

活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中的作用*

董海丽, 井金学

(西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 活性氧和一氧化氮是生物体内普遍存在的信号分子, 参与多种生理功能的调控, 对生物体正常生长发育具有重要意义。最近的研究认为, 在环境条件胁迫下, 植物体也能通过类似哺乳动物体内NADPH 氧化酶和一氧化氮合酶途径产生活性氧和一氧化氮。活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中具有直接杀伤病原物、参与细胞壁的氧化交联、激活抗病相关基因的表达和依赖转录的防卫反应、诱导寄主细胞过敏性坏死等重要作用。本文据近年的研究结果对以上几个方面作一综述。

[关键词] 活性氧; 一氧化氮; 抗病反应; 氧化交联; 过敏性坏死反应

[中图分类号] S432.2⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)01-0161-06

近十几年来, 活性氧(Reactive oxidative species, ROS)和一氧化氮(Nitric oxide, NO)因在生物体内广泛存在并具有多种生理功能而引起人们的极大关注^[1]。广义的ROS是活泼的氧自由基与具有氧自由基反应特性的其他含氧物质的总称, 故又称活性氧类, 包括以自由基形式存在和不以自由基形式存在的具高度活性的分子氧的代谢中间产物, 即广义的ROS包括氧自由基和氮自由基。但通常人们所使用的是其狭义概念, 即通常所指的ROS仅指氧自由基(不包括氮自由基在内), 本文也沿用其狭义概念。

动植物研究结果发现^[2,3], 过量的ROS和NO可引起细胞大分子的氧化损伤, 但在一定浓度范围内却可以作为关键信号和效应分子参与一系列生理过程, 如酶及转录因子的激活、基因的表达、血管松弛、神经传导及先天性免疫反应等。随着各种细胞培养体系和植物与病原物互作体系的建立, 人们对ROS和NO在植物体中的产生和作为信号物质参与植物抗病反应及其他生理代谢调节的作用已有了较多的了解。现就其在植物体中的产生和在植物抗病反应中的作用作一简述, 以期对ROS和NO的认识和利用提供参考。

1 植物体内ROS和NO的产生途径

1.1 植物内源ROS的产生途径

1983年, Doke等^[4]发现无毒菌系 *Phytophthora*

infestans 接种马铃薯块茎可以引起超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)和过氧化氢(H_2O_2)的快速产生, 并引起寄主细胞过敏性坏死(Hypersensitive response, HR), 由此提出 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 可能是一类不同于以往的信号物质, 从而掀起了其在植物中的研究热潮。

在植物正常代谢过程中, ROS可由多种途径产生。最近的研究^[5]发现, 位于细胞膜上的NADH和NADPH氧化酶、非胞质的过氧化物酶、胺氧化酶和草酸盐氧化酶以及来源于线粒体、叶绿体和过氧化氢体的原生质体等都能产生ROS, 其中与嗜中性粒细胞相似的NADPH氧化酶途径在植物病原物互作体系中受到了极大的关注。用非亲和菌系 *P. infestans* 或来源于细胞壁的诱导子接种马铃薯块茎切片, 可以激活细胞膜上NADPH依赖型的超氧阴离子产生体系^[6,7]。一定浓度的碘二苯(Diphenylene iodonium, DPI)可以抑制嗜中性粒细胞NADPH氧化酶的活性从而抑制 H_2O_2 的产生^[8], 用相似浓度的DPI处理大豆细胞培养系, 发现其具有相似的效果^[9,10]。Tanhaken等^[11]在Western杂交试验中发现, 嗜中性粒细胞NADPH氧化酶一种特异肽的多克隆抗体, 可与大豆微粒体膜上分子质量相似的一条多肽链产生免疫交叉反应。因此, 尽管植物体中ROS的来源还存在很多争议, 但人们已倾向于认为, 植物体中的确存在着与动物相似的ROS产生体系——NADPH氧化酶途径, 并且认为该途径至少在植物抗病反应中具有重要意义。

