

## 综述 Reviews

## 铝诱导植物程序性细胞死亡信号转导的研究进展

何虎翼<sup>1,2</sup>, 何龙飞<sup>1,\*</sup>, 顾明华<sup>1</sup><sup>1</sup>广西大学农学院, 南宁530004; <sup>2</sup>广西农业科学院经济作物研究所, 南宁530007

**摘要:** 铝是制约酸性土壤上作物生产的主要因素。铝诱导氧化胁迫产生大量活性氧/一氧化氮, 引起胞质钙超载, 通过线粒体信号转导途径激发相关凋亡基因, 从而引起细胞主动死亡, 以减轻铝对植物的进一步毒害。本文综述了铝诱导程序性细胞死亡的信号分子、相关基因以及信号转导途径, 对未来的研究方向提出了展望, 为深入研究植物铝毒害机理和耐铝机制提供参考。

**关键词:** 铝; 程序性细胞死亡; 信号因子; 基因; 信号转导途径

## The Progress of Signal Transduction of Aluminum-Induced Programmed Cell Death in Plants

HE Hu-Yi<sup>1,2</sup>, HE Long-Fei<sup>1,\*</sup>, GU Ming-Hua<sup>1</sup><sup>1</sup>College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530004, China; <sup>2</sup>Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China

**Abstract:** Aluminum (Al) is a major limiting factor for crop production in acid soil. Al induces oxidative stress which generates a lot of reactive oxygen species (ROS) or nitric oxide (NO), resulting in calcium overloading. Cell death is initiated by exploding some associated-apoptosis genes through mitochondrial signal transduction pathway to decrease Al toxicity. In this paper, it is summarized signal molecular, related genes and signal transduction pathway of Al-induced programmed cell death (PCD) in plants, and the research prospects are proposed. It provides references for further research on the mechanisms of Al toxicity and Al tolerance in plants.

**Key words:** aluminum; programmed cell death; signal factor; gene; signal transduction pathway

程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是一种受基因控制的、主动的、有序的细胞死亡过程, 从胚胎发育到器官的形成、衰亡均有发生, 对植物正常生长发育和适应环境起着重要作用。细胞凋亡(apoptosis)通常用于描述动物细胞形态特异变化, 是程序性细胞死亡的一种特殊方式。早在1923年Allen和1961年Leopold对植物细胞死亡已进行了研究, 并引入程序性细胞死亡的概念, 但未引起植物学家的关注。近年来随着动物学和医学中细胞死亡的研究取得长足进展, 植物细胞程序性死亡开始受到广泛关注。

铝是酸性土壤中限制作物生长的主要因子, 当土壤pH小于5时, 铝主要以Al<sup>3+</sup>形式存在, 对植物产生毒害作用, 导致农作物严重减产。根尖是铝毒害的主要作用部位, 铝处理可以快速抑制植物根系伸长生长。植物耐铝机制可以分为外部排斥和内部耐受两个方面, 前者包括细胞壁对铝的固

定、根际pH屏障和铝诱导有机酸的释放等; 后者包括胞内有机酸螯合、液泡的区隔化和铝结合蛋白等。在环境污染日益严重、酸性土壤面积不断增加的今天, 铝毒害已成为世界性难题, 加强研究有着重要的现实意义。铝能诱导植物细胞产生活性氧, 并激活一些抗氧化酶活性, 高浓度的ROS攻击生物膜中的不饱和脂肪酸, 导致膜脂过氧化, 膜透性增大, 从而引起细胞死亡(Hall 2002)。铝胁迫诱导植物程序性细胞死亡已成为铝毒害研究的一个热点(Kochian 1995)。本文综述了植物在铝胁迫过程中存在的PCD现象和铝诱导PCD的信号转导, 并对未来研究方向提出展望。

## 1 铝诱导的植物PCD

铝诱导植物PCD已有不少报告, 主要在烟

收稿 2010-10-12 修定 2011-01-12

资助 国家自然科学基金(30560070和30960181)。

\* 通讯作者(E-mail: lfhe@gxu.edu.cn; Tel: 0771-3235212-806)。

草、大麦、大豆、番茄等作物, 材料来源主要为悬浮细胞、根尖边缘细胞, 详见表1。主要事例有: 铝促进 $\text{Fe}^{2+}$ 诱导的膜脂过氧化, 引起烟草悬浮细胞死亡(Yamamoto等1997)。烟草悬浮细胞经 $\text{Al}^{3+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 共同处理, 质膜完整性遭到破坏, 造成细胞生长受抑死亡(Ikegawa等1998)。0.1~1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理大麦8 h后, 根尖细胞产生DNA片段, 但没有凋亡小体产生, 铝诱导大麦根尖细胞死亡可能是PCD的过程(Pan等2001)。在烟草培养细胞中, 铝通过促进 $\text{Fe}^{2+}$ 介导膜脂过氧化而引起细胞死亡, 这种细胞死亡要求高的胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度和蛋白酶活性, 并产生DNA片段化, 可能属于PCD (Yamamoto等2002)。36  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝离子处理玉米根尖48 h, TUNEL检测呈阳性(Boscolo等2003)。80  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝胁迫水稻8~56 h, 根尖细胞产生DNA断裂(Meriga等2004)。2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理大麦根边缘细胞20~24 h, 出现细胞凋亡现象(Tamas等2005)。王变珍等(2006)研究表明, pH 4.5时, 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度铝处理诱发蚕豆根尖细胞染色体畸变, 那些具有非整倍体、染色体断裂的细胞将由于缺乏必需基因而失去正常功能, 走向死亡。100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理番茄悬浮细胞24 h, 经FDA染色观察只有67.5%

细胞发出荧光, 说明32.5%细胞已经死亡(Yakimova等2007)。6  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理酵母细胞6 h, 通过降低胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度使酵母细胞产生PCD (Zheng等2007)。50~200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理洋葱根细胞, 彗星电泳检测出现明显拖尾(Achary等2008)。詹洁等(2008)研究发现, 铝诱导花生根尖细胞核凝缩, 呈新月状或椭圆状, 出现类似凋亡小体, 表现出明显的PCD形态特征, 铝诱导花生根尖PCD与耐铝能力呈负相关。李荣峰等(2008)报告在400  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Al}^{3+}$  诱导大豆根边缘细胞24 h后, 细胞DNA发生特异性降解并形成阶梯状电泳条带, 用TUNEL检测发现200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和400  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Al}^{3+}$  处理12 h后的大豆根边缘细胞核为阳性或强阳性, 说明在 $\text{Al}^{3+}$  胁迫下边缘细胞的死亡可能是一种程序性死亡形式。50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{AlCl}_3$  处理烟草细胞18 h, 线粒体产生大量超氧阴离子和过氧化氢, 造成膜电势和ATP含量下降, 细胞色素C从线粒体释放出来, 引起PCD (Panda等2008)。100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理烟草6 h, 野生型和非转基因植株的基因组DNA发生降解, 过量表达*Ced-9*植株可以抑制铝诱导的PCD (Wang等2009)。

