

植物中的活性氧研究概述

张 怡, 路铁刚*

中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081

摘 要: 活性氧作为有氧代谢的副产物不断在植物体内产生。在正常的生长环境条件下, 植物将产生活性氧 (reaction oxygen species, ROS) 作为信号代谢分子以调控不同的代谢反应, 例如病毒防御、细胞程序性死亡和气孔开闭等; 当氧化胁迫发生时, 胞内活性氧稳态受到严重破坏, 影响作物的生长发育, 从而降低作物产量及品质。为了降低因过量活性氧对植物体所造成的伤害, 植物体内进化出了两种活性氧清除系统: 酶清除系统和非酶清除系统。本文就此对植物在生长发育过程中 ROS 的产生、利弊、清除机制以及在作物改良上应用的可能性进行了系统的讨论。

关键词: 活性氧; 非生物逆境; 生物技术

DOI:10.3969/j.issn.2095-2341.2011.04.03

The Research of Reactive Oxygen Species (ROS) in plants

ZHANG Yi, LU Tie-gang*

Biotechnology research institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) were produced as intracellular by-products of aerobic metabolism. Under normal growth environment, ROS is a molecule signal to regulate different reactions, such as pathogen defense, programmed cell death and stomatal closure. While plants suffer oxidative stress, the ROS balance will be destroyed to influence the plants growth and development and even reduce the crops yield and quality. There are ROS scavenge systems in plants, enzymatic and non-enzymatic, which control the balance of ROS, in order to prevent the damage of excess ROS. This paper discussed the production, the advantages and disadvantages, the elimination mechanism of ROS during the development of plants and the potential application of modifying ROS level by molecular approaches on crop improvement.

Key words: ROS; abiotic stress; biotechnology

非生物胁迫在植物体内产生一系列的生理生化代谢反应, 使植物的生长和发育受到影响, 从而表现出不利的表型性状。其中最主要的危害之一就是生物体内产生大量的活性氧, 过量的活性氧对生物体能产生不同程度的危害, 为了消除或降低这种危害, 植物体内存在着抗氧化保护酶系统和非酶系统, 使植物体内活性氧含量处于一个平衡状态而免于受到氧化胁迫伤害。因此, 通过降低植物逆境状态下的活性氧水平, 可以减少逆境对植物产生的危害。

1 植物中活性氧的产生

自由基是包含了一个或者更多未成对电子的

物质, 其化学性质非常活泼、氧化能力极强, 并且极易与其他物质发生反应。活性氧 (reaction oxygen species, ROS) 就是属于自由基类的一类高活性氧化剂。目前, 我们较熟知的几种植物体内比氧更活泼的含氧化合物主要包括: 超氧阴离子 (O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、过氧化自由基 ($ROO\cdot$) 和活性很强的羟基自由基 ($OH\cdot$) 等。这些物质在生物的再生过程中具有非常重要的影响^[1]。

超氧阴离子 (O_2^-) 是由于氧分子发生单电子还原反应产生, 而发生此反应的单电子可以来自不同的途径, 包括光合链、呼吸链、还原剂反应 (如还原型核黄素、黄素核苷酸、黄素腺嘌呤二核

收稿日期: 2011-06-24; 接受日期: 2011-07-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30700516) 资助。

作者简介: 张 怡, 硕士研究生, 研究方向为植物功能基因组学与蛋白质组学。* 通讯作者: 路铁刚, 研究员, 博士, 主要从事植物功能基因组研究。Tel: 010-82106131; E-mail: tiegang@caas.net.cn

苷酸、半胱氨酸、还原型谷胱甘肽等),以及体内的一些酶促反应。另外,在生物反应及代谢过程中的 Haber-Wiss 反应、 Fe^{2+} 存在条件下的 Fenton 反应及大量酶促反应也可以产生形成大量的 $\text{OH}\cdot$ 及 H_2O_2 。