* [收稿日期] 2002-10-16

[基金项目] 国家“十五”科技攻关项目“小麦病虫害综合防治技术研究”(2001BA509B03)

[作者简介] 董海丽(1977-), 女, 山东青岛人, 在读硕士, 主要从事植物抗病性研究。

1.2 植物内源NO的产生途径

1980年, Furchgott等^[12]发现乙酰胆碱(Ach)作用于血管内皮细胞, 可使其产生舒张血管平滑肌的物质, 该物质被命名为内皮衍化舒张因子(EDRF)。Palmer等^[13]证明内皮释放的NO可以解释EDRF的生物学作用, 1988年证实NO即为EDRF。自此, NO作为一种EDRF引起了人们的高度重视, 成为当今生物研究的热点, 并被《Science》评为1992年的年度“明星分子”。

研究发现^[14, 15], 植物不仅可以利用大气和土壤中的NO, 而且能够释放一定量的NO。例如, 亚硝酸盐与还原剂(如抗坏血酸等)在pH小于4.0时可自动释放NO^[11]。植物体还可以通过氮固定、去硝化或呼吸作用将N₂O的氧化副产物——NO释放到大气中^[16]。此外, 植物体内氮代谢的关键酶——硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)可以NADH/NADPH作为电子供体, 通过催化硝酸盐和亚硝酸盐的单电子还原反应来合成NO^[17]。

植物体内NO产生的另一酶促途径, 即植物体中是否存在类似动物的一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)已经成为此领域研究的焦点。越来越多的证据表明, 植物体中很可能存在这种酶。接种TMV后, Durner等^[18]在抗病植株中发现NOS活性升高, 感病植株中却没有这种现象, 在大豆细胞培养系和拟南芥中也得到了相似的结果。Huang等^[19]发现, NOS抑制剂可以缓和拟南芥和经过病原菌诱导处理的大豆悬浮细胞发生超敏反应和细胞程序性死亡(Programmed cell death, PCD)的进程。另外, 用来源于兔脑或小鼠噬菌体的NOS进行抗体免疫杂交分析表明^[20], 烟草和玉米提取物中都有很高的NOS活性。因此有人提出, NO和NOS在激活植物抵御病原菌的抗病反应中可能起主导作用。但到目前为止, 还没有克隆到任何植物NOS基因, 植物基因文库中也找不到与哺乳动物NOS基因相似的序列。有关NO在植物体内的产生机制还存在很多争议^[21, 22]。

2 ROS与NO在植物抗病反应中的作用

ROS通常被认为是植物正常代谢过程中的有毒副产物, 随着对其研究的深入, 发现其在植物与病原物互作的防卫反应中具有重要作用。首先, ROS具有直接的抗微生物功能, 其存在本身就可对病原菌造成伤害^[23, 24]; 其次, ROS还参与细胞壁木质化

及富含羟脯氨酸的糖蛋白的交联, 这有利于抵御病原菌侵染^[25]; 另外, ROS很可能作为第二信使调控抗病相关基因的表达, 并启动植物抗毒素合成基因的转录, 引起过敏性细胞死亡^[26, 27]。其中, H₂O₂是近年来ROS众多分子中倍受关注的一个。

对植物体内NO的研究是最近几年才开始的, 对其在植物体中的存在形式和功能了解得还很少。先前的研究发现, NO具有调节植物生长发育^[28]和植保素积累的功能^[29]。1998年, Delledonne和Durner的研究^[28, 30]首次确立了NO在调控植物生理病理反应中的地位。