综上所述, 铝胁迫诱导植物细胞形态结构发

表1 铝诱导植物程序性细胞死亡的报道

Table 1 Reports on Al-induced programmed cell death in plants

植物种类和材料来源	铝处理浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	处理时间/h	特征描述	相关信号分子	相关基因	参考文献
烟草	100	6	DNA降解	$\text{Ca}^{2+}$ 、ROS	<i>VPE</i>	Wang等2009
烟草细胞	50	18	胞质皱缩、核碎裂	$\text{Ca}^{2+}$ 、ROS	Serine protease	Panda等2008
洋葱根细胞	50~200	4	DNA损伤	ROS	—	Achary等2008
花生根尖细胞	400	96	核凝缩呈新月形、有凋亡小体	—	—	詹洁等2008
大豆根边缘细胞	400	24	DNA降解、细胞核TUNEL阳性	ROS	—	李荣峰等2008
番茄悬浮细胞	100	24	胞质收缩、核浓缩	$\text{Ca}^{2+}$ 、ROS、 乙烯	Caspase-like proteases	Yakimova等2007
酵母	6 000	6	细胞皱缩、空泡化、染色质边集、核碎裂、DNA降解	$\text{Ca}^{2+}$	<i>BI-1</i>	Zheng等2007
大麦根边缘细胞	2 000	20~24	—	$\text{H}_2\text{O}_2$	—	Tamas等2005
水稻	80	8~56	DNA降解	—	—	Megria等2004
玉米根尖细胞	36	48	DNA降解	ROS	—	Boscolo等2003
烟草悬浮细胞	100	24	DNA降解	ROS	—	Yamamoto等2002
大麦根尖细胞	100~1 000	8	DNA降解、无凋亡小体	ROS	—	Pan等2001
大豆悬浮细胞	—	—	—	ROS	—	Rath和Barz 2000
烟草悬浮细胞	—	—	胞质浓缩、DNA碎裂	$\text{Ca}^{2+}$	Serine protease	Yamaguchi等1999
烟草悬浮细胞	—	8~12	—	ROS	—	Ikegawa等1998
烟草悬浮细胞	120	18	—	$\text{H}_2\text{O}_2$	—	Yamamoto等1997

—: 无相关数据或描述。

生明显变化,表现出与程序性死亡相符的一些特征,如细胞核浓缩呈新月状、染色质凝集边缘化、DNA断裂电泳出现梯状条带等,有些还形成凋亡小体。

## 2 铝诱导植物PCD的信号分子和相关基因

### 2.1 铝诱导植物PCD的信号分子

越来越多的证据表明,ROS(活性氧)、NO、Ca<sup>2+</sup>、乙烯等是环境胁迫诱导植物PCD的重要信号分子(Lamb和Dixon 1997; Mittler 2002)。

ROS参与铝诱导的PCD已有不少报告。铝在数分钟内诱导玉米根表皮产生ROS(Jones等2006),通过在死细胞内螯合铝来保护根尖(Tamas等2005)。抗坏血酸和过氧化氢酶能显著降低铝诱导的细胞死亡数量,氧化胁迫与铝诱导产生的细胞死亡密切相关(Yakimova等2007)。200、400 μmol·L<sup>-1</sup>铝处理大豆根边缘细胞12 h和24 h, CAT、POD和SOD活性下降,ROS在细胞中持续累积从而引起细胞死亡(李荣峰等2008)。铝胁迫可能通过ROS激活PCD来诱导植物细胞死亡(Giannakoula等2010)。Pan等(2001)研究表明,低浓度铝处理8 h诱导的细胞死亡可能是经过一个ROS活化的信号转导途径。36 μmol·L<sup>-1</sup>铝处理铝敏感玉米诱导形成ROS,导致根尖细胞死亡(Boscolo等2003)。2 mmol·L<sup>-1</sup>铝抑制大麦根生长可能是由过氧化物酶介导产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起细胞死亡所致(Simonovicova等2004)。50~200 μmol·L<sup>-1</sup>铝处理洋葱4 h激发胞外产生ROS,诱导根细胞DNA损伤(Achary等2008)。ROS诱导PCD发生的作用方式还不明确。可能通过破坏线粒体膜电势,打开MPTP(mitochondrial permeability transition pore)(Yamamoto等2002)或者促进线粒体释放细胞色素C(Panda等2008),也可能诱导VPE(vacuolar processing enzyme)活性(Wang等2009)等。

NO在植物生长发育和逆境调节方面发挥着重要作用,是一个植物PCD早期重要信号分子(Hoeberichts和Woltering 2002)。NO对植物氧化胁迫有保护作用,能减少或抑制DNA降解和PCD发生(Beligni等2002)。大豆病原菌诱导的NO释放量增加与超敏反应发生密切相关,NO/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>信号平衡在HR(hypersensitive response)中起着重要整合和调节作用(Delledone等1998, 2001)。外源NO诱导

小麦SOD和CAT活性,提高根部H<sup>+</sup>-ATPase活性,减轻盐胁迫导致的氧化损伤(阮海华等2001)。NO可以阻止ROS前体造成的马铃薯叶片发生PCD(Garcia-Mata和Lamattina 2001)。NO能延缓大麦糊粉层PCD发生(Beligni和Lamattina 2002)。NO能诱导拟南芥、甜橙和大豆悬浮培养细胞发生PCD(Clarke等2000; Saviani等2002)。

适量的外源NO能够缓解铝毒害作用已有不少报告。NO通过提高抗坏血酸水平,阻止POD催化的细胞壁结构组分交联,削弱铝对根伸长的抑制(Horemans等2000);通过激活脂氧合酶和抗氧化酶防止决明子根系氧化胁迫从而减轻铝毒害(Wang和Yang 2005)。Zhang等(2008)研究表明,外源NO通过提高SOD、CAT、APX活性和脯氨酸含量,降低过氧化氢水平,减轻膜脂过氧化损伤,从而增强小麦耐铝性。内源NO水平的改变与植物铝耐性紧密相联,铝通过提高NR活性诱导产生NO,从而缓解根尖氧化胁迫(Wang等2010)。我们发现外源NO通过改善线粒体呼吸功能,提高Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性,从而缓解铝对植物根伸长生长的抑制,且NO促进根伸长生长与根尖细胞壁铝积累下降相关(何虎翼等2006, 2007)。进一步研究表明,铝处理可以降低拟南芥和芙蓉NOS活性,减少根系产生NO(Illes等2006; Tian等2007),外源NO通过阻止芙蓉根系氧化胁迫来减轻铝毒害(Tian等2007)。然而NO与铝诱导PCD的关系还很少报告。詹洁(2009)发现适当浓度的SNP能够缓解一定浓度铝对花生根生长的毒害作用,影响PCD相关基因*Ah-BI-1*和*AhSAG*的表达。