一般认为,活性氧中间产物(ROIs)是一种特异的氧化还原形式,是氧代谢的毒性副产物;它们使氧气激发为单价态氧 $^1\text{O}_2$ 或者分别转移一个、两个或者三个电子到氧气上转变为超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)或者是羟基($\text{HO}\cdot$);与大气中的氧相比较,ROIs 能够将多种细胞成分无限制地氧化,还能导致细胞氧化损伤^[2~4]。然而,近年通过不同突变体及基因芯片的分析发现,ROIs 作为信号分子在生物体中发挥着重要的作用,参与细胞程序性死亡、非生物胁迫反应、病毒防御等过程^[5]。

当植物受到环境影响,如衰老、创伤、外源物质侵入、辐射光线、冷热、病原菌、生物体毒素、干旱、重金属、空气污染(臭氧、二氧化硫)和激素等胁迫条件,诱导了植物体内各种相关氧化胁迫反应,体内活性氧的产生将远远超出抗氧化系统的清除能力,在细胞内造成严重的氧化胁迫,引起细胞损伤,从不同方面影响破坏细胞的新陈代谢。这些破坏作用包括:①造成分子损坏,如脂肪、脂肪酸、氨基酸、蛋白质、核酸及色素等;②引起细胞的反应,如:膜损伤、细胞器功能破坏、代谢效应减缓、碳固定减弱、电解质渗漏、染色单体被破坏和突变反应,最终导致细胞死亡^[6]。研究发现,当植物受到光胁迫(如:辐射光线、强光等)时,引起的光还原力的积累会造成细胞膜上电化学能量的过度积累,额外的能量通过米勒反应打开通道,也会同时产生大量超氧阴离子和过氧化氢等活性氧^[7]。

2 植物活性氧的功能

活性氧在植物体内处于一种动态的平衡状态,作为第二信使调节植物的新陈代谢;然而,当受到外界环境或自身代谢氧化胁迫后,这种平衡将被打破,过量的活性氧对植株造成不同程度的伤害,甚至引起植株的死亡。

最初,ROS 被认为是氧化代谢中具有很强毒性的副产物,并且没有任何生物意义,但是深入研

究发现,活性氧在植物细胞中常常作为细胞反应的调节分子,调节细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)、调控生物体的生长发育以及向地性生长等生物活动过程^[8];并且在植物细胞正常生理代谢过程中,所有的有氧细胞产生的 ROS 还能够平衡抗氧化生化过程。

Joo 等^[9]在对玉米的根生长信号转导及重力研究中发现:ROS 由于重力的刺激作用于玉米的根部,从而使根生长减慢并形成不对称的生长;在根的弯曲度上,是 ROS 的产生抑制了细胞生长,由此造成了根的趋向性生长。生长素在重力的作用下的不对称合成诱导了 ROS 的产生,这样 ROS 的不对称又造成了重力效应。拟南芥向地性生长上调与氧化胁迫相关基因的研究结果表明,ROS 可能广泛作用于植物生长过程^[10]。

Torres 等^[11,12]研究表明,植物体在病毒防御反应中通过 ROS 控制细胞程序性死亡。在病毒防御过程中,植物细胞通过增加质膜连结 NADPH 氧化酶,细胞壁连结过氧化物酶和胺基氧化酶的酶活性产生活性氧^[13];在这样的环境下,能直接或通过超氧化物歧化而产生多达 $15\ \mu\text{mol}\ \text{H}_2\text{O}_2$,和超氧化物相比较, H_2O_2 能扩散进入细胞并且激活植物的防御反应^[14]。在对病菌的反应过程中活性氧作为细胞程序性死亡调节分子和第二信使,在许多植物激素反应中起着重要作用^[15]。

