

植物非共生血红蛋白的研究进展

徐慧妮*, 赵秀玲, 何小钊, 李昆志

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明650500

摘要: 植物非共生血红蛋白(nsHb)基因在植物界广泛存在。许多生物和非生物胁迫可以诱导nsHb的表达。nsHb在植物的生长发育和逆境胁迫中具有重要功能, 其作用机制与NO的代谢密切相关。文章综述了非共生血红蛋白的表达特性、生物学功能及其作用机制等方面的研究进展。

关键词: 非共生血红蛋白; 一氧化氮; 低氧胁迫

Research Progress in Plant Non-Symbiotic Hemoglobin

XU Hui-Ni*, ZHAO Xiu-Ling, HE Xiao-Zhao, LI Kun-Zhi

College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: Plant non-symbiotic hemoglobin (nsHb) genes are ubiquitous in plants. Many biotic and abiotic stresses induce the expression of nsHb. nsHb plays important roles in plant growth and development, as well as stress conditions. The mechanism of nsHb function has a close relationship with nitric oxide (NO) metabolism. In this review, the expression characteristics, the biological function and the mechanism of nsHb function are summarized.

Key words: non-symbiotic hemoglobin; nitric oxide; hypoxic stress

血红蛋白(hemoglobin, Hb)是含血红素蛋白, 存在于脊椎动物、无脊椎动物、植物、细菌、真菌、藻类、原生动物等几乎所有生物体内。植物血红蛋白是一类由珠蛋白(globin)和血红素(ferro-heme)组成的结合蛋白, 广泛存在于植物界。第一个植物血红蛋白是Kubo于1939年在豆科植物固氮根瘤中发现的, 属于共生性的血红蛋白, 命名为豆血红蛋白; Bogusz等于1988年在不结瘤的植物中发现了植物血红蛋白。目前, 研究者在46个以上的物种中发现了超过66种的植物血红蛋白(Garrocho-Villegas等2007, Garrocho-Villegas和Arredondo-Peter 2008; Hebelstrup等2007)。结合近年来有关植物血红蛋白的研究, 本文综述了植物非共生血红蛋白的表达特性、功能及作用机制的研究进展。

1 植物血红蛋白的分类

根据植物血红蛋白的序列、表达方式以及与配体的结合性质, 植物血红蛋白可分为三类: 共生的血红蛋白(symHb)、非共生的血红蛋白(nsHb或GLB)、截短的血红蛋白(trHb) (Wittenberg等2002; Hoy和Hargrove 2008; Dordas 2009; Jokipii-Lukkari等2009)。非共生的血红蛋白可以分为两类: 血红蛋白1 (class 1)和血红蛋白2 (class 2)。共生的血

蛋白主要存在于豆类和非豆类植物的固氮根瘤菌感染的细胞中。非共生的血红蛋白的分布范围很广泛, 不仅存在于含有共生血红蛋白的植物中, 而且也存在于其他植物中。最近发现, 植物非共生血红蛋白在大麦、水稻、玉米、拟南芥、番茄、棉花、山黄麻属等许多单子叶和双子叶植物中存在(Hebelstrup等2007)。从进化角度, 非共生的血红蛋白比共生的血红蛋白更古老, 在植物代谢中起着非常重要的作用。截短的血红蛋白在植物中发现的较晚, 功能了解较少(Wittenberg等2002)。

2 nsHb的基因和蛋白表达特性

许多nsHb基因已经从不同的植物中获得, 这些基因编码的序列高度相似, 并且在相同的位置含有3个内含子(Arredondo-Peter等1997; Hunt等2001)。大麦nsHb的氨基酸序列与一个非豆科植物的nsHb序列同源性有71% (Taylor等1994), 但是nsHb的序列与symHb的同源性只有57%~58% (An-

收稿 2011-11-14 修定 2011-12-28

资助 云南省应用基础研究面上项目(2010ZC053)、云南省教育厅科学研究基金项目(2001Z109)和国家自然科学基金(31101557)。

* 通讯作者(E-mail: hnxusun@gmail.com; Tel: 0871-5920623)。

dersson等1996)。虽然class 1和class 2 *nsHb*基因序列都包含保守的远端组氨酸(E7)残基、近端的组氨酸(F8)残基、脯氨酸(C2)和苯丙氨酸(cd1)残基(Hunt等2001),但它们的序列相似性有限,并且表现出不同的表达模式。拟南芥的*AHB1* (class 1)和*AHB2* (class 2)的核苷酸序列只有69%的同源性(Trevaskis等1997),芸苔和棉花的class 2 *nsHb*与拟南芥的class 1基因序列同源性只有55%~60%(Hunt等2001)。

