱氨酸蛋白酶(cysteine protease) 的基因则被 H₂O₂ 减量调节^[1]。1 种烟草蛋白磷酸酶 2C(tobacco protein phosphatase 2C, NtPP2C1) 基因被 H₂O₂ 和热休克(heat shock) 减量调节, 被干旱胁迫增量调节^[62]。

4 NO 的信号作用

植物能合成和释放气体分子一氧化氮(nitrogen oxide, NO)^[63]。早期的研究提出, NO 调控根的生长, 以及作为一种内源的成熟和衰老因子起作用^[64]。在动物中, NO 主要是通过一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS) 被合成。在植物中已经发现了 NOS 的活性, 哺乳动物 NOS 的抑制剂抑制植

物中 NO 的产生^[65]。此外, 由哺乳动物 NOS 产生的抗体能与植物蛋白起交叉反应^[66]。已经从豌豆过氧化物酶体中纯化了 1 种 NOS^[66], 以及获得了 1 条豌豆 NOS 的部分 cDNA 克隆^[67]。NO 的其他来源包括硝酸还原酶(nitrate reductase)^[68]; 也可能有其他的非酶促途径, 例如亚硝酸/抗坏血酸相互作用, 或者通过类胡萝卜素由光调节的 NO₂ 转化为 NO^[69]。

NO 本身是 1 种自由基(NO·), 能够与 O₂⁻ 作用形成高度活化的过氧化亚硝酸阴离子(peroxynitrite anion, ONOO⁻), 随后由过氧化亚硝酸诱导细胞反应^[1]。在哺乳动物中, NO 与谷胱甘肽反应生成 S-亚硝基谷胱甘肽(S-nitrosogluthathione, GSNO), GSNO 能够作为 NO 的释放源(systemic source); 植物具有类似的情况^[70]。H₂O₂ 与 NO 通常不是单独起作用, 而是与其他信号分子一道作用。这些信号分子可能组成性的存在, 或者在胁迫过程中增加浓度/活性(例如通过改变细胞的敏感性), 例如 ABA、茉莉酸、乙烯和 SA(图 3)^[1]。

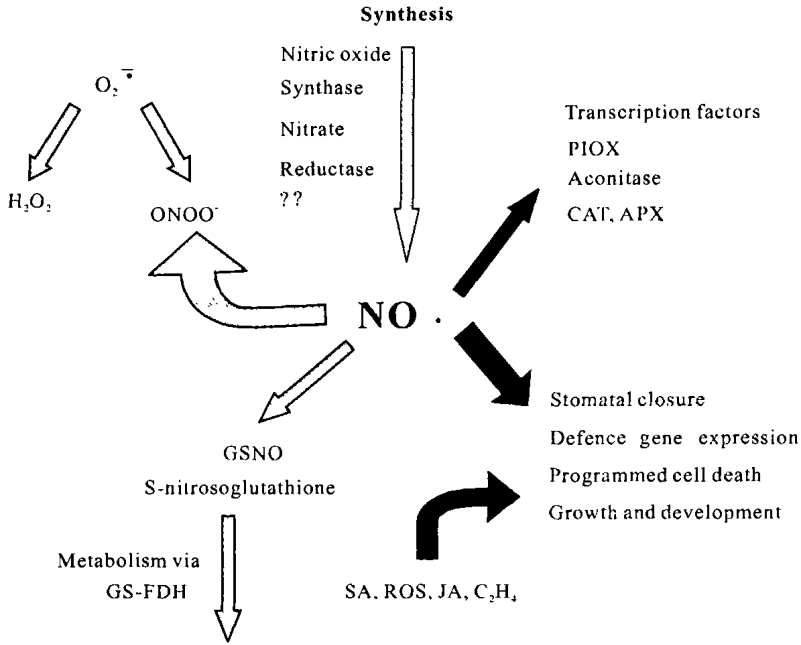


图 3 植物 NO 信号

灰色箭头表示 NO 的潜在合成途径和生化反应, 黑色箭头表示潜在的细胞反应和 NO 的靶子。PIOX. 病原菌诱导的氧化酶; GS-FDH. 依赖谷胱甘肽的甲醛脱氢酶基因^[1]

Fig. 3 NO signalling in plants

Gray arrows represent potential synthesis and biochemical interactions, black arrows represent potential cellular effects and targets of NO. PIOX. Pathogen-induced oxygenase; GS-FDH. Glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase^[1]

NO 的细胞内靶子还不清楚。NO 可能通过亚硝基化(nitrosylation)直接与蛋白质作用^[70]。已经证明 NO 抑制顺乌头酸酶(aconitase)的活性^[71]。NO 也抑制 CAT 和 APX 活性^[72]。在植物-病原菌相

互作用过程中, NO 激活防御相关基因 *PAL1*、*PR-1* 和 *GST* 的表达^[73, 74]. 另 1 个 NO 的潜在靶基因是病原菌诱导的过氧化物酶 (pathogen-induced oxygenase, PIOX) 基因, 该基因在植物防御反应过程中涉及氧化还原信号 (图 3).

