

植物乙烯生物合成过程中活性氧的作用

柯德森*, 王正询

(广州大学生命科学学院生物工程系, 广州 510006)

摘要: 大量的研究表明, 活性氧参与植物乙烯生物合成过程具有明显的普遍性, 超氧阴离子自由基是参与乙烯生物合成过程的主要活性氧。近年来研究的焦点主要从乙烯生物合成的关键调控酶 ACC 合酶及 ACC 氧化酶的酶活性、酶动力学特性、酶蛋白空间结构、酶基因表达水平等方面来阐明活性氧调控植物乙烯生物合成的机制。最新的研究表明: 植物在各种正常或应激的生长条件下首先诱导了活性氧产生水平的变化, 活性氧在基因或蛋白质水平上影响 ACC 合酶和 ACC 氧化酶的活性水平, 从而调节乙烯的生物合成。本文首次综述了活性氧影响植物乙烯生物合成过程的最新研究进展, 并对活性氧在植物乙烯生物合成中具有诱导与抑制并存的“双重性”作用进行了探讨。

关键词: 乙烯; 活性氧; ACC 合酶; ACC 氧化酶

中图分类号: Q945.31

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)03-0327-05

The Role of Reactive Oxygen Species in the Ethylene Biosynthesis in Plants

KE De-Sen*, WANG Zheng-Xun

(The College of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Significant evidence indicates that the involvement of reactive oxygen species (ROS) in the ethylene biosynthesis is a general process, and superoxide radical as a kind of ROS participates mainly in the ethylene biosynthesis. The recent study focuses on the effect of ROS on the key enzymes for ethylene biosynthesis, ACC synthase and ACC oxidase, concerning their activities, kinetics characteristics, protein structure, and their gene expression. ROS is firstly induced in normal growing process or under stress and then activities or genes expression of the two enzymes are regulated by the reactive oxygen species, which may result in the change in ethylene biosynthesis. The current advance in the role of ROS in ethylene biosynthesis in plants is reviewed in this paper. The dual role of ROS in ethylene biosynthesis is also discussed.

Key words: Ethylene; Reactive oxygen species; ACC synthase; ACC oxidase

植物乙烯的生物合成过程包括以下步骤^[1,2]: 蛋氨酸 (Met) → S-腺苷蛋氨酸 (SAM) → 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) → 乙烯, 其中 ACC 合酶 (ACC Synthase, ACS) 和 ACC 氧化酶 (ACC oxidase, ACO) 是乙烯生物合成过程中的两个关键调控酶。活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 包括超氧阴离子自由基 (superoxide radical, O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、羟自由基 ($\cdot OH$) 等化学性质极为活泼, 能与多数大分子物质发生反应从而造成广泛的破坏作用^[3-5]。近年来, 人们越来越多地注意到活性氧作为一种氧代谢的中间产物对正常的生理代谢功能的促进和调节作用, 陆续证明了活性氧在基因表达调节^[6-8]、植物抗病反应^[9-11]、以及在植物各种信号转导过程中的作

用^[12-17]。由此可推测, 活性氧对植物乙烯生物合成既可能起抑制作用, 也可能起促进作用, 也就是其作用具有“双重性”。近年来已报道的研究结果支持了这一观点^[18,19]。在植物乙烯生物合成调控的研究领域, 目前活性氧的作用及其调节机理的研究起步较晚, 而且一直没有得到足够的重视; 因此, 还没有形成一个系统的理论体系。由于乙烯在植物生命过程中的重要性, 活性氧在植物乙烯生物合成过程中的作用已引起人们越来越多的关注。

1 活性氧参与植物乙烯生物合成的普遍性

就在 Adams 和 Yang^[20] 刚刚阐明乙烯生物合成途径的第二年, Baker 等^[21] 就在实验中发现, 1 mmol/L

收稿日期: 2008-07-18, 修回日期: 2008-09-26。

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (06021574, 04300677); 广东省科技计划项目 (2007B030701006, 2006B36501008); 国家自然科学基金资助项目 (39570073)。