Ca<sup>2+</sup>是植物普遍存在的信号分子,决定着细胞死亡的途径(Zuppini等2003)。在许多细胞凋亡过程中都伴随胞内自由Ca<sup>2+</sup>的大幅增加,特别是在凋亡早期, Ca<sup>2+</sup>往往表现出急剧增加,提示Ca<sup>2+</sup>可能是启动细胞凋亡的早期信号。Kim等(2007)发现凋亡细胞线粒体内存在结晶状的Ca<sup>2+</sup>,含量较正常细胞显著增高。体外实验表明,以不同浓度Ca<sup>2+</sup>作为凋亡诱导剂处理洋葱鳞茎内表皮细胞,观察到大量凋亡小体和较清晰DNA梯(李昊文等2006),其机制可能是胞内Ca<sup>2+</sup>的升高,激活了Ca<sup>2+</sup>依赖性核酸内切酶,导致DNA的规则降解,但Ca<sup>2+</sup>通道阻断剂能阻断细胞凋亡(Ray等1993)。缺氧胁迫下, Ca<sup>2+</sup>依赖

的细胞色素C从小麦线粒体释放出来(Virolainen等2002)。100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理烟草悬浮细胞1 h, 胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 水平显著增加(Sivaguru等2005)。铝处理烟草细胞时, 线粒体 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收增加, 钙离子载体可以降低 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收(Panda等2008)。然而,  $\text{Ca}^{2+}$ 与铝诱导PCD的关系也鲜有报告, 只有一些间接证据。6  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理酵母6 h后胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 显著增加, 抗凋亡因子*Ced-9*、*Bcl-2*和*PpBI-1*通过降低 $\text{Ca}^{2+}$ 信号缓解铝诱导的PCD(Zheng等2007)。钙调蛋白抑制剂W-7阻止铝刺激细胞死亡, 表明铝诱导的细胞死亡可能是一个钙依赖过程(Yakimova等2007)。抗凋亡因子*Ced-9*可能通过调节胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 信号来抑制铝诱导的VPE基因表达(Wang等2009)。由此推测, 铝处理会产生 $\text{Ca}^{2+}$ 信号, 调节相关基因表达, 从而引发PCD。

乙烯是一种植物衰老和细胞胁迫响应激素, 它对植物调节PCD是必要的, 与细胞死亡程度有关(Wang等2002)。乙烯能促进细胞 $\text{Ca}^{2+}$ 重新分布, 通过蛋白质磷酸化激活核酸内切酶, 从而降解DNA; 对ACC氧化酶进行反义抑制或用乙烯拮抗剂处理, 均可延缓植物细胞的衰老与死亡。此外, 乙烯还可以通过与其他信号分子协同作用来控制PCD发生, 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝诱导日本睡莲根尖乙烯爆发, 30 min达到最大释放量, 随后逐渐降低, 6 h后保持在一个相对平稳的水平(Sun等2007)。Yakimova等(2007)研究表明, 一定基准水平的乙烯是促进铝诱导细胞死亡所必需的。

## 2.2 铝诱导植物PCD的相关基因

*Bcl-2*基因家族是研究最多的PCD相关基因, 其由两类成员组成: 一类是促进PCD成员, 如*Bax*、*Bak*、*Bad*和*Bcl-XS*; 另一类是抑制PCD的成员, 如*Bcl-2*、*Bcl-XL*、*Bcl-W*和*Mcl-1*(Reed 2000)。是否发生PCD取决于诱发基因与抑制基因之间比值。正常生理条件下, 抑制基因主要位于线粒体中, 当受环境胁迫时, 原来定位于细胞质中的诱发基因可移位于线粒体中, 同时使抑制基因表达水平降低, 从而导致线粒体膜电位下降和膜透性改变, 释放Cyt C, 激活Caspase, 活化的Caspase又激活内切核酸酶, 引发DNA断裂(Bartoli等2004)。

在促进植物发生PCD的基因中, *Bax*降低膜电

位, 促进细胞色素C释放, 烟草表达异源蛋白*Bax*, 导致类HR反应(Lacomme和Cruz 1999); 衰老相关基因(*SAG*)包括核酸降解相关基因(*RNS*)、蛋白降解相关基因(*SPA*和*SPG*)以及抗氧化相关基因(*SAG101*和*PLD*)等(张海娜等2009), 在植物细胞衰老过程中表达增强; 液泡蛋白酶(VPE)介导病毒诱发的烟草过敏性细胞死亡(Hatrugai等2004); 基因*V*(*PDCD5*)是从TF-1细胞中克隆的一个PCD基因, 在不同物种间具有高度保守性, 它必须被蛋白磷酸激酶激活后才能进入核内, 引起DNA降解(Liu等1999)。超表达*OsPDCD5*基因水稻通过对新合成蛋白质进行翻译后修饰, 改变蛋白质位置, 从而诱发PCD, 特别是在衰老的根系和叶片中(Swidzinski等2004)。

在抑制植物发生PCD的基因中, *Bcl-2*过度表达可抑制线粒体膜通透性改变和Cyt C的释放, 从而减少ROS发生, 抑制细胞凋亡(Crow等2004); *Bax*抑制子(*BI-1*)是一种与*Bax*同源的抑制基因, 主要定位于内质网和核周边区域, 已在拟南芥中被鉴定, 它的超表达能抑制PCD(Kawei-Yamada等2001)。动物细胞凋亡抑制基因*Bcl-XL*和*Ced-9*在烟草中超表达可以显著提高抗逆性(Qiao等2002; Wang等2009)。*ACD2*(accelerated cell death)是一个定位于第4号染色体上, 接近于camalexin的促细胞死亡基因, 拟南芥的*acd2*突变株可以在没有病原体侵染的情况下自发形成病斑(lesion), 并表现出超敏反应症状, 包括细胞壁的自发荧光、抗菌力增强、与抗病相关基因的转录、信号分子水杨酸(salicylic acid, SA)及抗菌化合物的积累等, 因而*acd2*参与了超敏反应的负调控。