已经证明, 在烟草中 NO 信号需要环鸟苷一磷酸 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 的合成^[74]. NO 处理诱导 cGMP 含量的瞬时增加, cGMP 合成的抑制剂通过鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase) 抑制 NO 诱导的 PAL 的活化. 在拟南芥 NO 诱导的 PCD 过程中也需要 cGMP 的合成. 鸟苷酸环化酶的抑制阻止 NO 调节的 PCD, 这种抑制作用能够被添加 1 种可渗透细胞的 cGMP 类似物 8-溴 cGMP (8-bromo cGMP) 恢复^[75]. 然而, 单独用 8-溴 cGMP 处理不诱导 PCD, 表明对于 NO 的反应 cGMP 的合成是需要的, 但不是足够的. 目前, 在植物中鸟苷酸环化酶和依赖于 cGMP 的蛋白激酶 (1 种 cGMP 的潜在靶子) 都没有被分离和克隆. 在哺乳动物中, cGMP 也通过环-ADP 核苷 (cyclic ADP ribose, cADPR) 起作用. 已经证明 cADPR 涉及 NO 诱导的 *PAL* 和 *PR-1* 的活化^[74]. 此外, NO 激活烟草^[76] 和拟南芥^[75] 中分裂素活化的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK). 在烟草中, NO 活化的 MAPK 也能被其他信号例如 SA^[76] 和 H₂O₂^[77] 活化.

5 结束语

线粒体是植物细胞中产生 ROS 的一个主要部

位, 它们含有许多清除 ROS 的酶^[1]; 然而, 这些研究仍然是不完整的. 关于 ROS 的产生, NDin、NDex、AOX 和解偶联蛋白在 ROS 产生中的调节作用还需要进一步研究. 在植物线粒体中, 尽管有一些使 ROS 解毒作用的机制, 但只有 Mn-SOD 被真正确认.

除了引起细胞的伤害外, ROS 在植物中还能够作为一种普遍存在的信号分子. 在低浓度时, ROS 能诱导防御基因的表达和引起适应性反应; 在高浓度时, 引起细胞死亡^[11], 但细胞如何感受和控制 ROS 的水平, 以及引起细胞伤害的阈值等仍然知之甚少. 亚致死量的 ROS 能使植物适应生物和非生物的胁迫以及减少生长, 可能是作为适应机制的一部分.

尽管已经证明许多基因的表达和酶的活性都受 ROS 的影响, 但其影响的分子和生化机制仍然不清楚. 已经发现 ROS 在植物生长和形态发生中作为信号分子起作用, 表明 ROS 不仅是胁迫信号分子, 而且在植物生长和发育过程中可能是一种内在的信号^[11], 但 ROS 的信号途径仍是个谜. 在 ROS 的信号作用研究中, H₂O₂ 的研究较多, O₂⁻ 和 NO 有少量报道, 但其它类型的 ROS 还未见涉及. 为了定位转导途径中的 ROS 信号以及了解这些信号怎样被感受和转导到下游反应, 除了生理研究外还需要遗传分析.

参考文献:

- [1] NEILL S J, DESIKAN R, CLARKE A, HHRST R D, HANCOCK J T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants[J]. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1 237- 1 247.
- [2] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M C. Free radicals in biology and medicine[M]. 3rd edition. Oxford: Oxford University Press, 1999.
- [3] DEL R O L A, CORPAS F J, SANDALIO L M, PALMA J M, G MEZ M, BARROSO J B. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisome[J]. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1 255- 1 272.
- [4] SOMERVILLE C, BROWSE J, JAWORSKI J G, OHLROGGE J B. Lipids[A]. Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L, eds. Biochemistry and molecular biology of plants[C]. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000: 456- 527.
- [5] BUCHANAN B B, GRUISEM W, JONES R L. Biochemistry and molecular biology of plants[M]. New York: the American Society of Plant Physiologists, 2000: 1 189- 1 197.
- [6] SONG S Q (宋松泉), FU J R (傅家瑞). Leaf senescence of hybrid rice in relation to peroxidation of membrane lipids[J]. *Supplement to the Journal Sun Yatsen University* (中山大学学报论丛), 1995, 1: 15- 19 (in Chinese).
- [7] MCDONALD M B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment[J]. *Seed Sci. & Technol.*, 1999, 27: 177- 237.
- [8] SONG S Q, FU J R. Desiccation sensitivity and peroxidation of membrane lipids in lychee seeds[J]. *Trop. Sci.*, 1999, 39: 102- 106.