许多拟南芥突变体被用于脱落酸(abscisic acid, ABA)和保卫细胞中 ROS 的信号研究,最近有报道说在拟南芥乙烯受体 *etr1-7* 缺失功能突变体中, H_2O_2 调节的气孔关闭完全受到干扰,因此认为 ROS 在植物防御细胞信号和气孔关闭中起重要作用^[16]。相关拟南芥 *atrbohD/atrbhF* 突变体的研究为 ROS 在保卫细胞 ABA 信号途径中作为第二信使提供了分子证据^[17~20]。在拟南芥保卫细胞中, H_2O_2 是 ABA 信号产生的内源成分。ABA 诱导的 ROS 积累通过质膜钙离子通道的激活诱导气孔关闭^[21]。在拟南芥 *gca2* 突变体中,ABA 诱导植物细胞内 ROS 含量增加,但是在此突变体中不存在 H_2O_2 诱导钙通道活性和气孔关闭现象;随着脱氢抗氧化还原酶的增加,伴随拟南芥胞内 H_2O_2 水平的减少表现为保卫细胞还原态抗坏血酸的增加,结果导致气孔电导度的增加以及植物细胞对 H_2O_2 和 ABA 的敏感度降低^[22]。

3 植物活性氧的危害

当氧化应激发生时,活性氧的重要平衡由于过量的活性氧产生或/和抗氧化剂的损耗而被打破。为了消除氧化剂的影响并保持氧化还原的平衡,细胞必须重新编码一套适合环境变化的自我平衡参数,以此降低细胞受到的氧化损害,通过胞内不断地自我平衡来恢复相关的代谢过程,如编码调节转录因子、抗氧化防御酶和结构蛋白的基因激活或基因沉默^[23]。

非生物胁迫例如亮光、O₃、干旱、盐、重金属和温度能够诱导活性氧的增加从而限制植物体光合成的能力^[24~26]。在盐胁迫过程中,发现活性氧对植物细胞造成许多威胁,导致大分子物质的结构性死亡。为了避免盐胁迫引起的伤害,活性氧动态平衡的自动调节是必需的,通过复杂的氧化剂和清除剂之间的反馈调节来完成。在非生物胁迫下,ROS 清除酶被诱导以降低植物体胞内毒性 ROS 浓度。ROS 在生物与非生物胁迫之中的功能不同,可能是由于激素作用和不同信号途径可能源于不同胁迫期间 ROS 产生和/或积累的地方定位不同^[27]。

在用盐溶液处理拟南芥植株 6 h 或 48 h 的非致死蛋白质组学分析中发现,处理过程中伴随有相关生理过程的反应,拟南芥幼苗根的生长随着盐浓度的增加受到抑制,电解质渗透率也随着胁迫时间的延长呈直线上升,直到 48 h 后胁迫出现的各种指标达到稳定值;通过对胞内蛋白质鉴定和大量的生理过程分析,如能量代谢、活性氧清除和解毒作用、蛋白质翻译、加工和降解、信号转导、激素和氨基酸代谢、细胞壁修饰和细胞骨架重建等,认为可能在缺水和离子毒害状态下,植物会建立细胞内的平衡而达到相互之间的协同作用^[28]。

ROS 不是完全有害的次级代谢产物。当细胞处于正常代谢调节时,ROS 在细胞中表现出关键性的功能。有证据表明:ROS,特别是 O₂⁻ 和 H₂O₂,作为细胞内的信号分子^[6],在不同的细胞代谢中能起到不同的作用,甚至是相反的角色。因此,ROS 的稳态水平是很重要的。这个水平由活性氧产生机制和由细胞氧化剂起作用的精确的调控两者间的相互作用所决定^[6]。

4 植物活性氧清除机制

活性氧清除系统可以清除细胞内的自由基并将活性氧严格控制在稳定的范围。活性氧的调节系统是一个严格又复杂的过程,包含了一个大的基因网络,该基因网络的功能就是避免氧化逆境诱导的细胞伤害和胞内氧化还原状态的紊乱。因此,有氧生物在长期的进化中衍生出了一套非酶/酶防御 ROS 系统,这个系统涉及到一些低分子质量还原性底物如抗坏血酸(ascorbic acid, ASA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、生育酚(tocopherol, 又称维生素 E, Ve)、类黄酮、生物碱和类胡萝卜素以及几个重要的酶类如超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸氧化酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等^[6,29,30]。