2.1 直接杀伤病原物

Wu等^[31]在对真菌培养液中所含物质的分离筛选中, 发现了一种有效的抗菌蛋白, 这种蛋白就是葡萄糖氧化酶。体外试验发现, 这种蛋白可与O₂反应产生H₂O₂, 从而有效抵抗多种植物病原真菌和细菌。将黑曲霉(*Aspergillus niger*)的葡萄糖氧化酶基因导入马铃薯中, 发现后者抵抗胡萝卜欧氏杆菌(*Erwinia caratovora*)的能力增强^[31]。另外, 在接种丁香假单胞菌烟草变种(*P. syringae* p.v. *Tabaci*)的烟草叶片上喷洒外源O₂⁻清除剂, 可使细菌在较大程度上恢复活性^[32], 而且H₂O₂也可抑制多种真菌病原物孢子的萌发^[33]。而NO可与O₂⁻反应产生毒性更强且具有膜通透性的过氧亚硝基(ONOO⁻), 后者不仅可以杀伤病原物, 而且对脂类、蛋白和DNA都有损害作用^[34, 35]。值得一提的是, 病原物对此并不是消极接受的, 其也已进化到能够产生一系列酶并利用抗氧化剂和自由基清除剂等物质, 以抵抗寄主的这些抗病反应, 病原物与寄主互作的结果表现为寄主是抗病还是感病。

2.2 细胞壁的氧化交联

1992年, Bradley等^[36]在研究经诱导处理的大豆和菜豆细胞表面的早期反应中, 发现了两种固化的细胞壁蛋白, 并命名为p33和p100。这种固化现象开始于诱导后2~5 min, 并在20~30 min完成。在接种非亲和菌系*P. syringae* p.v. *glycinea*的菜豆细胞中, 也发现了p33和p100的固化现象, 而在亲和反应中却没有这种现象^[37]。p33是一种富含酪氨酸和脯氨酸的蛋白, 研究发现这种蛋白的固化是非亲和反应诱导的H₂O₂引发的^[36]。H₂O₂抑制剂——过氧化物酶(Catalase, CAT)或抗坏血酸和外源H₂O₂试验都证实了这一结论^[36]。p33的低分子质量降解产物和p33二聚体、四聚体为该蛋白的氧化交

联提供了强有力的证据^[36], 试验发现^[37], 用真菌诱导子处理, 可提高细胞壁对微生物分泌的细胞壁降解酶的抵抗能力, 从而在诱导后 30 min 内抑制原生质的释放。

细胞壁蛋白的氧化交联就像一个自动封闭的轮胎, 可以在依赖转录的防卫反应开始之前减缓病原物的入侵和扩展速度, 并将病原物限定在自杀性的寄主细胞中。有趣的是, 真菌诱导子和机械损伤都抑制编码含低酪氨酸的细胞壁结构蛋白基因的表达, 但却刺激编码富含酪氨酸的基因表达^[38, 39]。这种现象可以提高细胞壁进行氧化交联的能力, 以防止二次侵染等。系统观察发现^[38], 细胞壁中羟脯氨酸和过氧化物酶的水平都有提高。另外, 用非亲和菌系 *Puccinia coronata* f. sp 接种大麦叶片, 发现在病原菌试图侵染的位点都会引起细胞壁的变化^[40]。

2.3 基因激活和依赖转录的防卫反应

氧爆发所产生的 ROS, 不仅启动了细胞壁蛋白的氧化交联, 还作为可扩散的信号分子诱导了临近细胞防卫基因的表达。抗氧化酶或自由基清除剂可以降低植保素的积累, 而外源 H_2O_2 可以在没有激活子的情况下刺激植保素的积累, 但实际上植保素的积累与氧爆发途径是分离的^[41]。一般来说, 抗氧化处理对植保素积累的影响随物种不同而不同, 调控植保素积累的主要途径是不依赖氧爆发的。谷胱甘肽-S-转移酶 (Glutathione-S-transferase, GST) 和谷胱甘肽过氧化物酶是细胞内重要的保护酶类。研究发现^[42], 二者的编码基因可被外源 H_2O_2 诱导而快速产生; 而 DPI, CAT, H_2O_2 清除剂处理或调控氧爆发特定的信号转导途径都可扰乱诱导子对其的诱导作用。