此外, 至少还有两类Caspase-like蛋白酶参与植物PCD, 一类是metacaspases(VEIDase)和legumains(YVADase), 如PARP[poly(ADP-ribose) polymerase]、IAP、VPE等。热激处理的烟草悬浮细胞, 内源PARP裂解导致PCD发生(Tian等2000)。IAP(inhibitor of apoptosis protein)蛋白通过抑制Caspase来调节PCD, 转IAP烟草增强了真菌病原体侵染抗性(Dickman等2001)。病毒诱导烟草超敏反应, 必须有类Caspase-1活性的VPE参与(Hatrugai等2004)。另一类是subtilisin-like丝氨酸蛋白酶(VKLDase和VNLDase)(Woltering 2004), 目前了解

还很少。HSPs (heat shock proteins)位于Caspase激活途径下游, 介导细胞死亡的抑制(Beere和Green 2001)。超表达*BAP1*基因和*BON1*基因可以抑制活性氧诱导的细胞死亡(Yang等2007)。通过FRET (fluorescence resonance energy transfer)技术实时检测, 发现在UV-C诱导PCD过程中存在Caspase-3-like蛋白酶的直接证据(Zhang等2009)。

已有的与铝诱导PCD相关基因及其表达报告也不多(表2)。早期研究表明, 铝既可通过结合TFIIIA的锌指结构域阻止TFIIIA与启动子结合, 也可通过降低RNA聚合酶II活性抑制转录来改变凋亡基因表达水平(Hanas和Gunn 1996; Lukiw等1998)。铝能选择性下调线粒体细胞色素C氧化酶亚基III活性, 引发PC12S细胞死亡(Bosetti等2001)。过量摄入铝还可以激活单胺氧化酶活性, 上调miRNA影响凋亡基因表达, 从而导致细胞凋亡(Huh等2005; Lukiw和Pogue 2007)。广谱人类Caspase特异抑制剂Z-Asp-CH<sub>2</sub>-DCB几乎完全抑制铝诱导的番茄悬浮细胞死亡, 丝氨酸/苏氨酸蛋白酶抑制剂TPCK也能有效降低细胞死亡数量(Yakimova等2007)。铝处理时使用丝氨酸蛋白酶抑制剂AEBSF可以降低线粒体ATP依赖蛋白酶活性, 而天冬氨酸蛋白酶抑制剂pepstatin则无此作用(Panda

等2008)。在基因表达和功能分析上发现, 在铝胁迫条件下, 花生*AhSAG*基因和*AhBI-1*基因表达上调, 铝敏感品种*AhSAG*基因表达量显著高于耐铝品种, 铝敏感品种*AhBI-1*基因表达量显著低于耐铝品种, 诱导或促进PCD的发生(詹洁2009)。转*Ced-9*、*Bcl-2*和*PpBI-1*酵母直接提高胞内Ca<sup>2+</sup>水平, 负调控细胞死亡进程, 从而有效增强铝抗性(Zheng等2007); *Ced-9*通过抑制*VPE-1*基因表达负调控细胞死亡, 提高转基因烟草耐铝能力(Wang等2009), 同时, *Ced-9*可以抑制铝诱导的早期响应基因*NtG-DII*、*NtPox*和*parB*的表达。因此, 不同凋亡抑制因子可能通过负调控PCD途径, 来激活植物细胞铝外排机制, 阻止根系积累过多的铝, 从而恢复根系正常伸长生长。

部分动植物细胞凋亡相关蛋白具有多个保守的结构域, 如TNFR (肿瘤坏死因子受体)、Ap-ATPases (凋亡ATP酶)、CDK (依赖细胞周期蛋白的激酶)、CKI (CDK抑制子)和Caspase (半胱氨酸蛋白酶), 并朝垂直遗传和水平遗传两个方向进化, 它们在高等植物进化与起源上有相似之处, 是否也在铝诱导PCD中发挥作用? 研究这些保守结构域的进化对于彻底弄清动植物细胞凋亡进化具有重要意义。

表2 铝诱导植物程序性细胞死亡的信号分子和已克隆的相关基因

Table 2 Signal molecules and related genes on Al-induced programmed cell death in plants

信号分子或相关基因	变化情况	植物材料/表达情况	参考文献
Ca <sup>2+</sup>	增加	烟草、蕃茄、酵母	Wang等2009; Panda等2008; Yakimova等2007; Zheng等2007
ROS	增加	大豆、葱、烟草、蕃茄、大麦、玉米	李荣峰等2008; Achary等2008; Panda等2008; Yakimova等2007; Tamas等2005; Boscolo等2003; Yamamoto等2002
NO	NO/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 平衡	大豆	Delledone等2001
Ethylene	保持一定基准水平	蕃茄	Yakimova等2007
Caspase-like proteases		蕃茄, +	Yakimova等2007
Serine protease		烟草, +	Panda等2008
<i>SAG</i>		花生, +	詹洁2009
<i>VPE</i>		拟南芥、烟草, +	Wang等2009
<i>PDCD5</i>		拟南芥、水稻, +	Swidzinski等2004
<i>BI-1/ABR</i>		拟南芥、水稻、大麦、油菜、烟草, +	Zheng等2007; 詹洁2009
<i>DAD1</i>		拟南芥, -	Hoeberichts和Woltering 2001
<i>ACD2</i>		拟南芥, +	Yao和Greenberg 2006
IAPs		烟草, -	Dickman等2001
HSPs		蕃茄, -	Beere和Green 2001
PIRIN		蕃茄, +	Orzaez等2001

+ : 上调; - : 下调。

### 3 铝诱导植物PCD的信号转导途径

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能通过启动信号转导,引起PTP开放,细胞色素C从线粒体释放出来,从而引发PCD (Tiwari等2002)。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>既可以通过质膜受体Fas和FasL通路调控细胞内的PCD发生,也可以通过调节质膜Ca<sup>2+</sup>通道活性,促进Ca<sup>2+</sup>内流,从而引发信号介导的细胞死亡通路,还可以直接激活依赖Ca<sup>2+</sup>的内切核酸酶或Caspase活化内切核酸酶,最终导致PCD (Kuo等1996)。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以通过质膜上的受体或感应器活化MAPK级联反应, ATANP1-AtMPK3/6-P46MAPK,最后激活转录因子,调节特定基因表达 (Kovtun等2000)。MAPKKK蛋白激酶能使丝/苏氨酸磷酸化, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能激活P38MAPK蛋白激酶,但不能对蛋白磷酸酶PP2A起作用; MAPKK具有酪氨酸蛋白激酶(PTKS)活性, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平的升高会引起PTKS活性的增强,导致蛋白质磷酸化(Gabbita等2000)。

植物逆境胁迫后,细胞内NO含量迅速增加,产生氧化迸发,活化MAPK等蛋白激酶,诱导基因表达,导致DNA断裂和PCD (Lamotte等2005; Casolo等2005; Van Breusegem和Dat 2006)。NO也能激活Ca<sup>2+</sup>通道,直接作用于MAPK (Neill等2003; Capone等2004)。细胞内、外的一些凋亡因子,可能激活内质网、线粒体上的钙通道,使其中的Ca<sup>2+</sup>大量释放,并打开质膜上的钙通道,使胞外Ca<sup>2+</sup>内流,导致细胞质内Ca<sup>2+</sup>增加,进而诱导细胞凋亡。