4.1 非酶清除系统

氧化还原态抗坏血酸和谷胱甘肽(GSH)在植物体内处于高速的平衡转化过程,这在 ROS 的清除上必不可少。在这个过程中,还原态的抗氧化剂以 NADPH 作为还原力,通过谷胱甘肽酶(GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)来维持平衡;对不同的氧化胁迫环境敏感的突变体,其胞内抗坏血酸盐浓度和谷胱甘肽含量都会发生改变,平衡被打破。与其他细胞间质相比,叶绿体中含有较高浓度的抗坏血酸和谷胱甘肽^[31],这可能与植物受到氧化胁迫后,胞内光合作用受到严重影响相关联;当叶绿体受到氧化胁迫危害时,可能是由于胞内叶绿体氧化还原态发生改变,谷胱甘肽的生物合成明显增加,造成了细胞内的氧化损伤^[32];还原型抗坏血酸的存在能有效缓解细胞内丙二醛(MDA)含量的增加^[33,34],可以有效降低氧化胁迫带来的细胞代谢损伤。

在植物中,多种类型的小分子非酶抗氧化剂成分在抑制 ROS 的代谢中参与了胞内的第二道氧化防御过程。在这些抗氧化剂中,关于生育酚和类胡萝卜素对 ROS 的清除机制尚未了解;然而,在对拟南芥中 β -胡萝卜素羟化酶的过量表达中发现,该酶最终导致叶绿体中叶黄素 II 的增加并且增强了对强光氧化胁迫的耐受性^[35]。

研究发现,谷胱甘肽和抗坏血酸的氧化还原

形式可能作为细胞内化学和发育的中心来执行氧化还原信号的传递。结合这些转导信息与分子过程的研究,可以将活性氧物质与抗氧化物之间的平衡通过生物技术方法达到稳态。

4.2 酶清除系统

酶清除系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和过氧化氢酶(CAT)。植物中有许多基因编码 SOD、APX 和 CAT 等氧化物酶;它们的不同形式被专一性地靶标到了叶绿体、线粒体、过氧化物酶体以及胞质和质外体;如 GPX 定位于胞质, CAT 则主要定位于过氧化物酶体。

4.2.1 超氧化物歧化酶 已有不同类型的超氧化物歧化酶(SOD)在多种组织器官中得到分离鉴定^[23,36]。其中一种类型的活性位点包括 Cu(ii)和 Zn(ii),另一个是 Mn(iii),第三个为 Fe(iii),第四个是 Ni(ii/iii)。大多数生物体的细胞成分中仅仅含有其中一种类型的 SOD,但是植物中每个类型都有多种编码形式^[23]。叶绿体中有 4 种形式的超氧化物歧化酶:一种 CuZnSOD(CSD2)和三种 FeSOD。SOD 作为 ROS 防御系统的第一条防线,将超氧化物歧化为 H_2O_2 , APX、GPX 和 CAT 接着清除 H_2O_2 。与 CAT 相比较, APX 需要通过抗坏血酸和 GSH 再生系统来完成,即抗坏血酸-谷胱甘肽循环。

研究证实,几种过氧化物酶的过量表达的转基因植株对氧化胁迫的耐性得到提高。豌豆叶绿体 SOD 在烟草中的表达则增加了烟草对甲基紫精诱导的细胞膜损坏的抗性。此外,过量表达小麦 SOD 的转基因烟草在 NaCl 处理下,转基因植株的生理指标与对照相比受到影响不明显,其生长快、SOD 活性明显增加、可溶性糖及蛋白质含量也有所提高,减轻了烟草在胁迫诱导下细胞膜质的伤害程度,增强了植株抵御胁迫的能力^[37]。

4.2.2 抗坏血酸过氧化物酶 在叶绿体中至少含有 3 种类型的抗坏血酸过氧化物酶同工酶:一种定位于类囊体上,一种在腔内,一种在基质中。最近发现基质抗坏血酸过氧化物酶既定位在基质中又定位于线粒体中^[38]。这些参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环的过氧化物酶能够还原氧化态的抗坏血酸和谷胱甘肽,以达到活性氧的代谢平衡。

在对氧化胁迫下 APX 同工酶的表达情况进

行分析时发现,只有经强光及甲基紫精(methyl viologen, MV)处理的菠菜叶片,其细胞质 APX 的转录水平显著升高,而叶绿体及微体 APX 的表达却不受影响^[39];同样发现经强光及 MV 处理的豌豆、玉米、水稻及拟南芥细胞质 APX 转录水平也有明显升高^[40]。