- [9] SONG S Q, JIANG C H, CHEN R Z, FU J R, ENGELMANN F. Dehydration damage and its repair in imbibed soybean (*Glycine max*) seeds[A]. Nicolas G, Bradford K J, C me D, Pritchard H W, eds. The biology of seeds: recent research advances[C]. Ox on: CABI Publishing, 2003: 355– 369.
- [10] FATH A, BETHKE P, BELLIGN I V, JONES R. Active oxygen and cell death in cereal aleurone cells[J]. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1 273– 1 282.
- [11] VRANOV E, INZ D, BREUSEGEM F V. Signal transduction during oxidative stress[J]. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1 277– 1 286.
- [12] LAMB C, DIXON R A. The oxidative burst in plant disease resistance[J]. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1997, 48: 251– 275.
- [13] BETHKE P C, JONES R L. Cell death of barley aleurone protoplasts is mediated by reactive oxygen species[J]. *Plant J.*, 2001, 25: 19– 29.
- [14] PUNTARULO S, SANCHEZ R A, BOVERIS A. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination [J]. *Plant Physiol.*, 1988, 86: 626– 630.
- [15] MILLER I M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species [J]. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2001, 52: 561– 591.
- [16] RASMUSSEN A G, HEISER V, ZABALETA E, BRENNICKE A, GROHMANN L. Physiological, biochemical and molecular aspects of mitochondrial complex in plants[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998, 1364: 101– 111.
- [17] AGIUS S C, BYKOVA N V, IGAMBERDIEV A U, MILLER I M. The internal rotenone-insensitive NADPH dehydrogenase contributes to malate oxidation by potato tuber and pea leaf mitochondria[J]. *Physiol. Plant*, 1998, 104: 329– 336.
- [18] MELO A M P, ROBERTS T H, MILLER I M. Evidence for the presence of two rotenone-insensitive NAD(P)H dehydrogenases on the inner surface of the inner membrane of potato tuber mitochondria[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, 1276: 133– 139.
- [19] MAJANDER A, FINEL M, WIKSTROM M. Diphenylpicrylhydrazolium inhibits reduction of iron-sulfur clusters in the mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (Complex I)[J]. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269: 21 037– 21 042.
- [20] LAMBERS H. Cyanide-resistant respiration: a non-phosphorylating electron transport pathway acting as an energy overflow[J]. *Physiol. Plant*, 1982, 55: 478– 485.
- [21] HOEFNAGEL M H N, MILLAR A H, WISKICH J T, DAY D A. Cytochrome and alternative respiratory pathways compete for electrons in the presence of pyruvate in soybean mitochondria[J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, 318: 394– 400.
- [22] ZHANG Q, MISCHIS L, WISKICH J T. Respiratory responses of pea and wheat seedlings to chloramphenicol treatment[J]. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1996, 23: 683– 692.
- [23] PURVIS A C, SHESFELT R L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues[J]. *Physiol. Plant*, 1993, 88: 712– 718.
- [24] WAGNER A M. A role for active oxygen species as second messengers in the induction of alternative oxidase gene expression in *Petunia hybrida* cells[J]. *FEBS Lett.*, 1995, 368: 339– 342.
- [25] MAXWELL D P, WANG Y, MCINTOSH L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1999, 96: 8 271– 8 276.
- [26] ALSCHER R G, ERTURK N, HEATH L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1 331– 1 341.
- [27] SCANDALIOS J C. Oxygen stress and superoxide dismutases[J]. *Plant Physiol.*, 1993, 101: 7– 12.
- [28] FOYER C H, LELANDIS M, KUNERT K J. Photooxidative stress in plants[J]. *Physiol. Plant*, 1994, 92: 696– 717.
- [29] JIMENEZ A, HERNANDEZ J A, DEL ROL A, SEVILLA F. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves[J]. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 275– 284.
- [30] DAVEY M W, GILOT C, PERSIAU G, STERGAARD J, HAN Y. Ascorbate biosynthesis in *Arabidopsis* cell suspension cultures[J]. *Plant Physiol.*, 1999, 121: 535– 543.
- [31] WHEELER G L, JONES M A, SMIRNOFF N. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants[J]. *Nature*, 1998, 393: 365– 369.
- [32] ESHDAT Y, HOLLAND D, FALTIN Z, BENHAYIM G. Plant glutathione peroxidases[J]. *Physiol. Plant*, 1997, 100: 234– 240.
- [33] RASMUSSEN A G, MILLER I M. NADP-utilizing enzymes in the matrix of plant mitochondria[J]. *Plant Physiol.*, 1990, 94: 1 012– 1 018.
- [34] KONRAD A, BANZE M, FOLLMANN H. Mitochondria of plant leaves contain two thioredoxins. Completion of the thioredoxin profile of higher plants[J]. *J. Plant Physiol.*, 1996, 149: 317– 321.
- [35] BANZE M, FOLLMANN H. Organelle-specific NADPH thioredoxin reductase in plant mitochondria[J]. *J. Plant Physiol.*, 2000, 156:

126– 129.

- [36] CHEN Z, RICIGLIANO J W, KLESSIG D F. Purification and characterization of a soluble salicylic acid-binding protein from tobacco [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1993, 90: 9 533– 9 537.
- [37] LEVINE A, TENHAKEN R, DIXON R, LAMB C. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response [J]. *Cell*, 1994, 79: 583– 593.
- [38] GUAN L M, SCANDALIOS J G. Hydrogen peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28: 1 182– 1 190.
- [39] GREEN R, FLUHR R. UV-B-induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species [J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 203– 212.
- [40] CHAMNONGPOL S, WILLEKENS H, MOEDER W, LANGE BARTELS C, SANDERMAN J H, VAN MONTAGU M, INZ D, VAN CAMP W. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H_2O_2 in transgenic plants [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1998, 95: 5 818– 5 823.
- [41] KARPINSKI S, REYNOLDS H, KARPINSKA B, WINGSLE G, CREISSEN G, MULLINEAUX P. Systemic signalling and acclimation in response to excess excitation energy in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 1999, 284: 654– 657.
- [42] MORITA S, KAMINAKA H, MASUMURA T, TANAKA K. Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress, the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signaling [J]. *Plant and Cell Physiol.*, 1999, 40: 417– 422.
- [43] OROZCO-C R, DENAS M L, NARVEZ-SQUEZ J, RYAN C A. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate [J]. *Plant Cell*, 2001, 13: 179– 191.
- [44] BOWLER C, FLUHR R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance [J]. *Trends. Plant Sci.*, 2000, 5: 241– 245.
- [45] SHARMA Y K, LEON J, RASKIN I, DAVIS K R. Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: the role of salicylic acid in the accumulation of defense-related transcripts and induced resistance [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1996, 93: 5 595– 5 599.
- [46] VALLELIAN-BINDSCHEDLER L, SCHWEIZER P, MOSINGER E, METRAUX J P. Heat-induced resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) is associated with a burst of active oxygen species [J]. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1998, 52: 185– 199.
- [47] JABS T, TSCHPE M, COLLING C, HAHNBROCK K, SCHEEL D. Elicitor-stimulated ion fluxes and O_2^- from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1997, 94: 4 800– 4 805.
- [48] JABS T, DIETRICH R A, DANGL J L. Initiation of runaway cell death in an *Arabidopsis* mutant by extracellular superoxide [J]. *Science*, 1996, 273: 1 853– 1 856.
- [49] WISNIEWSKI J P, CORNILLE P, AGNEL J P, MONTILLET J L. The extension multigene family responds differentially to superoxide or hydrogen peroxide in tomato cell cultures [J]. *FEBS Lett.*, 1999, 447: 264– 268.
- [50] DELPECH R. Investigating the phenomenon of programmed cell death in maize (*Zea mays*) seeds [J]. *J. Bio. Edu.*, 2000, 35: 41– 44.
- [51] O'BRIEN I E W, BAGULEY B C, MURRAY B G, MORRIS B A M, FERGUSON I B. Early stages of the apoptotic pathway in plant cells are reversible [J]. *Plant J.*, 1998, 13: 803– 814.
- [52] JABS T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals [J]. *Biochem. Pharmacol.*, 1999, 57: 231– 245.
- [53] DESIKAN R, REYNOLDS A, HANCOCK J T, NEILL S J. Harpin and hydrogen peroxide both initiate programmed cell death but have differential effects on gene expression in *Arabidopsis* suspension cultures [J]. *Biochem. J.*, 1998, 330: 115– 120.
- [54] DOREY S, BAILLIEUL F, SAINDRENAN P, FRITIG B, KAUFFMANN S. Tobacco class and catalase are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, 11: 1 102– 1 109.
- [55] MITTLER R, FENG X, COHEN M. Post-transcriptional suppression of cytosolic ascorbate peroxidase expression during pathogen-induced programmed cell death in tobacco [J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 461– 473.
- [56] SOLOMON M, BELENGHI B, DELLEDONNE M, MENACHEM E, LEVINE A. The involvement of cysteine protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants [J]. *Plant Cell*, 1999, 11: 431– 443.
- [57] MARRS K A. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bio.*, 1996, 47: 127– 158.
- [58] FOYER C H, LOPEZ-DELGADO H, DAT J F, SCOTT I M. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling [J]. *Physiol. Plant*, 1997, 100: 241– 254.
- [59] ETIENNE P, PETITOT A S, HOUOT V, BLEIN J P, SUTY L. Induction of tel 7, a gene encoding a β -subunit of proteasome, in tobacco