正常情况下*nsHb*表达量很微弱,而在缺氧胁迫、营养缺乏、病菌侵染和激素处理等条件下,*nsHb*表达量增加(Taylor等1994; Seregélyes等2003; Ohwaki等2005; Igamberdiev等2011)。拟南芥的*nsHb*基因*GLB1*和*GLB2*基因表达模式不同,*GLB2*在根系、叶片和花序中表达,并且可以被细胞分裂素诱导表达;而*GLB1*在幼苗中表达,可以被低氧胁迫、蔗糖诱导表达,但不能被细胞分裂素诱导(Hunt等2001)。水稻*nsHb*基因在淹水条件下表达量增加,但在氧化胁迫(H_2O_2)、硝化胁迫(SNP)和2,4-D处理后表达量不变(Lira-Ruan等2001)。在淹水胁迫条件下,橡树的抗性品种中*nsHb*的表达比敏感品种中的表达早(Parent等2008)。

番茄根中*SOLlyGLB1*的mRNA在缺乏磷、钾、铁营养以及添加硝酸盐后其表达量迅速增加,与此相反,*SOLlyGLB2*的mRNA水平在这些处理后没有显著变化,说明非共生血红蛋白的表达与矿质营养元素有关(Wang等2003)。硝酸盐、亚硝酸盐和NO供体显著诱导水稻的*ORYsaGLB1a*和*ORYsaGLB1b*的表达(Ohwaki等2005)。拟南芥幼苗中的*AtGLB1* mRNA在亚硝酸盐处理后显著积累,表明*AtGLB1*的功能与亚硝酸盐及其衍生的活性氮具有生理相关性(Sakamoto等2004)。

3 nsHb的生物学功能

不同生物体中血红蛋白的结构、大小和功能有着很大的不同。研究表明,植物非共生血红蛋白在植物生长发育和抗逆性等方面发挥重要作用。

3.1 参与植物生长发育和激素信号传导

在拟南芥中沉默*nsHb*的表达导致植株叶片发育畸形(Hebelstrup等2006)。抑制*GLB1*的表达延迟了拟南芥的抽薹时间,并在抽薹后地上部恢复为莲座叶的营养生长。过表达*GLB1*或*GLB2*的株系

比野生型植株抽薹早(Hebelstrup和Jensen 2008)。在苜蓿中过表达大麦*nsHb*基因后发现,植株生长加速、节间加长、叶绿素含量增加、顶端优势增强等,其表型与生长素或赤霉素处理后类似,而反义抑制*nsHb*后,植株的形态特征与细胞分裂素或生长素拮抗剂处理效果类似(Baron 2005),说明*nsHb*可能参与了激素信号的传导。Wang等(2011)发现血红蛋白的表达与拟南芥的芽器官发生有关,过表达*GLB1*或*GLB2*可以增加培养基中再生芽的数量,而减少*GLB2*的表达则抑制了芽器官的发生。此外,Parent等(2008)认为非共生血红蛋白参与了根系环境的信号变化,并且(或者)控制根系发育的一些方面。

3.2 提高植株的胁迫抗性

胁迫抗性的增强对植物在逆境下存活是非常重要的,血红蛋白是植物进化出的抵抗逆境胁迫的重要策略之一。*nsHb*可以减少氧化胁迫的伤害而保护植物,过表达*nsHb*可以提高植物的抗氧化酶系统的活力(Igamberdiev等2006b; Yang等2005)。Yang等(2005)获得了血红蛋白*GLB1*过表达和RNAi抑制表达的拟南芥植株,低氧胁迫下过表达*AtGLB1*的株系中积累的 H_2O_2 相对较少,对低氧胁迫的抗性增强,而RNAi株系中积累的 H_2O_2 相对较多,对低氧胁迫更敏感,表明低氧胁迫下血红蛋白1可能对 H_2O_2 的水平起到了一定的调节作用,并且抗氧化酶清除系统可能在血红蛋白过表达株系中维持较低的 H_2O_2 水平起到了重要的作用。