4.2.3 过氧化氢酶 过氧化氢酶(CAT)。是 1811 年 Thenard 在植物和动物组织中首先发现。线粒体在呼吸过程产生 H_2O_2 , 由过氧化氢酶来降解^[41]。叶组织中的过氧化物酶体含有 3 种过氧化氢酶,一种是抗坏血酸氧化酶的同工酶,结合在过氧化物酶体的外膜,还含有其他参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环的酶。

在 SOD 的作用下 O_2^- 歧化为 H_2O_2 , 引起更高毒性的 $OH\cdot$ 。幸运的是,过氧化氢酶随之降解 H_2O_2 为 O_2 和 H_2O 。过氧化物酶主要的但又不是很精确地定位于过氧化物酶体上,在这类过氧化物酶体上有许多 H_2O_2 产生酶残基。因此,对 H_2O_2 表现出强吸附性的过氧化氢酶,在 H_2O_2 扩散到其他细胞中时对清除 ROS 起着重要作用^[6]。

细胞中氧化胁迫的程度由超氧化物、 H_2O_2 和羟基等的含量所决定,因此, SOD、APX 和 CAT 的活性平衡对抑制细胞中的毒性 ROS 起着至关重要的作用。ROS 清除酶的平衡改变后将诱导补偿机制,例如,当 CAT 活性在植物中降低, APX 和 GSH 等清除酶活性受到上调。意想不到的影响也可能发生,当和 CAT 受到抑制的植物相比,植物中 APX 和 CAT 都降低了对氧化胁迫的敏感性^[42],因为这些植物的光合作用减弱, APX 和 CAT 的减少可能导致 ROS 产生的抑制。在叶绿体内的光合作用电子转运过程中, H_2O_2 不断地产生,同时在扩散出叶绿体外的过程中又不断地被清除,使得整个系统的 H_2O_2 浓度达到平衡状态。在该过程中存在有三种类型与光合作用相关的 H_2O_2 清除过程:① Rubisco 氧化反应;② PS I 电子转运的分子氧还原过程;③ 呼吸作用^[43]。

因此可以从多方面推测,植物在胁迫环境下的抗性是否提高不仅仅是单一方面的原因,可能包括有自然胁迫强度、同工酶过量表达、细胞内目标靶点、叶龄和生长环境等的协同影响^[44~46]。

5 提高作物抗氧化能力的研究

活性氧的功能与危害在作物品质研究上具有

非常重要的指导意义,因此,更深入地了解相关基因的网络调节过程,对进一步在作物上应用研究是不可忽视的。

最近研究发现,在植物体内的诱导蛋白 HRP1 诱导了许多体内氧化代谢反应,当该蛋白在水稻中过量表达后,诱导了体内 ABA 含量的增加,同时发生气孔关闭等行为;同时发现该转基因水稻在持水性、游离脯氨酸含量以及可溶性糖等生理生化指标上有明显的增加,抗氧化能力得到了增强,使水稻具有较强的活性氧清除能力,特别是在干旱胁迫下诱导了 Mn-SOD 蛋白表达量的增加^[47]。同样,在对胡椒受到寒冷氧化胁迫的研究中发现,植株通过调节自身氧化代谢来抵御非生物氧化胁迫,在此过程中,观察到可溶性活性氧非酶清除剂,如抗坏血酸和谷胱甘肽,以及主要 NADPH-脱氢酶的活性被诱导,增强了植物的非胁迫氧化耐受性^[48]。

在病毒防御过程中,植物有自己的一套活性氧清除机制。在胞内,多种防御反应被诱导产生,其中包括活性氧的产生释放。在水稻稻瘟病研究中,克隆得到编码谷胱甘肽过氧化物酶结构域的基因 *MoHYR1*,研究获得了该基因的敲除突变体,突变体植株因大量 H_2O_2 的增加,生长受到抑制;对产生的 ROS 耐受能力降低;通过比较突变体中该基因的表达情况,结果表明 *HYR1* 基因编码的是重要的真菌体外抵抗 H_2O_2 的蛋白质,并且在植物中直接关系到真菌对植物体的毒害能力^[49]。