作者简介: 柯德森 (1966 -), 男, 教授, 从事植物逆境生物学研究

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: desenke@21cn.com)。

的超氧阴离子自由基特异性抑制剂 *n*-没食子酸丙酯(*n*-propyl gallate)和苯甲酸钠(sodium benzoate)能明显抑制植物组织中乙烯的产生,从而提出氧自由基可能参与植物乙烯生物合成过程的推论。

柯德森等研究了马缨丹花瓣的脱落与乙烯生物合成及超氧自由基的关系,结果表明乙烯促进马缨丹花瓣脱落与超氧阴离子自由基的作用密切相关^[22]。利用外源乙烯诱导绿豆黄化幼苗内源乙烯产生的实验进一步证明了超氧阴离子自由基在乙烯生物合成过程中的作用^[23]。在香蕉果实成熟过程中,外源超氧阴离子自由基使乙烯产生高峰出现时间明显提前,而 SOD 的加入抑制了乙烯的产生,在此过程中外源过氧化氢或过氧化氢酶对乙烯的产生并无明显影响^[24]。10 $\mu\text{mol/L}$ 外源吲哚乙酸(IAA)能同时促进绿豆幼苗中乙烯、超氧阴离子自由基和过氧化氢的产生,外源超氧阴离子自由基可加强此过程的乙烯产生,而外源过氧化氢或过氧化氢酶却被证实没有明显的作用^[25]。以上结果表明超氧阴离子自由基参与了果实成熟过程及外源 IAA 诱导的乙烯生物合成,而过氧化氢并不参与该过程的乙烯产生。绿豆黄化幼苗在冷胁迫条件下的逆境乙烯产生也被证明有超氧阴离子自由基的参与。实验结果表明,低温处理可促进乙烯产生及超氧阴离子自由基产生水平的提高,乙烯生物合成的抑制剂 AVG (2-aminoethoxyvinylglycine) 和 AOA (aminooxyacetic acid)能明显减弱低温对乙烯产生的诱导作用,但对活性氧的产生没有明显的影响,说明低温诱导的乙烯产生不是活性氧产生的原因,而超氧阴离子自由基的特异性清除剂 SOD 和 DABCO (1,4-diazabicyclo-2,2,2-octane)能有效减弱低温对乙烯产生的诱导作用,表明在低温胁迫下植物首先诱导了超氧阴离子自由基的产生,再由超氧阴离子自由基诱导了逆境乙烯的产生^[26]。利用聚乙二醇(PEG6000)模拟的渗透胁迫环境中,绿豆黄化幼苗的乙烯产生可被显著提高,这种在渗透胁迫逆境下乙烯产生也被证明对超氧阴离子自由基具有显著的依赖性^[27]。春小麦幼苗在严重的渗透胁迫过程中的乙烯产生也被证明对活性氧具有同样明显的依赖性^[28]。近年来人们在研究 UV-B 诱导玉米幼苗叶片乙烯产生过程中发现^[29,30],超氧阴离子自由基在 UV-B 诱导乙烯产生过程中起着重要作用,而过氧化氢的作用不明显,这与柯德森等在其他逆境中的研究结果是相符的。

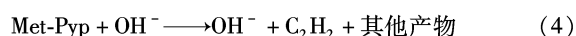
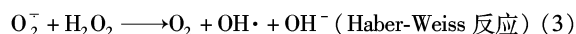
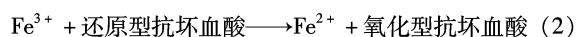
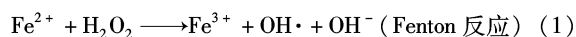
在花的脱落、果实成熟、低温和渗透胁迫等植物

生长的过程中,随着活性氧水平的上升,对乙烯产生的诱导作用均呈现先上升,到达最高值后下降的趋势^[22,24,26,27]。进一步的研究结果表明,在生长发育过程中活性氧的产生如果超过一定水平,则可能造成乙烯产生的下降,显示了活性氧在乙烯生物合成过程的作用具有明显的抑制作用和促进作用并存的“双重性”。在外源乙烯及外源 IAA 诱导的内源乙烯产生、低温胁迫和渗透胁迫诱导的逆境乙烯产生过程中,活性氧的作用均表现出明显的“双重性”^[19,23,26,27]。