低氧胁迫诱导*nsHb1*的表达(Taylor等1994; Trevaskis等1997),研究表明植物血红蛋白基因在低氧胁迫应答中发挥重要作用。低氧胁迫下过表达大麦*barHb*基因的紫花苜蓿植株可以维持根系生长和ATP的水平,并保持较低的NO含量(Dordas等2003),转基因植株中抗坏血酸、单脱氢抗坏血酸和 H_2O_2 清除酶活性增加(Igamberdiev等2006b)。过表达*GLB1*的拟南芥植株在低氧条件下保护拟南芥幼苗(Hunt等2002),*GLB2*也有相同的功能,但是敲除*GLB2*对低氧胁迫植株的存活没有影响(Hebelstrup等2006)。在拟南芥种子中过量表达*AtHb1*,可以提高植株对氧化胁迫的抗性(Thiel等2011)。

*nsHb*不仅在植物抗低氧胁迫方面具有重要意义,在防御疾病方面同样显示出了其重要性。Qu

等(2006)推测棉花*GhHb1*基因可能在防御棉花黄萎病中扮演重要的角色, *GhHb1*在拟南芥的过表达导致防御基因*PR-1*和*PDF1.2*的组成型表达, 并且转基因植株对丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)和棉花黄萎病菌(*V. dahliae*)的抗性增加。转基因拟南芥植株对外源NO的抗性增加, 与野生型相比, 植株细胞内NO保持较低的水平。Qu等(2006)认为, *GhHb1*在植物对病害侵染中的防御应答作用, 可能是通过调控NO的水平和 H_2O_2/NO 的比值实现的。

Zhao等(2008)发现玉米*ZmHb*的mRNA水平除了被低氧胁迫诱导外, 高盐和渗透胁迫也诱导其表达。在烟草中过表达*ZmHb*提高了转基因烟草对盐胁迫和渗透胁迫的抗性, 表明*ZmHb*在植物多种胁迫应答中发挥重要作用。

4 nsHb的作用机制

早期的工作提出了许多植物血红蛋白可能具有的生理功能, 包括氧的贮存、感知, NO及其他活性氧的清除(Dordas等2003)。研究表明, 血红蛋白1的氧结合特性完全不同于共生的血红蛋白, 它对 O_2 的亲合力非常高, 而血红蛋白2, 与共生血红蛋白类似, 对氧气的亲合力较低(Gupta和Igamberdiev 2011)。水稻nsHb-1对 O_2 的亲合力是大豆血红蛋白的78倍, 这么高的亲合力主要是因为 O_2 的解离常数非常低, 表明非共生血红蛋白不可能在细胞内起运输氧或储存氧以及感受氧的作用(Hill 1998)。nsHb-1在很低的 O_2 条件下也以氧合态存在, 高的氧化还原电位及对 O_2 高的亲合力表明nsHb-1也不可能在电子转运中发挥作用。

NO在植物的种子萌发、细胞分裂、开花和衰老等生长发育过程(Beligni和Lamattina 2000; He等2004; Guo和Crawford 2005; Gniazdowska等2009; Gupta等2011)以及对生物和非生物胁迫应答等方面发挥重要作用(Neill等2002; Romero-Puertas等2004; Corpas等2011)。大多数的血红蛋白都可以结合氧和NO。现在越来越多的研究表明在非生物胁迫和其他细胞水平上, 植物nsHb蛋白调控细胞内的NO水平(Dordas等2003; Perazzolli等2004; Shimoda等2009; Gupta等Igamberdiev 2011; Cantrel等2011)。nsHb抑制表达的转基因苜蓿根系中的NO积累量是过表达植株中的2.5倍(Dordas等2003),

低氧胁迫下不同玉米细胞系中的NO含量与nsHb的含量呈负相关(Dordas等2004), 这表明血红蛋白有可能参与NO的调节。Perazzolli等(2004)证实了这一观点, 拟南芥的血红蛋白1通过与NO反应形成S-亚硝基血红蛋白, 从而清除了NO, 减少了低氧胁迫下NO的释放。拟南芥、大麦、苜蓿中的非共生血红蛋白依赖NAD(P)H将NO解毒为 NO_3^- (Sakamoto等2004; Igamberdiev等2004)。