H_2O_2 是一种小的可扩散分子, 虽然接种无毒菌系的大豆细胞引起的细胞坏死只发生在挑战细胞上, 但在与这些挑战细胞以 2 层透析膜相隔的未受侵染细胞中也有 *gst* 转录产物的积累。透析膜之间 CAT 的存在, 可以抑制未受侵染细胞中 *gst* 和谷胱甘肽过氧化物酶基因的诱导^[42], 因此有人提出, H_2O_2 是植物抗病反应中相关基因激活的主要信号物质。在动物细胞中, H_2O_2 是免疫和炎症反应中的激活子, 此反应由转录因子 NF- κ B 中介, 但还未在植物细胞发现 NF- κ B 同源物的存在。

研究发现^[30], 在植物抗病反应中, 植物体内 NO 主要通过依赖于 cGMP (环化鸟苷酸) 和不依赖于 cGMP 两条途径介导其信号转导作用。前者通过与其可溶性受体鸟苷酸环化酶 (GC) 的铁离子结合, 改

变 GC 的立体结构从而提高其活性, 并进一步导致细胞内第二信使 cGMP 生成的增加, 激活依赖于 cGMP 的蛋白激酶, 最终导致 PAL (Phenylalanine ammonia lyase, 氨基联苯氨裂解酶) 和 PR-1 (Pathogenesis-related 1 gene, 病程相关基因-1) 等抗病相关基因的表达^[30]。NO 还可能通过 cGMP 诱导 cADPR 合成, 调节体内钙离子参与植物抗病反应。在不依赖于 cGMP 途径中, NO 通过抑制剂顺乌头酸酶等含非血红素铁类酶的活性来参与植物抗病反应。一方面, NO 抑制线粒体顺乌头酸活性可导致柠檬酸的积累, 进而诱导与抗病有关的交替氧化酶, 同时植物胞质顺乌头酸酶同工酶被 NO 氧化失活后可能转变为铁调节蛋白, 进而调节体内铁稳态来影响与植物抗病有关的 OH $\cdot$ 的生成^[43]。另一方面, NO 还可能通过影响过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和细胞色素 C 氧化酶等含血红素铁的酶活性, 参与植物体内的生理代谢^[44]。

2.4 过敏性坏死反应

过敏性坏死反应 (HR) 是一个主动的过程, 病斑模拟突变体在无病原菌存在时出现的并发性细胞死亡说明其是由基因控制的。玉米抗病基因 R_{p1} 特定位点突变体的表型与 *m lo* 为隐性时接种白粉病菌的大麦相同^[45]。在接种 *P. syringae* p.v. *syringae* 的烟草细胞中, 具有调节功能的 *h mA* 基因的突变会造成烟草细胞中 H_2O_2 的积累, 但只引起微弱的 HR 反应, 表明单独氧爆发本身可能并不引发寄主细胞的过敏性死亡, HR 反应需要 ROS 与其他细胞因子的互作^[46]。有的研究者^[47]发现, 通过调控外源氧化剂的水平, 可以控制 HR 反应的强度, 从而提出氧爆发和细胞坏死之间有因果关系。因此, 有人提出^[42], 当不同的无毒信号诱导时, 寄主可通过几个不同的系统阻遏细胞的坏死。

研究者在很多试验体系中都发现, 只有 H_2O_2 积累到能检测的程度寄主才会发生过敏性死亡, 因此, 人们推测植物中最可能启动 HR 的因子是氧爆发。然而, Delledonne 等^[48]在大豆细胞 HR 反应过程中发现, 单独 NO 或 ROS 的产生都不能引起细胞的过敏性死亡, 只有当 NO 和 ROS 的产生处于一定程度的平衡时, 才会激活 HR。另外, 他还发现^[48], 与 NO 互作引起过敏性细胞死亡的信号分子是由 SOD 催化 O_2^- 产生的 H_2O_2 , 而非 O_2^- 本身。另外, 植物体内 NO 和 H_2O_2 也可能相互调节彼此含量的消长, 且与植物细胞不同的生理条件有关, 不论是 ROS 还是 NO, 单独过量产生时都会抑制 HR 的发生。因此