2 参与乙烯生物合成过程的活性氧的类型

对植物在不同条件下的乙烯产生的研究结果表明,参与低温或渗透条件下的逆境乙烯产生、外源 IAA 诱导的乙烯产生、以及果实成熟过程乙烯产生的活性氧类型均为超氧阴离子自由基^[19,24-27],其它种类的活性氧参与乙烯生物合成过程的证据则比较少见。柯德森等在研究外源乙烯诱导绿豆黄化幼苗的内源乙烯产生过程中发现,外源过氧化氢酶能够抑制外源乙烯诱导的内源乙烯产生,为过氧化氢参与乙烯生物合成提供了佐证^[23]。Steinert 等在研究大豆叶片创伤后恢复过程的乙烯产生中发现,NADPH 氧化酶介导的过氧化氢产生是大豆叶片创伤后乙烯产生的重要诱导因素^[31]。有证据表明,UV-B 诱导的超氧阴离子自由基、过氧化氢和 NO 的产生是 UV-B 诱导乙烯产生的前提,但过氧化氢并不来源于 NADPH 氧化酶的催化作用^[30]。该实验结果与王弋博等在玉米叶片上证明 UV-B 诱导乙烯产生与过氧化氢无关的报道^[29]并不一致,表明过氧化氢在 UV-B 诱导乙烯产生中所起的作用在不同的植物中有所不同。关于羟自由基参与乙烯生物合成过程的研究更少,至今为止没有发现直接的证据支持,只有一些间接的实验表明这个可能性的存在。例如,乙烯生物合成的关键酶之一,ACC 氧化酶的活性在离体纯化条件下绝对依赖于 Fe^{2+} 和抗坏血酸^[32],而 Fe^{2+} 和抗坏血酸同时也是产生羟自由基的 Fenton 反应的必要驱动因素^[33],暗示羟自由基产生可能与 ACO 活性有关,但这方面目前尚缺少必要的体内实验证据支持。Lawrence 提出了一个体外由蛋氨酸生成乙烯的模型反应:由 Fe^{2+} 和还原型维生素 C 驱动 Fenton 反应或 Haber-Weiss 反应产生 OH^- ,再由 OH^- 在磷酸吡哆醛存在的条件下与蛋氨酸直接反应产生乙烯(见反应式 1~4)^[34]。但是在体内是否存在 OH^- 与 Met 直接反应生成乙烯的过程却至

今没有得到证明。彭新湘和 Yamauchi^[35] 研究了 Fe^{2+} 诱发谷粒颖壳中乙烯释放和促进水稻幼苗生长的关系,发现 Fe^{2+} 能诱导水稻谷粒颖壳中释放大量的乙烯。当他们用乙烯生物合成抑制剂 AOA 和 Fe^{2+} 同时处理萌发种子时并不能抑制 Fe^{2+} 所诱发的乙烯释放,这表明颖壳中所诱发的乙烯生成途径并不遵循经典的 SAM-ACC-乙烯的途径。另外,用蛋白质变性剂三氯乙酸处理谷粒颖壳时,也不能阻止其乙烯的产生,证明其诱发的反应是一个非酶促的生物化学过程。推论有可能在种子干燥时一定量的乙烯被封闭于种子的颖壳中,当用 Fe^{2+} 处理时可将其置换出来;但将颖壳粉碎成粉末时,却未能引起乙烯的释放,所以封闭乙烯的可能性也可以排除。比较合理的解释是在谷粒颖壳中可能存在一种非气态的乙烯前体,在 Fe^{2+} 的作用下迅速转化成气态乙烯。该研究没有探讨这种乙烯产生的可能前体及其过程,但从其实验结果我们可以推测, Fe^{2+} 诱导的谷粒中乙烯的大量产生可能就是通过 Fe^{2+} 驱动 Fenton 反应产生的 OH^- 与 Met 直接反应生成的。 Fe^{2+} 驱动 Fenton 反应催化 Met 直接生成乙烯的过程反应式如下:



3 活性氧参与乙烯生物合成过程的机制研究

早期研究主要集中在 ACC 到乙烯的过程,研究结果多数支持活性氧参与从 ACC 到乙烯这个过程。1982 年 McRae 和 Baker 在观察豌豆黄化幼苗微粒体膜在 ACC 形成乙烯过程中的电子自旋共振 (ESR) 波谱时,发现 O_2^- 的特异性清除剂没食子酸丙酯和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 明显抑制了 O_2^- 和乙烯的产生,ACC 的加入不能减轻 O_2^- 清除剂对乙烯产生的抑制作用,说明豌豆乙烯的产生受到氧自由基清除剂的抑制发生在 ACC 到乙烯的过程中,也就是说 O_2^- 参与乙烯生物合成过程的最后一个步骤,很有可能就是影响了 ACC 氧化酶的活性^[36]。Apelbaum 等利用几种活性氧清除剂处理豌豆幼苗和苹果果实,研究发现 0.01 mmol/L 或 0.1 mmol/L 的没食子酸丙酯、3,4-二碘-4-羟基苯甲腈、3,5-二溴磷-4-羟基苯甲腈、三氯苯酚和苯甲酸钠都不同程度地抑制了苹果果实和豌豆幼苗的乙烯产生,同时也抑制了 IAA 诱导

苹果果实和豌豆幼苗的乙烯产生。应用外加 0.1 mmol/L ACC 研究这些抑制剂对 ACC 转化成乙烯过程的影响,结果表明活性氧抑制剂明显抑制了 ACC 转化成乙烯的过程。但是通过同位素标记的方法测量 ACC 氧化酶蛋白质的合成速度,却发现活性氧抑制剂处理后苹果果实和豌豆幼苗的蛋白质合成速率没有明显的变化,表明活性氧并不参与 ACC 氧化酶的合成过程,而是可能通过其他方式刺激 ACC 氧化酶的活性表现^[37]。Konze 等在用外源 ACC 处理牵牛花花瓣时,发现 ACC 能明显提高衰老过程中花瓣的乙烯产生,1 mmol/L 没食子酸丙酯能抑制 ACC 对乙烯促进作用的 90%,当氧的浓度 (V/V) 分别为 100%、50%、20%、10%、5%、2%、0% 时,乙烯的产生持续下降,显示 ACC 促进的乙烯产生具有对氧的高度依赖性,间接支持了以上结论^[38]。柯德森等在研究香蕉果实成熟过程中活性氧的作用时发现,超氧阴离子自由基水平的上升引起乙烯生物合成水平上升的同时也促进了 ACC 氧化酶的活性,意味着活性氧在果实成熟过程中对乙烯生物合成的诱导作用可能是通过诱导 ACC 氧化酶的活性来实现的。该实验结果同时指出,活性氧对 ACC 氧化酶的促进作用并不是随着其浓度的上升而持续上升,而是在较低浓度下对 ACC 氧化酶活性起促进作用,而在较高浓度下则表现为抑制作用,表明在促进 ACC 氧化酶活性方面超氧阴离子自由基也显示出明显的“双重性”^[24]。

越来越多的证据显示,活性氧也参与了从 SAM 到 ACC 的生物合成过程,并且可能在基因水平或蛋白质水平上调控 ACC 合酶基因表达及其活力。柯德森等对冷胁迫乙烯产生机制的研究结果表明,在冷害诱导的逆境乙烯产生过程中,ACC 合酶的活力随着超氧阴离子自由基水平的上升而上升。外源超氧阴离子自由基处理明显诱导了 ACC 合酶的活力,而外源超氧阴离子自由基清除剂抑制了冷胁迫诱导的 ACC 合酶的上升,证明在冷胁迫诱导的乙烯产生过程中,超氧阴离子自由基参与了乙烯生物合成过程中由 SAM 形成 ACC 的步骤,而且可能通过诱导 ACC 合酶的活力,提高体内 ACC 的产生水平从而诱导乙烯产生的增加。外源超氧阴离子自由基作用于离体绿豆黄化幼苗 ACC 合酶的研究结果表明,外源超氧阴离子自由基可诱导离体状态下的 ACC 合酶的活力水平,推测超氧阴离子自由基可能直接影响了 ACC 合酶的蛋白质结构或构象,使 ACC 合酶的结构或构象处于更加合理的状态从而提高 ACC 合