Ohwaki和Kaiser (2007)推测NO的产生和nsHb介导的NO清除过程(图1), 认为NO的产生可以通过亚硝酸盐或者依赖L-精氨酸的途径, 而 Hb^{2+} 介导的NO的清除这个反应机制有两种可能, 一种可能的途径是双加氧酶反应, 在有 O_2 存在的条件下, 氧合态的血红蛋白(O_2-Hb^{2+})与NO反应生成 NO_3^- , 这个反应伴随着 Hb^{2+} 的亚硝基化(cys-SNO), 反应过程通过一种未知的机制消耗NADH维持ATP水平, 被称为nsHb/NO循环(Dordas 2009)。另一条可能的途径是 Hb^{2+} 与NO结合, 与 O_2 反应生成 NO_3^- , Igamberdiev等(2006a)发现该反应产生的高铁血红蛋白可以被NAD(P)H还原为 Hb^{2+} , 细胞质的单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)参与了抗坏血酸介导的 Hb^{3+} 的还原。

nsHb也表现出类似过氧化物酶活性, 参与NO代谢, 在植物与病菌的相互作用中可能保护植物免受硝化胁迫(Dordas 2009)。重组的拟南芥非共生血红蛋白AtGLB1、AtGLB2和AtGLB3表现出依赖 H_2O_2 氧化一些过氧化物的底物, 表明具有类过氧化物酶的活性(Sakamoto等2004)。Violante-Mota等(2010)研究了水稻中融合的血红蛋白的过氧化物酶活性发现, 与典型的植物过氧化物酶相比, 水稻Hb1清除 H_2O_2 的能力较差, 认为植物中的nsHb不可能作为过氧化物酶发挥作用。

5 结语

关于植物血红蛋白的发现和分类等方面, 前人已经进行了总结(张静娴和荆玉祥1999; 陈义烘和马三梅2006; 陈娟等2007; Hoy和Hargrove 2008)。而近年来许多研究都集中在鉴定植物血红蛋白的功能及其与NO代谢的关系, 尤其在低氧胁迫下研究的较多, 而在其他胁迫如盐胁迫、渗透胁迫、冷害等非生物胁迫方面研究的较少。因此, nsHb在逆境胁迫下是否发挥作用以及与NO代谢的关系

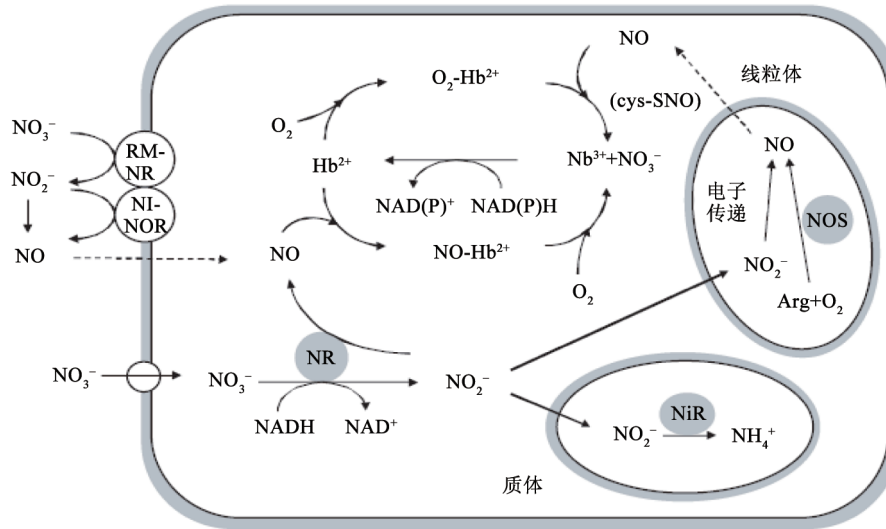


图1 NO的产生反应及可能的血红蛋白介导的植物细胞中NO的清除

Fig.1 Schematic presentation of the NO generating reactions, and putative hemoglobin (Hb)-mediated NO scavenging in plant cells

参考Ohwaki和Kaiser (2007)文献修改。PM-NR: 质膜硝酸还原酶; NI-NOR: 依赖NO₂⁻的NO还原酶; NR: 硝酸还原酶; NiR: 亚硝酸还原酶; NOS: NO合酶。