提出, 尽管动植物抗病过程中有着非常相似的信号分子——ROS 和 NO, 但这些信号分子引发细胞死亡的途径却可能大相径庭。

3 植物体中的其他信号分子

ROS 和 NO 亦可与水杨酸(Salicylic acid, SA) 共同作用, 通过激活 SA 信号转导途径来增强植物抗病防卫反应。ROS 可与 SA 协同作用, 通过阻滞细胞周期进行而诱导细胞程序性死亡^[49]。烟草叶片经 NO 处理后, 可迅速诱导 SA 含量的增加, 而 SA 是诱导 PR-1 基因表达所必需的信号, 它也能通过选择性机制来介导和增强 NO 的作用。

脱落酸(Absciscic acid, ABA) 是普遍存在于高等植物的内源生长调节物质。近几年的研究发现^[50], ABA 是防御基因诱导表达信号转导过程中的主要组分, 调控着 150 多种基因的表达。ABA 对基因的表达调控分为 ABA 依赖型和 ABA 非依赖型两类。ABA 可通过多种途径引起胞内物质代谢的变化并诱导相关基因的表达, 如蛋白可逆磷酸化、第二信使(Ca^{2+} 、磷酸激醇、阴离子通道与 H^{+} 等) 等^[51]。另外, ABA 还影响着植物体内茉莉酸(Jasmonic acid, JA) 和乙烯(Ethylene) 的合成及含量, 并通过后者间接地调控相关基因的表达^[52]。

除以上信号分子外, 细胞分裂素、硫堇、磷酸激

醇和钙调节蛋白等物质也参与了植物抗病反应中相关基因的表达, 他们在植物体中形成非常复杂的信号传递网络, 并通过多种途径调控植物体相关基因的表达, 在植物的正常发育和抗逆反应中具有重要作用。

4 结 语

ROS 和 NO 是近几年生命科学的研究热点之一, 它们不仅在生物体中广泛存在, 影响着生物的生长发育、组织分化, 而且在生物体抗病反应过程中担任着关键角色。进一步探讨二者在细胞中的产生途径和作用机制, 对了解继而控制生物生长发育和免疫反应具有重要意义。

有关植物体中 ROS 和 NO 的研究才刚刚开始, 对其了解得还很少。ROS 和 NO 在植物体中的存在是毫无疑问的, 问题是它们究竟是如何产生的? 除了已经发现的信号分子, 如乙烯、水杨酸、茉莉酸、脱落酸等外, 植物体中是否还存在其他信号分子? 如果存在, 他们是什么? 他们又是如何与 ROS 和 NO 共同形成细胞信号转导网络的? 另外, ROS 和 NO 分子在植物体内的长距离运送和信号猝灭机制至今还有很多不清楚之处, 其在植物中具体的信号传导途径、作用靶位点以及与其他信号分子的互作而产生的信号级联放大机制等, 也有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Bolwell G P. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses[J]. Curr Opin in Plant Biol, 1999, 2: 287- 294
- [2] Jabs T, Dangel J L. Elicitor-stimulated fluxes and O_2^- from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin syntheses in barley[J]. Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 4800- 4805
- [3] Schmidt H W, Walter U, Bolwell G P. NO at work[J]. Cell, 1994, 78: 919- 925
- [4] Doke N. Involvement of superoxide anion generation in hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans*[J]. Physiol Plant Pathol, 1983, 23: 345- 347
- [5] Bolwell G P, Wojtaszek P. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—a broad perspective[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1997, 51: 347- 366
- [6] Doke N. Generation of superoxide anion by potato tuber protoplasts during the hypersensitive response to hyphal cell wall components of *Phytophthora infestans*[J]. Physiol Plant Pathol, 1995, 27: 311- 322
- [7] Doke N, Miura Y. In vitro activation of NADPH-dependent O_2^- generating system in a plasma membrane-rich fraction of potato tuber tissues by treatment with an elicitor from *Phytophthora infestans* or with digitonin[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1995, 46: 17- 28
- [8] Babior B M. The respiratory burst oxidase[J]. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol, 1992, 65: 49- 95
- [9] Desikan R, Hancock J T, Coffey M J, et al. Generation of active oxygen in elicited cells of *Arabidopsis thaliana* is mediated by a NADPH oxidase-like enzyme[J]. FEBS Lett, 1996, 382: 213- 217
- [10] Levine A, Tenhaken R, Dixon R A, et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive response [J]. Cell, 1994, 79: 583- 593
- [11] Tenhaken R, Levine A, Brisson L F, et al. Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1995, 92: 4158- 4163
- [12] Furchgott R F, Zawadzki J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine[J].