酶的活力^[19,26]。对超氧阴离子自由基作用的 ACC 合酶的酶促动力学特征性参数 K_m 值(米氏常数)的分析表明,低温诱导的超氧阴离子自由基引起 ACC 合酶的 K_m 值下降,即诱导了 ACC 合酶对其底物 SAM 的亲合力的提高,从而提高了 ACC 的生成水平,诱导乙烯的生物合成过程^[19,26]。Watanabe 和 Sakai^[39]研究了机械伤害诱导南瓜果皮 ACS 酶的基因 *WSACS2* 表达的过程,结果显示,机械损伤 120 min 后南瓜果实果皮的乙烯产生速率提高 6 倍,同时超氧阴离子自由基的产生增加约 8 倍,0.1 mmol/L diphenylpicrylhydrazolium (DPI)可明显抑制超氧阴离子自由基的产生,乙烯的生物合成也明显减少。由于 DPI 是细胞中超氧阴离子自由基产生的抑制剂,说明机械损伤诱导的超氧阴离子自由基的产生可能是其乙烯产生的诱导因素。Northern blot 检测表明^[39],*WSACS2* 基因转录的 mRNA 含量在机械损伤后明显增加,而 *WSACS2* 基因的表达也受 DPI 的明显抑制。外源 SOD 具有一定的抑制 *WSACS2* 表达的作用,这就为活性氧参与机械损伤后逆境乙烯的产生提供了比较明确的证据,同时提出了活性氧可能是通过诱导 ACS 基因的表达来促进逆境乙烯产生的机制。进一步的研究表明^[7],机械伤害诱导的 ACS 酶基因表达是受活性氧和茉莉酸(jasmonic acid, JA)共同调节的。活性氧产生抑制剂 DPI 在机械损伤 1 h 内即表现对 ACS 基因表达的明显抑制作用,而此时 JA 的含量没有明显的变化,说明机械损伤首先是诱导活性氧的产生,活性氧的产生是乙烯产生的原初诱导因素;伤害 2 h 后,用 JA 的特异性抑制剂乙酰水杨酸(acetylsalicylic acid)处理能抑制乙烯的产生及 ACS 基因的表达,说明机械伤害 2 h 后 ACS 基因的转录受活性氧和 JA 共同调控。近年来臭氧作为一种环境胁迫因素对植物逆境乙烯产生的作用引起了人们重视。利用臭氧处理番茄叶片 1 h,乙烯产生明显上升,ACS 多基因家族中的 *LE-ACS1A* 和 *LE-ACS6* 的表达开始上升,2 h 后 *LE-ACS6* 的表达开始下降,而 *LE-ACS1A* 的表达却上升到对照的 3 倍,显示臭氧胁迫促进了与乙烯生物合成相关酶的基因的表达。相关分析表明,臭氧对基因表达的促进是通过形成活性氧起作用的^[40,41]。

综上所述,目前活性氧在植物乙烯生物合成过程中的生理作用已经得到初步的证明,并且已从乙烯生物合成的两种关键酶的酶学特性的角度对其作用机制进行了探讨。活性氧可能通过影响 ACC 合

酶、ACC 氧化酶的基因表达、酶蛋白的结构和构象等方面调控植物乙烯的生物合成,但目前尚缺少直接的实验证据。探讨活性氧影响 ACC 合酶和 ACC 氧化酶基因表达的机制,寻找这两种酶蛋白可以被活性氧直接调节的特征性结构是今后的研究重点。

参考文献:

- [1] Yang S F. Regulation of ethylene biosynthesis [J]. *Hortscience*, 1980, 15(3): 138–243.
- [2] Yang S F, Hoffman N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1984, 35: 155–189.
- [3] 柯德森,王爱国,罗广华. Vc、Cu、Phen 系统对 DNA 的定位损伤 [J]. *生物化学与生物物理学报*, 1994, 26(2): 441–446.
- [4] 张文玲,魏丽勤,王林嵩,徐存栓. 活性氧对生物大分子的氧化性损伤 [J]. *河南师范大学学报*, 2000, 28(4): 69–71.
- [5] Shi Q, Ding F, Wang X F, Wei M. Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45: 542–550.
- [6] 李福洋,惠宏襄. 氧自由基对基因表达的调节机理 [J]. *生命科学*, 1999, 11(1): 28–31.
- [7] Watanabe T, Seo S, Sakai S. Wound-induced expression of a gene for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase and ethylene production are regulated by both reactive oxygen species and jasmonic acid in *Cucurbita maxima* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39: 121–127.
- [8] Romero I, Sanchez-Ballesta M T, Maldonado R, Escribano M I, Merodio C. Anthocyanin, antioxidant activity and stress-induced gene expression in high CO₂-treated table grapes stored at low temperature [J]. *J Plant Physiol*, 2008, 165: 522–530.
- [9] 李红玉,王金生. 植物病原细菌中活性氧的释放和调节 [J]. *科学通报*, 1998, 43(19): 2069–2073.
- [10] 余潮,唐伟中,涂志辉,吴志忠. 植物抗病过程中的活性氧代谢(一) [J]. *江西植保*, 2000, 23(2): 63–65.
- [11] Slesak I, Slesak H, Libik M, Miszalski Z. Antioxidant response system in the short-term post-wounding effect in *Mesembryanthemum crystallinum* leaves [J]. *J Plant Physiol*, 2008, 165: 127–137.
- [12] 邱嵘,郑荣梁. 活性氧信号传导作用的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(3): 287–289.
- [13] Yakimova E T, Kapchina-Toteva V M, Laarhoven L J, Harren F M, Woltering E J. Involvement of ethylene and lipid signalling in cadmium-induced programmed cell death in tomato suspension cells [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2006, 44: 581–589.
- [14] Kageyama C, Kato K, Iyozumi H, Inagaki H, Yamaguchi A, Furuse K, Baba K. Photon emissions from rice cells elicited by N-acetylchitooligosaccharide are generated through phospholipid signaling in close association with the production of reactive oxygen species [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2006, 44: 901–909.
- [15] Hung K T, Kao C H. The participation of hydrogen peroxide in methyl jasmonate-induced NH₄⁺ accumulation in rice leaves [J]. *J Plant Physiol*, 2007, 164: 1469–1479.