在豌豆 *NDPK2* 和 *NDPK3* 双突变体研究中,突变体对活性氧的抗性增强,包括单价态氧等活性氧物质,同时检测到胞内类胡萝卜素、花青素等非酶清除剂的产生增加,降低了单价态氧的浓度。单价态活性氧浓度的降低对农作物(例如豌豆、大豆、水稻、小麦、大麦和甜菜)产量的提高有很大帮助,而且环境中 CO_2 浓度也有所降低^[50]。

在水稻晚花发育研究中发现, *MADS3* 蛋白调节胞内活性氧的平衡状态。在晚花发育过程中, *mads3-4* 突变体表现出氧化胁迫的相关表型。基因芯片分析结果显示,突变体花药中许多相关基因的表达水平发生改变,其编码蛋白主要存在于活性氧的稳态过程中,因此,为 *MADS3* 作为一个关键的转录调节因子,通过相关蛋白来调节作物胞内活性氧水平^[51]。

水稻维生素 E 环化酶 (*OsVTE1*) 在如高盐、

H_2O_2 、干旱、冷、ABA 和水杨酸等非生物胁迫中可被诱导;转化获得的 *OsVTE1-RNAi* 转基因植株对盐胁迫非常的敏感;与野生型水稻植株相比较发现, *OsVTE1* 基因过量表达表现出对盐胁迫更强的耐受性,并且检测出胞内 H_2O_2 浓度相对较低,不足以对水稻生长发育及产量产生重大影响^[52]。

Zhang 等^[53] 研究发现,在玉米中编码 bZIP 转录因子的 *ABP9* 基因可以被 ABA、 H_2O_2 、干旱和盐等胁迫所诱导。在转基因拟南芥中, *ABP9* 的组成型表达增强了植株对氧化胁迫的抗逆性。进一步研究发现,该基因组成型表达可降低胞内 ROS 水平,同时伴随有许多抗逆相关基因及调节胞内 ROS 基因的相关过程,这些代谢反应都从不同方面缓和了植株受到的氧化损害以及细胞死亡。

各项研究证实,在代谢胁迫过程中,活性氧和重要的信号转导分子一样在植物非生物胁迫中起着重要作用,活性氧信号网络系统控制植株生长发育和相关胁迫反应,降低了作物在非生物胁迫环境下受到的严重影响。

6 展望

伴随着自然环境的逐渐恶化,了解并研究氧化胁迫过程中植物的代谢,并以此为基础的技术研究应用,使最近几年在抗逆境植物的研究上有了突破性进展。例如,实践证明抗坏血酸制剂对环境、人畜无害,可获得具有高效抗逆的功能植株,从而达到优质高产的目的。通过生物技术改造的运用将高效有利的抗逆基因、调节因子或者启动元件等克隆转化到作物中表达,使作物在原有基础上,提高了逆境下的代谢平衡及耐受能力。

尽管尚未发现所有的胁迫反应基因,但是已逐步了解整个抗氧化网络系统中部分重要调控元件的功能及作用。目前需要进一步深入研究的便是将这些抗氧化调控元件在抗氧化网络系统中的功能及作用系统地联系起来,了解这些元件在不同的氧化胁迫中所起的作用,从而获得生物所需要的重要功能。

参考文献

- [1] Sikka S C, Rajasekaran M, Hellstrom W J. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility [J]. J. Androl., 1995, 16(6):464-468.