还需要进一步探究。

透明颤菌的血红蛋白(VHb)是结构和功能了解得比较清楚的一种原核生物的血红蛋白。将VHb转入植物中,可以促进烟草悬浮细胞的生长;增加植株生长,提高产量,增强植株对非生物胁迫的抗性(袁秒淼2007)。在拟南芥中过表达VHb基因可以提高植株对低氧胁迫、硝化胁迫、氧化胁迫时的抗性,增强抗氧化酶系统的代谢(Wang等2009)。目前,植物血红蛋白基因在生产上的应用却很少,因此,有必要加大对植物非共生血红蛋白功能研究,以便为作物抗逆遗传改良和育种等提供参考。

参考文献

- 陈娟, 肖强, 裴真明, 郑海雷(2007). 对植物血红蛋白功能的新发现——调节NO的生物活性. 细胞生物学杂志, 29: 513~518
- 陈义烘, 马三梅(2006). 植物血红蛋白的发现及其功能. 生命的化学, 26: 408~410
- 张静娴, 荆玉祥(1999). 植物的血红蛋白. 生命科学, 11: 66~71
- 袁秒淼(2007). 转血红蛋白基因促进烟草悬浮细胞生长的代谢基础研究[硕士论文]. 武汉: 华中师范大学
- Andersson CR, Jensen EO, Llewellyn DJ, Dennis ES, Peacock WJ (1996). A new hemoglobin gene from soybean: a role for hemoglobin in all plants. Proc Natl Acad Sci USA, 93: 5682~5687
- Arredondo-Peter R, Hargrove MS, Sarath G, Moran JF, Lohrman J, Olson JS, Klucas RV (1997). Rice hemoglobins: gene cloning,

- analysis, and O₂-binding kinetics of a recombinant protein synthesized in *Escherichia coli*. Plant Physiol, 15: 1259~1266
- Baron K (2005). Growth, morphology and flooding tolerance of transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) expressing varying levels of a class 1 barley (*Hordeum vulgare*) hemoglobin. M.Sc. thesis. Manitoba, Canada: University of Manitoba
- Beligni MV, Lamattina L (2000). Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. Planta, 210: 215~221
- Bogusz D, Appleby CA, Landsmann J, Dennis ES, Trinick MJ, Peacock WJ (1988). Functioning haemoglobin genes in non-nodulating plants. Nature, 331: 178~180
- Cantrel C, Vazquez T, Puyaubert J, Rezé N, Lesch M, Kaiser WM, Dutilleul C, Guillas I, Zachowski A, Baudouin E (2011). Nitric oxide participates in cold-responsive phosphosphingolipid formation and gene expression in *Arabidopsis thaliana*. New Phytol, 189: 415~427
- Corpas FJ, Leterrier M, Valderrama R, Airaki M, Chaki M, Palma JM, Barroso JB (2011). Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. Plant Sci, 181: 604~611
- Dordas C (2009). Nonsymbiotic hemoglobins and stress tolerance in plants. Plant Sci, 176(4): 433~440
- Dordas C, Hasinoff BB, Igamberdiev AU, Manačh N, Rivoal J, Hill RD (2003). Expression of a stress-induced hemoglobin affects NO levels produced by alfalfa root cultures under hypoxic stress. Plant J, 35: 763~770
- Dordas C, Hasinoff BB, Rivoal J, Hill RD (2004). Class-1 hemoglobins, nitrate and NO levels in anoxic maize cell-suspension cultures. Planta, 219: 66~72
- Garrocho-Villegas V, Arredondo-Peter R (2008). Molecular cloning