线粒体是生物体的能量供应站,是易产生活性氧和脂质过氧化的细胞器(Li等2007)。植物铝毒害与线粒体密切相关。铝诱导氧化胁迫,增加线粒体膜电子转运(Tiwari等2002)。铝处理时,进入线粒体的量占根系匀浆中的铝的10%~20%,抑制线粒体膜上Ca<sup>2+</sup>-ATPase和H<sup>+</sup>-PPase活性,提高胞质Ca<sup>2+</sup>浓度(何龙飞等2001)。铝毒害时,根尖细胞产生活性氧,引发膜氧化损伤,导致线粒体不可逆功能障碍(Yamamoto等2002)。加入霍乱毒素能促进铝诱导柱花草根尖柠檬酸分泌,而加入百日咳能有效抑制柠檬酸分泌,表明异三聚体G蛋白介导铝胁迫的信号转导(左方华2007)。铝破坏线粒体氧化还原和钙稳态,ATP过度损耗,诱导MPTP开放,继而细胞色素C从线粒体中释放出来,最终导致细胞死亡。用PTP孔开放抑制剂CsA预处理能有效降低膜电位和ROS含量,推迟PCD的发生

(Panda等2008)。PCD早期凋亡信号刺激引起线粒体膜透性增加,释放膜间隙基质中的蛋白质,如细胞色素C和黄素蛋白,细胞色素C能激活Caspase,活化的Caspase与细胞凋亡激活因子(Apaf-1)相互作用,激活内切核酸酶Procaspase-9,从而激活caspase-3下游信号级联反应,降解染色质DNA;黄素蛋白转移到细胞核,引发染色质边缘性凝聚,并使DNA片段化(Jones 2000; Yao等2004; Swidzinski等2004; Arpagaus等2002; Crompton 1999)。因此,线粒体途径可能是铝诱导植物PCD的主要途径之一。

此外,植物体内还存在PCD的其他途径。液泡作为植物细胞的溶酶体,内含大量蛋白酶、核酸酶及酯酶等水解酶,它既可释放水解酶到细胞质中,引起细胞自溶导致细胞死亡,也可以将胞内结构成分如线粒体、内质网等吞噬入液泡内水解消化(Obara等2001; Li等2003)。在导管分化中,导管分子合成核酸酶,并储存在液泡中,当液泡膜破裂后,释放出来的核酸酶引起细胞核DNA降解,蛋白酶和酯酶则引起所有膜结构破坏,造成细胞自溶(Obara等2001)。铝能够刺激质膜上NADPH氧化酶产生超氧阴离子自由基,被胞质的草酸氧化酶、胺氧化酶等快速还原成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Achary等2008),积累的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与Ca<sup>2+</sup>、NO互作,激活MAPK级联反应,影响转录因子如WRKY、NAM等表达,最终引起细胞死亡(Gechev和Hille 2005)。外界环境压力下,ER胁迫通过提高*rPDCD5*基因表达水平,开启细胞凋亡通道,介导诱发细胞凋亡(Rao等2004)。*BI-1*主要定位于内质网和核周边地区,转*BI-1*拟南芥可以阻止H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的细胞死亡(Kawai-Yamada等2004),而铝胁迫可以上调花生*BI-1*基因的表达(詹洁2009)。铝毒害显著增强*VPE-1*在烟叶中表达,3 h内根系表达快速上升到最高水平,铝可能通过调节胞内Ca<sup>2+</sup>信号间接诱导VPE活性,从而引起PCD (Wang等2009)。

综上所述,对铝诱导PCD的信号途径还不清楚,但与其他PCD相似,它们都是由核基因和线粒体基因共同编制的,ROS、NO、Ca<sup>2+</sup>可能是诱导PCD的信号因子,存在多条可能的信号途径,其中线粒体途径是共同的信号转导途径。铝诱导植物PCD可能的信号转导途径如下:一定浓度铝胁迫,

刺激植物质膜上 $\text{Ca}^{2+}$ 通道、G蛋白和NADPH氧化酶,产生一定浓度的活性氧/活性氮,增加线粒体膜透性,抑制内质网*BI-1*基因表达,诱导线粒体通透性转换孔(MPTP)开放,在降低膜电位的同时,ATP合成减少,影响跨线粒体膜 $\text{Ca}^{2+}$ 转运系统,使Cyt C、 $\text{Ca}^{2+}$ 等释放到细胞质中,影响半胱氨酸酶或其他蛋白酶如*VPE*、*PDCD5*等基因表达,从而诱发表皮、皮层细胞等产生PCD,或者通过MAPKKK-MAPKK-MAPK级联反应调节转录因子(如WRKY)表达,以及半胱氨酸酶或其他蛋白酶如

*VPE*、*PDCD5*等基因表达,从而诱发PCD;较高浓度铝胁迫则产生较高浓度活性氧或活性氮,造成严重的膜脂过氧化,引起生理紊乱,直接导致细胞大量死亡,根伸长生长受到严重抑制(图1)。假设是否正确,还需做深入研究。

由于植物细胞存在细胞壁和液泡,而且铝化学形态多样,铝离子与细胞壁结合以及在胞内分布复杂,因此,其PCD执行过程以及细胞死亡体与其他PCD应有所不同,具有特殊性,如铝受体是否存在? MAPK途径存在与否? 尚不得而知。