- [2] Asada K. Production, scavenging and action of active oxygen [J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 1988, 33 (16): 2659 – 2664 (in Japanese).
- [3] Asada K. The water – water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons[J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1999, 50: 601 – 639.
- [4] Hammond-Kosack K E, Jones J D. Resistance gene-dependent plant defense responses [J]. Plant Cell, 1996, 8 (10): 1773 – 1791.
- [5] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. Trends Plant Sci., 2002, 7(9): 405 – 410.
- [6] Scandalios J G. The rise of ROS [J]. Trends Biochem. Sci., 2002, 27(9): 483 – 486.
- [7] Hernández J A, Ferrer M A, Jiménez A, *et al.* Antioxidant systems and O_2^-/H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J]. Plant Physiol., 2001, 127(3): 817 – 831.
- [8] Kwak J M, Nguyen V, Schroeder J I. The role of reactive oxygen species in hormonal responses [J]. Plant Physiol., 2006, 141(2): 323 – 329.
- [9] Joo J H, Bae Y S, Lee J S. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism[J]. Plant Physiol., 2001, 126(3): 1055 – 1060.
- [10] Moseyko N, Zhu T, Chang H S, *et al.* Transcription profiling of the early gravitropic response in *Arabidopsis* using high-density oligonucleotide probe microarrays[J]. Plant Physiol., 2002, 130(2): 720 – 728.
- [11] Torres M A, Dangel J L, Jones J D. *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, 99(1): 517 – 522.
- [12] Torres M A, Jones J D, Dangel J L. Pathogen-induced, NADPH oxidase-derived reactive oxygen intermediates suppress spread of cell death in *Arabidopsis thaliana* [J]. Nat. Genet., 2005, 37(10): 1130 – 1134.
- [13] Grant J J, Loake G J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance [J]. Plant Physiol., 2000, 124(1): 21 – 29.
- [14] Dangel J L, Jones J D. Plant pathogens and integrated defence responses to infection [J]. Nature, 2001, 411 (6839): 826 – 833.
- [15] Levine A, Tenhaken R, Dixon R, *et al.* H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response[J]. Cell, 1994, 79(4): 583 – 593.
- [16] Desikan R, Hanxoxk J T, Bright J, *et al.* A role for ETR1 in hydrogen peroxide signaling in stomatal guard cells[J]. Plant Physiol., 2005, 137(3): 831 – 834.
- [17] Leung J, Giraudat J. Absciscic acid signal transduction[J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1998, 49: 199 – 222.
- [18] Schroeder J I, All G T, Hugouvieux V, *et al.* Guard cell signal Transduction [J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 2001, 52: 627 – 658.
- [19] Hetherington A M, Woodward F I. The role of stomata in sensing and driving environmental change [J]. Nature, 2003, 424 (6951): 901 – 908.
- [20] Fan L M, Zhao Z, Assmann S M. Guard cells: a dynamic signaling model [J]. Curr. Opin. Plant Biol., 2004, 7(5): 537 – 546.
- [21] Pei Z M, Murata Y, Benning G, *et al.* Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells [J]. Nature, 2000, 406(6797): 731 – 734.
- [22] Chen Z, Gallie D R. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement [J]. Plant Cell, 2004, 16(5): 1143 – 1162.
- [23] Scandalios J G. Oxidative stress and defense mechanisms in plants: introduction [J]. Free Radic Biol. Med., 1997, 23 (3): 471 – 472.
- [24] Conklin P L, Last R L. Differential accumulation of antioxidant mRNAs in *Arabidopsis thaliana* exposed to ozone [J]. Plant Physiol., 1995, 109(1): 203 – 212.
- [25] Richards K D, Schott E J, Sharma Y K, *et al.* Aluminum induces oxidative stress genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiol., 1998, 116(1): 409 – 418.
- [26] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways [J]. Curr. Opin. Plant Biol., 2000, 3(3): 217 – 223.
- [27] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. Annu. Rev. Plant Biol., 2004, 55: 373 – 399.
- [28] Jiang Y, Yang B, Harries N S, *et al.* Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots [J]. J. Exp. Bot., 2007, 58(13): 3591 – 3607.
- [29] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, *et al.* Reactive oxygen gene network of plants [J]. Trends Plant Sci., 2004, 9 (10): 490 – 498.
- [30] Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning) [J]. Free Radic Res., 1999, 31(4): 261 – 272.
- [31] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control [J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1998, 49: 249 – 279.
- [32] Creissen G, Firmin J, Fruer M, *et al.* Elevated glutathione biosynthetic capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress [J]. Plant Cell, 1999, 11(7): 1277 – 1292.
- [33] 罗建平, 顾月华, 王圣兵, 等. 抗坏血酸对沙打旺原生质体分离和培养中膜损伤及相关酶活性的影响 [J]. 植物生理学报, 1999, 25(4): 343 – 349.
- [34] 张 兰, 郑永华, 苏新国, 等. 抗坏血酸处理对蚕豆保鲜的效果 [J]. 南京农业大学学报, 2006, 35(3): 83 – 87.
- [35] Davison P A, Hunter C N, Horton P. Overexpression of beta-carotene hydroxylase enhances stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2002, 418(6894): 203 – 206.
- [36] Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases [J].