- Nature, 1980, 288: 373- 376
- [13] Palmer R M , Ferrige A G . Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor[J]. Nature, 1987, 327: 524- 528
- [14] Durner J, Klessing D F . Nitric oxide as a signal in plants[J]. Curr Opin Plant Biol, 1998, 2: 369- 374
- [15] Yamasaki H, Sakihama Y, Takahashi S . An alternative pathway of nitric oxide production in plants: one features of an old enzyme[J]. Trends in Plant Science, 1999, 2: 128- 129
- [16] Conney R V , Harwood P J, Marocco A , et al . Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lotus albus* [J]. FEBS Lett, 1996, 398, 159- 164
- [17] Ribeiro E A , Cunha F Q, Lamb C, et al . IS: Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells[J]. FEBS Lett, 1999, 445: 283- 286
- [18] Durner J, Wendehenne K, Klessing D F . Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic ADP-ribose[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 10328- 10333
- [19] Huang J S, Knopp J A . Involvement of nitric oxide in *Ralstonia solanacearum* -induced hypersensitive reaction in tobacco[A]. In: Prior P, Elphinstone J, ed Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects[C]. Berlin: NRA and Springer Editions, 1998 218- 224
- [20] Ribeiro E A , Cunha F Q, Tamashiro W M , et al . Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells [J]. FEBS Lett, 1999, 445: 283- 286
- [21] Bolwell G P, Wojtaszek P . Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—a broad perspective[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1997, 51: 347- 366
- [22] Murphy T M, Asard H, Cross A R . Possible sources of reactive oxygen during the oxidative burst in plants[A]. In: Plasma membrane redox systems and their role in biological stress and disease[C]. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1998 215- 246
- [23] Levine A, Pennell R L, Alvarez M , et al . Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response[J]. Curr Biol, 1994, 6: 427- 437.
- [24] Brisson F L, Tenhaken R, Lamb C . Function of oxidative cross-linking of cell wall structural protein in plant disease resistance[J]. Plant Cell, 1994, 6: 1703- 1712
- [25] Bradley D J, Kjellbom P, Lamb C . Elicitor- and wound-induced oxidative cross-link of a proline-rich plant cell wall protein: a novel, rapid defense response[J]. Cell, 1992, 70: 21- 30
- [26] Lamb C, Dixon R A . The oxidative burst in plant disease resistance[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1997, 48: 251- 275
- [27] Foyer C H, Lopez-Delgado H, Ferrer M A , et al . Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling[J]. Physiol Plant, 1997, 100: 241- 254
- [28] Gouvea C M , Souza J F, Leshem Y A , et al . NO-Releasing substance that induces growth elongation in maize root segments[J]. Plant Growth Regulation, 1997, 21: 183- 187.
- [29] Noritake T, Kawakita K, Doke N . Nitric oxide induces phytoalexin accumulation in potato tuber tissue[J]. Plant & Cell Physiology, 1996, 37: 113- 116
- [30] Durner J, Wendehenne D, Klessing D F . Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic ADP-ribose[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 10328- 10333
- [31] Wu G S, Short B J, Lawrence E B, et al . Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generation glucose oxidase in transgenic potato plants[J]. Plant Cell, 1995, 7: 1357- 1368
- [32] Keppler L D, Baker C J . O₂⁻ initiated lipid peroxidation in a bacteria induced hypersensitive reaction in tobacco suspension cells[J]. Phytopathology, 1989, 79: 974- 978
- [33] Peng M, Kuc J . Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity in vitro and on tobacco leaf disks[J]. Phytopathology, 1992, 82: 696- 699
- [34] Stamler J S, Singel D J . Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms[J]. Science, 1992, 258: 1898- 1902
- [35] Schinkel H, Streller S, Winks G . Multiple forms of extra cellular superoxide dismutase in needle stem tissues and seedlings of Scots pine[J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49: 931- 936
- [36] Bradley D J, Kjellbom P, Lamb C J . Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: a novel, rapid defense response[J]. Cell, 1992, 70: 21- 30
- [37] Brisson F L, Tenhaken R, Lamb C J . Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance[J]. Plant Cell, 1994, 6: 1703- 1712
- [38] Kawałlick P, Schmelzer E, Hahlbrock K, et al . Two pathogen-responsive genes in parsley encode a tyrosine-rich hydroxyproline-rich glycoprotein (hrgp) and an anionic peroxidase[J]. Mol Gen Genet, 1995, 247: 444- 452
- [39] Sheng J, D'Ovidio R, Mehdy M C . Negative and positive regulation of a novel proline-rich protein mRNA by fungal elicitor and wounding [J]. Plant J, 1991, 3: 345- 354