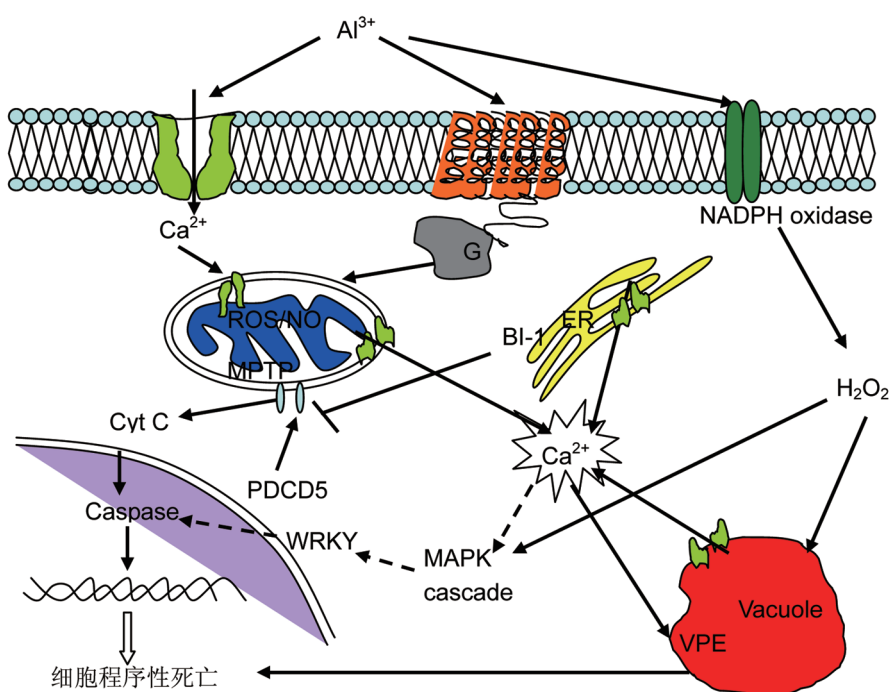


图1 铝诱导植物细胞程序性死亡信号转导途径

Fig.1 Hypothetical model of the signal transduction pathways in the plant programmed cell death induced by aluminum

铝处理后,线粒体和细胞质产生活性氧/一氧化氮迸发、钙超载,ATP过度损耗,线粒体膜转换孔打开,释放细胞色素C到细胞质,同时过氧化氢和钙离子互作,通过MAPK级联反应调节转录因子如WRKY表达,从而促使一些类caspase蛋白酶基因如*BI-1*、*PDCD5*、*VPE*表达下调或上调,最终导致细胞死亡。实线表示已得到证实的途径,虚线表示还未经证实的途径。

#### 4 展望

PCD作为植物抵抗不良环境的一种生理防御反应,可以在受胁迫的根尖细胞通过局部细胞死亡而主动形成一道死亡细胞屏障,避免对其他组织的进一步侵害;同时死细胞的DNA可主动降解为核苷酸,以让植物重新利用或者用来修复逆境胁迫所带来的伤害。近年来,关于铝诱导植物PCD相关信号分子、相关蛋白、相关基因等的研究已

取得一些进展,但其确切机制还不清楚,如不同植物PCD发生差异与植物耐铝关系?线粒体是否在铝诱导PCD中处于调控中心,铝诱导PCD相关信号因子种类,是否存在通用的调控途径或机制,铝诱导PCD机制在分子水平上有何异同,核酸酶和特异性蛋白酶在其中的作用等都尚不得而知。深入研究铝诱导植物PCD机理及分子调控途径,有助于解析植物铝毒害机理和阐明植物耐铝机制,为选育

耐铝能力强的农作物新品种提供理论指导。

### 参考文献

- 何虎翼, 何龙飞, 黎晓峰, 顾明华(2006). 硝普钠对铝胁迫下黑麦和小麦根尖线粒体功能的影响. 植物生理与分子生物学学报, 32 (2): 239~244
- 何虎翼, 何龙飞, 黎晓峰, 顾明华(2007). 铝胁迫下硝普钠对黑麦和小麦根尖细胞壁铝吸附的影响. 广西农业生物科学, 26 (3): 235~239
- 何龙飞, 刘友良, 沈振国, 王爱勤(2001). 铝胁迫对小麦根呼吸作用和一些线粒体酶活性的影响. 作物学报, 27 (6): 857~861
- 李昊文, 李鹏, 印莉萍(2006). 离子胁迫诱导洋葱鳞茎内表皮细胞凋亡. 生物技术通报, (1): 69~72
- 李荣峰, 蔡妙珍, 刘鹏, 徐根娣, 陈敏燕, 梁和(2008).  $Al^{3+}$ 对大豆根边缘细胞程序性死亡诱导的生理生态作用. 植物生态学报, 32 (3): 690~697
- 阮海华, 沈文鹰, 叶茂炳, 徐朗莱(2001). 一氧化氮对盐胁迫下小麦叶片氧化损伤的保护效应. 科学通报, 46 (23): 1993~1997
- 王变珍, 李红孩, 仪慧兰(2006). 酸性铝诱发蚕豆根尖细胞的遗传损伤效应. 山西大学学报(自然科学版), 29 (4): 428~431
- 詹洁(2009). 铝胁迫诱导花生根尖细胞程序性死亡的研究[博士论文]. 南宁: 广西大学
- 詹洁, 寇瑞杰, 何龙飞(2008). 铝对花生根尖细胞形态结构的影响. 中国油料作物学报, 30 (1): 79~83
- 张海娜, 谷俊涛, 郭程瑾, 李存东, 肖凯(2009). 植物衰老的分子生物学基础. 草业学报, 18 (1): 163~170
- 左方华(2007). 铝诱导柱花草根系分泌柠檬酸及其调控机制的研究[硕士论文]. 南宁: 广西大学
- Achary VMM, Jena S, Panda KK, Panda BB (2008). Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. *Ecotox Environ Safe*, 70: 300~310
- Allen PJ (1923). A cytological study of infection of Baart and Kanred wheats by *Puccinia graminis tritici*. *J Agric Res*, 23: 131~152
- Arpagaus S, Rawlyer A, Braendle R (2002). Occurrence and characteristic of the mitochondrial permeability transition in plants. *J Biol Chem*, 277: 1780~1787
- Bartoli CG, Gomez F, Martinez DE, Guiamet JJ (2004). Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Exp Bot*, 55: 1663~1669
- Beere HM, Green DR (2001). Stress management-heat shock protein-70 and the regulation of apoptosis. *Trends Cell Biol*, 11: 6~10
- Beligni MV, Fath A, Bethake PC, Lamattina L, Jones RL (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barely aleurone layers. *Plant Physiol*, 129: 1642~1650
- Boscolo PRS, Menossi M, Jorqe RA (2003). Aluminum induced oxidative stress in maize. *Phytochemistry*, 62: 181~189
- Bosetti F, Solaini G, Tendi EA, Chikhale EG, Chandrasekaran K, Rapoport SI (2001). Mitochondrial cytochrome c oxidase subunit III is selectively down-regulated by aluminum exposure in PC12S cells. *Neuroreport*, 12: 721~724
- Capone R, Tiwari BS, Levine A (2004). Rapid transmission of oxidative and nitrosative stress signals from roots to shoots in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem*, 42: 425~428
- Casolo V, Petrusa E, Krajnkova J, Macri F, Vianello A (2005). Involvement of the mitochondrial  $K^+$ -ATP channel in  $H_2O_2$ - or NO-induced programmed death of soybean suspension cell cultures. *J Exp Bot*, 56: 997~1006
- Clarke A, Desikan R, Hurst RD, Hancock JT, Neill SJ (2000). No way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *Plant J*, 24: 667~677
- Crompton M (1999). The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*, 341: 233~249
- Crow MT, Mani K, Nam YJ, Kitsis RN (2004). The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis. *Circ Res*, 95: 957~970
- Delledone M, Xia YJ, Dixon RA, Lamb C (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394: 585~588
- Delledone M, Zeier J, Marocco A, Lamb C (2001). Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 13454~13459
- Dickman MB, Park YK, Oltersdorf T, Li W, Clemente T, French R (2001). Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 6957~6962
- Gabbita SP, Robinson KA, Stewart CA, Floyd RA, Hensley K (2000). Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction. *Arch Biochem Biophys*, 376: 1~13
- Garica-Mata C, Lamattina L (2001). Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol*, 126: 1196~1204
- Gechev TS, Hille J (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J Cell Biol*, 168 (1): 17~20
- Giannakoula A, Moustakas M, Syros T, Yupsanis T (2010). Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. *Environ Exp Bot*, 67: 487~494
- Hall JL (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot*, 53: 1~11
- Hanas JS, Gunn CG (1996). Inhibition of transcription factor IIIA-DNA interactions by xenobiotic metal ions. *Nucleic Acids Res*, 24: 924~930
- Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, Meshi T, Tsuda S, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2004). A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science*, 305: 855~858
- Hoerberichts FA, Woltering EJ (2001). Cloning and analysis of a defender against apoptotic cell death (DAD1) homologue from tomato. *J Plant Physiol*, 158: 125~128
- Hoerberichts FA, Woltering EJ (2002). Multiple mediators of plant programmed cell death: interplay of conserved cell death mechanisms and plant-specific regulators. *BioEssays*, 25: 47~57
- Horemans N, Foyer CH, Potters G, Asard H (2000). Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiol Biochem*, 38: 531~540
- Huh JW, Choi MM, Lee JH, Yang SJ, Kim MJ, Choi J, Lee KH, Lee JE, Cho SW (2005). Activation of monoamine oxidase isotypes