- Annu. Rev. Biochem., 1995, 64: 97–112.
- [37] 张海娜, 李小娟, 李存东, 等. 过量表达小麦超氧化物歧化酶(SOD)基因对烟草耐盐能力的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(8): 1403–1408.
- [38] Davletova S, Rizhsky L, Liang H, *et al.*. Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2005, 17(1): 268–281.
- [39] Yoshimura K, Yabuta Y, Ishikawa T, *et al.*. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses[J]. Plant Physiol., 2000, 123(1): 223–234.
- [40] Storozhenko S, De Pauw P, Van Montagu M, *et al.*. The heat-shock element is a functional component of the *Arabidopsis* APX1 gene promoter[J]. Plant Physiol., 1998, 118(3): 1005–1014.
- [41] Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs [J]. Physiol. Rev., 1979, 59(3): 527–605.
- [42] Rizhsky L, Hallak-Herr E, Van Breusegem F, *et al.*. Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase[J]. Plant J., 2002, 32(3): 329–342.
- [43] Keller T, Damude H G, Werner D, *et al.*. A plant homolog of the neutrophil NADPH oxidase gp91phox subunit gene encodes a plasma membrane protein with Ca^{2+} binding motifs [J]. Plant Cell, 1998, 10(2): 255–266.
- [44] Van Camp W, Capiou K, Van Montagu M, *et al.*. Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts [J]. Plant Physiol., 1996, 112(4): 1703–1714.
- [45] Gupta A S, Heinen J L, Holaday A S, *et al.*. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90(4): 1629–1633.
- [46] Slooten L, Vancamp W, Vanmontagu M, *et al.*. Factors Affecting the enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing manganese superoxide dismutase in the chloroplasts [J]. Plant Physiol., 1995, 107(3): 737–750.
- [47] Zhang L, Xiao S, Li W, *et al.*. Overexpression of a harpin-encoding gene *hpf1* in rice enhances drought tolerance [J]. J. Exp. Bot., 2011, doi:10.1093/jxb/err131.
- [48] Airaki M, Leterrier M, Mateos R M, *et al.*. Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress [J]. Plant Cell Environ., 2011, doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02310.X.
- [49] Huang K, Czymbek K J, Caplan J L, *et al.*. HYR1-mediated detoxification of reactive oxygen species is required for full virulence in the rice blast fungus [J]. PLoS Pathog., 2011, 7(4): e1001335.
- [50] Hasunuma K, Yoshida Y, Haque M E, *et al.*. Global warming, plant paraquat resistance, and light signal transduction through nucleoside diphosphate kinase as a paradigm for increasing food supply [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol., 2011, doi:10.1007/S00210-011-0640-Z.
- [51] Hu L, Liang W, Yin S, *et al.*. Rice MADS3 regulates ROS homeostasis during late anther development [J]. Plant Cell, 2011, 23(2): 515–533.
- [52] Ouyang S, He S, Liu P, *et al.*. The role of tocopherol cyclase in salt stress tolerance of rice (*Oryza sativa*) [J]. Sci. China: Life Sci., 54(2): 181–188.
- [53] Zhang X, Wang L, Meng H, *et al.*. Maize ABP9 enhances tolerance to multiple stresses in transgenic *Arabidopsis* by modulating ABA signaling and cellular levels of reactive oxygen species [J]. Plant Mol Biol., 2011, 75(4–5): 365–378.