- plants treated with elicitor, salicylic acid or hydrogen peroxide[J]. *FEBS Lett.*, 2000, 466: 213– 218.
- [60] MACKERNES A H S, SURPLUS S L, BLAKE P, JOHN C F, BUCHANAN-WOLLASTON V, JORDAN B R, THOMAS B. Ultraviolet-B induced stress and changes in gene expression in *Arabidopsis thaliana*: role of signalling pathways controlled by jasmonic acid, ethylene and reactive oxygen species[J]. *Plant Cell and Env.*, 1999, 22: 1 413– 1 423.
- [61] LOPEZ-HUERTAS E, CHARLTON W L, JOHNSON B, GRAHAM I A, BAKER A. Stress induces peroxisome biogenesis genes[J]. *EMBO J.*, 2000, 19: 6 770– 6 777.
- [62] VRANOV E, LANGEBARTELS C, VAN MONTAGU M, INZ D, VAN CAMP W. Oxidative stress, heat shock and drought differentially affect expression of a tobacco protein phosphatase 2C[J]. *J. Exp. Bot.*, 2000, 51: 1 763– 1 764.
- [63] WILDT J, KLEY D, ROCKEL A, ROCKEL P, SEGSCHEIDER H J. Emission of NO from several higher plant species[J]. *J. Geophys. Res.*, 1997, 102: 5 919– 5 927.
- [64] RIBIERO E A, CUNHA F Q, TAMASHIRO W M S C, MARTIN I S. Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells[J]. *FEBS Lett.*, 1999, 445: 283– 286.
- [65] PEDROSO M C, MAGALHAES J R, DURZAN D. A nitric oxide burst precedes apoptosis in angiosperm and gymnosperm callus cells and foliar tissues[J]. *J. Exp. Bot.*, 2000, 51: 1 027– 1 036.
- [66] BARROSO J B, CORPAS F J, CARRERAS A, SANDALIO L M, VALDERRAMA R, PALMA J M, LUPIANEZ J A, DEL ROLLA A. Localization of nitric oxide synthase in plant peroxisomes[J]. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274: 36 729– 36 733.
- [67] CORPAS F J, BARROSO J B, DEL ROLLA A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecule in plant cells[J]. *Trends in Plant Sci.*, 2001, 6: 145– 150.
- [68] 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[J]. *FEBS Lett.*, 2000, 468: 89– 92.
- [69] WOJTASZEK P. Nitric oxide in plants: to NO or not to NO[J]. *Phytochem*, 2000, 54: 1– 4.
- [70] DURNER J, KLESSIG D F. Nitric oxide as a signal in plants[J]. *Cur. Opin. Plant Bio.*, 1999, 2: 369– 374.
- [71] NAVARRE D A, WINDEHENNE D, DURNER J, NOAD R, KLESSIG D F. Nitric oxide modulates the activity of tobacco aconitase[J]. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 579– 582.
- [72] CLARK D, DURNER J, NAVARRE D A, KLESSIG D F. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13: 1 380– 1 384.
- [73] DELLEDONNE M, XIA Y, DIXON R A, LAMB C. Nitric oxide function as a signal in plant disease resistance[J]. *Nature*, 1998, 394: 585– 588.
- [74] DURNER J, WINDEHENNE D, KLESSIG D F. Defence gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP ribose[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1998, 95: 10 328– 10 333.
- [75] CLARKE A, DESIKAN R, HURST R D, HANCOCK J T, NEILL S J. NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures[J]. *Plant J.*, 2000, 24: 667– 677.
- [76] KUMAR D, KLESSIG D F. Differential induction of tobacco MAP kinase by the defense signals nitric oxide, salicylic acid, ethylene, and jasmonic acid[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13: 347– 351.
- [77] SAMUEL M A, MILES G P, ELLIS B E. Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signaling in plants[J]. *Plant J.*, 2000, 22: 367– 376.