- and characterization of a moss (*Ceratodon purpureus*) nonsymbiotic hemoglobin provides insight into the early evolution of plant nonsymbiotic hemoglobins. *Mol Biol Evol*, 25: 1482~1487
- Garrocho-Villegas V, Gopalasubramaniam SK, Arredondo-Peter R (2007). Plant hemoglobins: what we know six decades after their discovery. *Gene*, 398: 78~85
- Gniazdowska A, Krasuska U, Czajkowska K, Wierzbicki M, Bogatek R (2009). Nitric oxide and plant hemoglobins. *Postepy Biologii Komorki*, 36: 233~250
- Guo FQ, Crawford NM (2005). *Arabidopsis* nitric oxide synthase1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence. *Plant Cell*, 17: 3436~3450
- Gupta KJ, Hebelstrup KH, Mur LAJ, Igamberdiev AU (2011). Plant hemoglobins: important players at the crossroads between oxygen and nitric oxide. *FEBS Lett*, 585: 3843~3849
- Gupta KJ, Igamberdiev AU (2011). The anoxic plant mitochondrion as a nitrite: NO reductase. *Mitochondrion*, 11: 537~543
- He YK, Tang RH, Hao Y, Stevens RD, Cook CW, Ahn SM, Jing LF, Yang ZG, Chen LG, Guo FQ et al (2004). Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition. *Science*, 305: 1968~1971
- Hebelstrup KH, Igamberdiev AU, Hill RD (2007). Metabolic effects of hemoglobin gene expression in plants. *Gene*, 398: 86~93
- Hebelstrup KH, Jensen EØ (2008). Expression of NO scavenging hemoglobin is involved in the timing of bolting in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 227: 917~927
- Hebelstrup KH, Hunt P, Dennis E, Jensen SB, Jensen EØ (2006). Hemoglobin is essential for normal growth of *Arabidopsis* organs. *Physiol Plant*, 127: 157~166
- Hill RD (1998). What are hemoglobins doing in plants? *Can J Bot*, 76: 707~712
- Hoy JA, Hargrove MS (2008). The structure and function of plant hemoglobins. *Plant Physiol Biochem*, 46: 371~379
- Hunt PW, Klok EJ, Trevaskis B, Watts RA, Ellis MH, Peacock WJ, Dennis ES (2002). Increased level of hemoglobin I enhances survival of hypoxic stress and promotes early growth in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 17197~17202
- Hunt PW, Watts RA, Trevaskis B, Llewelyn DJ, Burnell J, Dennis ES, Peacock WJ (2001). Expression and evolution of functionally distinct haemoglobin genes in plants. *Plant Mol Biol*, 47: 677~692
- Igamberdiev AU, Bykova NV, Hill RD (2006a). Nitric oxide scavenging by barley hemoglobin is facilitated by a monodehydroascorbate reductase-mediated ascorbate reduction of methemoglobin. *Planta*, 223: 1033~1040
- Igamberdiev AU, Bykova NV, Hill RD (2011). Structural and functional properties of class I plant hemoglobins. *IUBMB Life*, 63: 146~152
- Igamberdiev AU, Seregélyes C, Manach N, Hill RD (2004). NADH dependent metabolism of nitric oxide in alfalfa root cultures expressing barley hemoglobin. *Planta*, 219: 95~102
- Igamberdiev AU, Stoimenova M, Seregélyes C, Hill RD (2006b). Class-I hemoglobin and antioxidant metabolism in alfalfa roots. *Planta*, 223: 1041~1046
- Jokipii-Lukkari S, Frey AD, Kallio PT, Häggman H (2009). Intrinsic non-symbiotic and truncated haemoglobins and heterologous *Vitreoscilla* haemoglobin expression in plants. *J Exp Bot*, 60: 409~422
- Kubo H (1939). Über hämoprotein aus den wurzelknöllchen von leguminosen. *Acta Phytochim*, 11: 195~200
- Lira-Ruan V, Sarath G, Klucas RV, Arredondo-Peter R (2001). Synthesis of hemoglobins in rice (*Oryza sativa* var. Jackson) plants growing in normal and stress conditions. *Plant Sci*, 161: 279~287
- Neill SJ, Desikan R, Clarke A, Hurst RD, Hancock JT (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J Exp Bot*, 53: 1237~1247
- Ohwaki Y, Kaiser WM (2007). Plant haemoglobins, nitrate and nitric oxide: old players, new games. *Prog Bot*, 68: 261~287
- Ohwaki Y, Kawagishi-Kobayashi M, Wakasa K, Fujihara S, Yoneyama T (2005). Induction of class-I non-symbiotic hemoglobin genes by nitrate, nitrite and nitric oxide in cultured rice cells. *Plant Cell Physiol*, 46: 324~331
- Parent C, Berger A, Folzer H, Dat J, Crevècoeur M, Badot PM, Capelli N (2008). A novel nonsymbiotic hemoglobin from oak: cellular and tissue specificity of gene expression. *New Phytol*, 177: 142~154
- Perazzolli M, Dominici P, Romero-Puertas MC, Zago E, Zeier J, Sonoda M, Lamb C, Delledonne M (2004). *Arabidopsis* non-symbiotic hemoglobin AHb1 modulates nitric oxide bioactivity. *Plant Cell*, 16: 2785~2794
- Qu ZL, Zhong NQ, Wang HY, Chen AP, Jian GL, Xia GX (2006). Ectopic expression of the cotton non-symbiotic hemoglobin gene *GhHb1* triggers defense responses and increases disease tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 47: 1058~1068
- Romero-Puertas MC, Perazzolli M, Zago ED, Delledonne M (2004). Nitric oxide signalling functions in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol*, 6: 795~803
- Sakamoto A, Sakurao S, Fukunaga K, Matsubara T, Ueda-Hashimoto M, Tsukamoto S, Takahashi M, Morikawa H (2004). Three distinct *Arabidopsis* hemoglobins exhibit peroxidase-like activity and differentially mediate nitrite-dependent protein nitration. *FEBS Lett*, 572: 27~32
- Seregélyes C, Barna B, Hennig J, Konopka D, Pasternak TP, Lukács N, Fehér A, Horváth GV, Dudits D (2003). Phytohemoglobins can interfere with nitric oxide functions during plant growth and pathogenic responses: a transgenic approach. *Plant Sci*, 165: 541~550
- Shimoda Y, Shimoda-Sasakura F, Kucho K, Kanamori N, Nagata M, Suzuki A, Abe M, Higashi S, Uchiumi T (2009). Overexpression of class I plant hemoglobin genes enhances symbiotic nitrogen fixation activity between *Mesorhizobium loti* and *Lotus japonicus*. *Plant J*, 57: 254~263
- Taylor ER, Nie XZ, MacGregor AW, Hill RD (1994). A cereal haemoglobin gene is expressed in seed and root tissues under anaerobic conditions. *Plant Mol Biol*, 24: 853~862
- Thiel J, Rolletschek H, Friedel S, Lunn JE, Nguyen TH, Feil R, Tschiersch H, Müller M, Borisjuk L (2011). Seed-specific elevation of non-symbiotic hemoglobin *AtHb1*: beneficial effects and underlying molecular networks in *Arabidopsis thaliana*. *BMC*