- [40] Ikegawa T, Mayana S, Kangasjarvi J, et al Accumulation of diferulic acid during the hypersensitive response of oat leaves to *Puccinia coronata* f. sp. *A venae* and its role in the resistance of oat leaves to cell wall degrading enzymes[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1996, 48: 245- 255
- [41] Apostol I, Heinsteins P F, Low P S Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plants cells: role in defense and signal transduction[J]. *Plant Physiol*, 1989, 90: 109- 116
- [42] Levine A, Tenhaken R, Dixon R A, et al H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive response[J]. *Cell*, 1994, 79: 583- 93
- [43] Zottini M, Fomentin E Nitric oxide affects plant mitochondrial functionality *in vivo*[J]. *FEBS*, 2002, 515: 75- 78
- [44] Durner J, Klessig D F Nitric oxide as a signal in plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 369- 374
- [45] Wolter M, Hollricher K, Salamini F. The mol resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defense in a phenotype[J]. *Mol Gen Genet*, 1993, 239: 122- 128
- [46] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, et al Nitric oxide function as a signal in plant disease resistance[J]. *Nature*, 1998, 394: 585- 588
- [47] Botwell G P, Butt V S, Davies D R, et al The origin of oxidative burst in plants[J]. *Free Radic Res*, 1995, 23: 517- 532
- [48] Delledonne M, Zeier J. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response [J]. *PNAS*, 2001, 98: 13454- 13459
- [49] Reichheld J P, Vernoux T, Lardon F, et al Specific checkpoints regulate plant cell cycle progression in response to oxidative stress[J]. *Plant J*, 1999, 17: 647- 656
- [50] Birkenmeier G F, Ryan C A. Wound signaling in tomato plants Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation [J]. *Plant Physiol*, 1998, 117: 687- 693
- [51] Lee H, Julie E G ABA signaling: A messenger's fiery fate[J]. *Curr Biol*, 2001, 11: 968- 970
- [52] Sonia G, Peter M C. Genetic interaction between ABA, ethylene and sugar signaling pathways[J]. *Curr Opin Plant Biology*, 2001, 4: 387 - 391

Role of ROS and NO in plant disease resistance responses

DONG Hai-li, JING Jin-xue

(College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Due to the diversity of its physiological function and general ubiquity, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) have attracted a great deal of attention. Recently studies provided evidence for the presence of animal-like nitric oxide synthase and NADPH oxidases in plants. NO and ROS play key roles in the disease resistance response in plants: 1) Direct antimicrobial activity; 2) Oxidative cross-linking in the cell wall; 3) Gene activation and transcription-dependent defenses; 4) Hypersensitive cell death. This review mainly discusses these aspects based on the recent studies.

Key words: reactive oxygen species (ROS); nitric oxide (NO); disease resistance response; oxidative cross-linking; hypersensitive response (HR)