- [16] Forman H J, Fukuto J M, Miller T, Zhang H, Rinna A, Levy S. The chemistry of cell signaling by reactive oxygen and nitrogen species and 4-hydroxynonenal [J]. *Archives Biochem Biophys*, 2008, 477: 183 – 195.
- [17] Meyer A J. The integration of glutathione homeostasis and redox signaling[J]. *J Plant Physiol*, 2008, 165: 390 – 1403.
- [18] 柯德森, 孙谷畴. 超氧阴离子自由基对绿豆黄化幼苗 ACC 合酶的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(6): 495 – 500.
- [19] Ke D S, Sun G C, Wang Z X. Effects of superoxide radicals on ACC Synthase activity in chilling-stressed etiolated mungbean seedlings[J]. *Plant Growth Regul*, 2007, 51: 83 – 91.
- [20] Adams D O, Yang S F. Methionine metabolism in apple tissue [J]. *Plant Physiol*, 1977, 60: 892 – 896.
- [21] Baker J E, Lieberman M, Anderson J D. Inhibition of ethylene production in fruit slices by a rhizobitoxine analog and free radical scavengers[J]. *Plant Physiol*, 1978, 61: 886 – 888.
- [22] 柯德森, 王爱国, 罗广华. 花的脱落与乙烯、生长素类似物及超氧自由基的关系[J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(1): 18 – 21.
- [23] 柯德森, 王爱国, 罗广华. 活性氧在外源乙烯诱导内源乙烯产生过程中的作用[J]. *植物生理学报*, 1997, 23(1): 67 – 72.
- [24] 柯德森, 王爱国, 罗广华. 成熟香蕉果实活性氧与乙烯形成酶活性的关系[J]. *植物生理学报*, 1998, 24(4): 313 – 319.
- [25] Ke D S, Wang A G, Sun G C, Dong L F. The effect of active oxygen on the activity of ACC Synthase induced by exogenous IAA[J]. *Acta Bot Sinica*, 2002, 44(5): 551 – 556.
- [26] 柯德森, 孙谷畴, 王爱国. 低温诱导绿豆黄化幼苗乙烯产生过程中活性氧的作用[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(2): 127 – 132.
- [27] Ke D S, Sun G C. The effect of reactive of reactive oxygen species on ethylene production induced by osmotic stress in etiolated mungbean seedling [J]. *Plant Growth Regul*, 2004, 44: 199 – 206.
- [28] Li C Z, Jiao J, Wang G X. The important roles of reactive oxygen species in the relationship between ethylene and polyamines in leaves of spring wheat seedlings under root osmotic stress [J]. *Plant Science*, 2004, 166: 303 – 315.
- [29] 王弋博, 冯虎元, 曲颖, 程佳强, 王勋陵, 安黎哲. 活性氧在UV-B 诱导的玉米幼苗叶片乙烯产生中的作用[J]. *植物生态学报*, 2007, 31(5): 946 – 951.
- [30] Wang Y, Feng H Y, Qua Y, Cheng J Q, Zhao Z G, Zhang M X, Wang X L, An L Z. The relationship between reactive oxygen species and nitric oxide in ultraviolet-B-induced ethylene production in leaves of maize seedlings [J]. *Environ Exp Bot*, 2006, 57: 51 – 61.
- [31] Steinite I, Gailite A, Ievinsh G. Reactive oxygen and ethylene are involved in the regulation of regurgitant-induced responses in bean plants [J]. *J Plant Physiol*, 2004, 161: 191 – 196.
- [32] Mizutani F, Rabbany A B M G, Akiyoshi H. Inhibition of ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase activity by tropolones [J]. *Photochem*, 1998, 48(1): 31 – 34.
- [33] Cohen G. The Fenton reaction [M]//Greenwald R A. Handbook of methods for oxygen radical research. 3rd ed. Boca Raton Florida: CRC Press, 1987: 55 – 70.
- [34] Lawrence E. Ethylene formation from methionine and it analogs [M]//Greenwald R A. Handbook of methods for oxygen radical research. 3rd ed. Boca Raton Florida: CRC Press, 1987: 157 – 163.
- [35] 彭新湘, Yamauchi M. Fe^{2+} 诱发谷粒颖壳中乙烯释放和促进水稻幼苗生长的关系 [J]. *植物学报*, 1996, 38(4): 302 – 306.
- [36] McRae D G, Baker J E. Evidence for involvement of the superoxide radical in the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by pea microsomal membranes [J]. *Plant Cell Physiol*, 1982, 23(3): 375 – 383.
- [37] Apelbaum A, Wang S Y, Burgoon A C, Baker J E, Lieberman M. Inhibition of conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by structural analogs, inhibitors of electron transfer, uncouplers of oxidative phosphorylation, and free radical scavengers [J]. *Plant Physiol*, 1981, 67: 74 – 79.
- [38] Konze J R, Jones J F, Boller J T, Kende H. Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid on the production of ethylene in senescing flowers of *Ipomoea tricolor* Cav [J]. *Plant Physiol*, 1980, 66: 566 – 571.
- [39] Watanabe T, Sakai S. Effect of active oxygen species and methyl jasmonate on expression of gene for a wound-inducible 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) [J]. *Planta*, 1998, 206: 570 – 576.
- [40] Langebartels C, Wohlgemuth H, Kschieschan S, Grun S, Sander-mann H. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002, 40: 567 – 575.
- [41] Nakajima N, Matsuyama T, Takanori T, Saji H, Aono M, Kubo A, Kondo N. Effects of ozone exposure on the gene expression of ethylene biosynthetic enzymes in tomato leaves [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39: 993 – 998.