- Plant Biol, 11: 48
- Trevaskis B, Watts RA, Andersson CR, Llewellyn DJ, Hargrove MS, Olson JS, Dennis ES, Peacock WJ (1997). Two hemoglobin genes in *Arabidopsis thaliana*: the evolutionary origins of leghemoglobins. Proc Natl Acad Sci USA, 94: 12230~12234
- Violante-Mota F, Tellechea E, Moran JF, Sarath G, Arredondo-Peter R (2010). Analysis of peroxidase activity of rice (*Oryza sativa*) recombinant hemoglobin 1: implications for *in vivo* function of hexacoordinate non-symbiotic hemoglobins in plants. Phytochemistry, 71: 21~26
- Wang YP, Elhiti M, Hebelstrup KH, Hill RD, Stasolla C (2011). Manipulation of hemoglobin expression affects *Arabidopsis* shoot organogenesis. Plant Physiol Biochem, 49: 1108~1116
- Wang YH, Kochian LV, Doyle JJ, Garvin DF (2003). Two tomato non-symbiotic haemoglobin genes are differentially expressed in response to diverse changes in mineral nutrient status. Plant Cell Environ, 26 (5): 673~680
- Wang ZN, Xiao Y, Chen WS, Tang KX, Zhang L (2009). Functional expression of *Vitreoscilla* hemoglobin (VHb) in *Arabidopsis* relieves submergence, nitrosative, photo-oxidative stress and enhances antioxidants metabolism. Plant Sci, 176: 66~77
- Wittenberg JB, Bolognesi M, Wittenberg BA, Guertin M (2002). Truncated hemoglobins: a new family of hemoglobins widely distributed in bacteria, unicellular eukaryotes, and plants. J Biol Chem, 277: 871~874
- Yang LX, Wang RY, Ren F, Liu J, Cheng J, Lu YT (2005). AtGLB1 enhances the tolerance of *Arabidopsis* to hydrogen peroxide stress. Plant Cell Physiol, 46: 1309~1316
- Zhao L, Gu RL, Gao P, Wang GY (2008). A nonsymbiotic hemoglobin gene from maize, *ZmHb*, is involved in response to submergence, high-salt and osmotic stresses. Plant Cell Tiss Organ Cult, 95: 227~237