- by prolonged intake of aluminum in rat brain. *J Inorg Biochem*, 99: 2088~2091
- Ikegawa H, Yamamoto Y, Matsumoto H (1998). Cell death caused by a combination of aluminum and iron in cultured tobacco cells. *Physiol Plant*, 104: 474~478
- Illes P, Schlicht M, Pavlovkin J, Lichtscheidl I, Baluska F, Ovecka M (2006). Aluminium toxicity in plants: internalization of aluminium into cells of the transition zone in *Arabidopsis* root apices related to changes in plasma membrane potential, endosomal behaviour, and nitric oxide production. *J Exp Bot*, 57: 4201~4213
- Jones A (2000). Does the plant mitochondrion integrate cellular stress and regulate programmed cell death? *Trends Plant Sci*, 5: 225~230
- Jones DL, Blancaflor EB, Kochian LV, Gilroy S (2006). Spatial coordination of aluminum uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. *Plant Cell Environ*, 29: 1309~1318
- Kawai-Yamada M, Ohori Y, Uchimiya H (2004). Dissection of *Arabidopsis* Bax inhibitor-1 suppressing Bax-, hydrogen peroxide-, and salicylic acid-induced cell death. *Plant Cell*, 16: 21~32
- Kawai-Yamada M, Jin L, Yoshinaga K, Hirata A, Uchimiya H (2001). Mammalian Bax-induced plant cell death can be down-regulated by overexpression of *Arabidopsis* Bax inhibitor-1 (AtBI-1). *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 12295~12300
- Kim HJ, Lim PO, Hong HG (2007). Molecular regulation of leaf senescence. In: Gan S (ed). *Senescence Processes in Plants*. Oxford: Blackwell Publishing, 231~255
- Kochian LV (1995). Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 46: 237~260
- Kovtun Y, Chiu WL, Tena G, Sheen J (2000). From the cover: functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 2940~2945
- Kuo A, Cappelluti S, Cervantes-Cervantes M, Rodriguez M, Bush DS (1996). Okadaic acid, a protein phosphatase inhibitor, blocks calcium changes, gene expression, and cell death induced by gibberellin wheat aleurone cells. *Plant Cell*, 8: 259~269
- Lacomme C, Cruz SS (1999). Bax-induced cell death in tobacco is similar to the hypersensitive response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 7956~7961
- Lamb C, Dixon RA (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48: 251~275
- Lamotte O, Courtois C, Barnavon L, Pugin A, Wendehenne D (2005). Nitric oxide in plants: the biosynthesis and signaling properties of a fascinating molecule. *Planta*, 221: 1~4
- Leopold AC (1961). Senescence in plant development. *Science*, 134: 1727~1734
- Li DH, Yang X, Cui KM, Li ZL (2003). Morphological changes in nucellar cells undergoing programmed cell death (PCD) during pollen chamber formation in *Ginkgo biloba*. *Acta Bot Sin*, 45: 53~63
- Li JY, Jiang AL, Zhang W (2007). Salt stress-induced programmed cell death in rice root tip cells. *J Integr Plant Biol*, 49: 481~486
- Liu HT, Wang YG, Zhang YM, Song QS, Di CH, Chen GH, Tang J, Ma DL (1999). TFAR19, a novel apoptosis-related gene cloned from human leukemia cell line TF-1 could enhance apoptosis of some tumor cells induced by growth factor withdrawal. *Biochem Biophys Res Commun*, 245: 203~210
- Lukiw WJ, LeBlanc HJ, Carver LA, McLachlan DRC, Bazan NG (1998). Run-on gene transcription in human neocortical nuclei. Inhibition by nanomolar aluminum and implications for neurodegenerative disease. *J Mol Neurosci*, 11: 67~78
- Lukiw WJ, Pogue AI (2007). Induction of specific micro RNA (miRNA) species by ROS-generating metal sulfates in primary human brain cells. *J Inorg Biochem*, 101: 1265~1269
- Meriga B, Reddy BK, Rao KR, Reddy LA, Kishor PBK (2004). Aluminum-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). *J Plant Physiol*, 161: 63~68
- Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 7: 405~410
- Neill SJ, Desikan R, Hancock JT (2003). Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol*, 159: 11~35
- Obara K, Kuriyama H, Fukuda H (2001). Direct evidence of active and rapid nuclear degradation triggered by vacuole rupture during programmed cell death in *Zinnia*. *Plant Physiol*, 125: 615~626
- Orzaez D, de Jong AJ, Woltering EJ (2001). A tomato homologue of the human protein PIRIN is induced during programmed cell death. *Plant Mol Biol*, 46: 459~468
- Pan JW, Zhu MY, Chen H (2001). Aluminum induced cell death in root tip cells of barley. *Environ Exp Bot*, 46: 71~79
- Panda SK, Yamamoto Y, Kondo H, Matsumoto H (2008). Mitochondrial alterations related to programmed cell death in tobacco cells under aluminum stress. *C R Biol*, 331: 597~610
- Qiao JB, Mitsuhashi I, Yazaki Y, Sakano K, Gotoh Y, Miura M, Ohashi Y (2002). Enhanced resistance to salt, cold and wound stresses by overproduction of animal cell death suppressors Bcl-xL and Ced-9 in tobacco cells—their possible contribution through improved function of organelle. *Plant Cell Physiol*, 43: 992~1005
- Rao RV, Poksay KS, Castro-Obregon S, Schilling B, Row RH, del Rio G, Gibson BW, Ellerby HM, Bredesen DE (2004). Molecular components of a cell death pathway activated by endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem*, 279 (1): 177~187
- Rath I, Barz W (2000). The role of lipid peroxidation in aluminium toxicity in soybean cell suspension cultures. *Z Naturforsch*, 55c: 957~964
- Ray SD, Kamendulis LM, Gurule MW, Yorkin RD, Corcoran GB (1993).  $Ca^{2+}$  antagonists inhibit DNA fragmentation and toxic cell death induced by acetaminophem. *FASEB J*, 7 (5): 453~463
- Reed JC (2000). Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*, 157: 1415~1430
- Saviani EE, Orsi CH, Oliveira JF, Pinto-Maglioli CA, Salgado I (2002). Participation of the mitochondrial permeability transition pore in nitric oxide-induced plant cell death. *FEBS Lett*, 510: 136~140
- Simonovicova M, Huttova J, Mistrik I, Siroka B, Tamas L (2004). Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell

- death due to peroxidase-mediated hydrogen peroxide production. *Protoplasma*, 224: 91~98
- Sivaguru M, Yamamoto Y, Rengel Z, Ahn SJ, Matsumoto H (2005). Early events responsible for aluminum toxicity symptoms in suspension-cultured tobacco cells. *New Phytol*, 165: 99~109
- Sun P, Tian QY, Zhao MG, Dai XY, Huang JH, Li LH, Zhang WH (2007). Aluminum-induced ethylene production is associated with inhibition of root elongation in *Lotus japonicus* L. *Plant Cell Physiol*, 48 (8): 1229~1235
- Swidzinski JA, Leaver CJ, Sweetlove LJ (2004). A proteomic analysis of plant programmed cell death. *Phytochemistry*, 65: 1829~1838
- Tamas L, Budlkova S, Huttova J, Mistrik I, Simonovicovicova M, Siroka B (2005). Aluminum-induced cell death of barley-root border cells is correlated with peroxidase- and oxalate oxidase-mediated hydrogen peroxide production. *Plant Cell Reports*, 24: 189~194
- Tian QY, Sun DH, Zhao MG, Zhang WH (2007). Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) underlies aluminium-induced inhibition of root elongation in *Hibiscus moscheutos*. *New Phytol*, 174: 322~331
- Tian RH, Zhang GY, Yan CH, Dai YR (2000). Involvement of poly(ADP-ribose) polymerase and activation of caspase-3-like protease in heat shock-induced apoptosis in tobacco suspension cells. *FEBS Lett*, 474: 11~15
- Tiwari BS, Belenghi B, Levine A (2002). Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition and programmed cell death. *Plant Physiol*, 128: 1271~1281
- Van Breusegem F, Dat JF (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol*, 141: 384~390
- Virolainen E, Blokhina O, Fagerstedt K (2002).  $Ca^{2+}$ -induced high amplitude swelling and cytochrome c release from wheat (*Triticum aestivum* L.) mitochondria under anoxic stress. *Ann Bot*, 90: 509~516
- Wang HH, Huang JJ, Bi YR (2010). Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots. *Plant Sci*, 179 (3): 281~288
- Wang KLC, Li H, Ecker JR (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell*, 14: S131~S151
- Wang WZ, Pan JW, Zheng K, Chen H, Shao HH, Guo YJ, Bian HW, Han N, Wang JH, Zhu MY (2009). Ced-9 inhibits Al-induced programmed cell death and promotes Al tolerance in tobacco. *Biochem Biophys Res Commun*, 383: 141~145
- Wang YS, Yang ZM (2005). Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L. *Plant Cell Physiol*, 46 (12): 1915~1923
- Woltering EJ (2004). Death proteases come alive. *Trends Plant Sci*, 10: 469~472
- Yakimova ET, Kapchina-Toteva VM, Woltering EJ (2007). Signal transduction events in aluminum-induced cell death in tomato suspension cells. *J Plant Physiol*, 164: 702~708
- Yamaguchi Y, Yamamoto Y, Matsumoto H (1999). Cell death process initiated by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells (*Nicotiana tabacum*): apoptosis-like cell death mediated by calcium and proteinase. *Soil Sci Plant Nutr*, 45 (3): 647~657
- Yamamoto Y, Hachiya A, Matsumoto H (1997). Oxidative damage to membranes by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells. *Plant Cell Physiol*, 38: 1333~1339
- Yamamoto Y, Kobayashi Y, Devi SR, Rikiishi S, Matsumoto H (2002). Aluminum toxicity is associated with mitochondrial function and the production of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiol*, 128: 63~72
- Yang HJ, Yang SH, Li YQ, Hua J (2007). The *Arabidopsis* *BAP1* and *BAP2* genes are general inhibitors of programmed cell death. *Plant Physiol*, 145: 135~146
- Yao N, Eisfelder BJ, Marvin J, Greenberg JT (2004). The mitochondrion—an organelle commonly in programmed cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 40: 596~610
- Yao N, Greenberg JT (2006). *Arabidopsis* ACCELERATED CELL DEATH2 modulates programmed cell death. *Plant Cell*, 18: 397~411
- Zhang H, Li YH, Hu LY, Wang SH, Zhang FQ, Hu KD (2008). Effects of exogenous nitric oxide donor on antioxidant metabolism in wheat leaves under aluminum stress. *Russ J Plant Physiol*, 55: 469~474
- Zhang LR, Xu QX, Xing D, Gao CJ, Xiong HW (2009). Real-time detection of caspase-3-like protease activation *in vivo* using fluorescence resonance energy transfer during plant programmed cell death induced by ultraviolet C overexposure. *Plant Physiol*, 150: 1773~1783
- Zheng K, Pan JW, Ye L, Fu Y, Peng HZ, Wan BY, Gu Q, Bian HW, Han N, Wang JH et al (2007). Programmed cell death-involved aluminum toxicity in yeast alleviated by antiapoptotic members with decreased calcium signals. *Plant Physiol*, 143: 38~49
- Zuppini A, Baldan B, Millioni R, Favaron F, Navazio L, Mariani P (2003). Chitosan induced  $Ca^{2+}$ -mediated programmed cell death in soybean cells. *New Phytol*, 161: 557~568