

## 外源一氧化碳对铁胁迫下的离体水稻叶片氧化伤害的缓解作用

吴亭亭, 徐晟, 孙永刚, 吴洪洪, 沈文飏\*

南京农业大学生命科学学院, 生命科学实验中心, 南京农业大学-贝克曼离心机合作示范实验室, 南京 210095

**摘要:** 不同饱和度的外源 CO 水溶液预处理离体水稻叶片, 可以浓度依赖性地缓解铁胁迫引起的硫代巴比妥酸反应物质 (TBARS) 含量的上升, 并诱导铁蛋白基因表达。此外, 50% 饱和度的 CO 水溶液还能不同程度地逆转由于柠檬酸铁胁迫引起的叶中抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的上升。

**关键词:** 离体水稻叶片; 铁胁迫; 一氧化碳; 氧化伤害; 铁蛋白

## Alleviation of Exogenous Carbon Monoxide on Iron-Induced Oxidative Damage in Detached Leaves of *Oryza sativa* L.

WU Ting-Ting, XU Sheng, SUN Yong-Gang, WU Hong-Hong, SHEN Wen-Biao\*

College of Life Sciences, Laboratory Center of Life Sciences, Cooperative Demonstration Laboratory of Centrifuge Technique, Nanjing Agricultural University and Beckman Coulter Ltd. Co., Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract:** In this report, pretreatment with different exogenous carbon monoxide (CO)-saturated aqueous solutions was not only able to dose-dependently alleviate the increase of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content in Fe-citrate-stressed detached rice leaves, but also to induce the expression of ferritin genes. Further research also showed that 50% CO-saturated aqueous solution could block differentially the enhancement of ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) activities.

**Key words:** detached rice leaves; iron stress; carbon monoxide; oxidative damage; ferritin

作为一种过渡金属元素, 铁是细胞色素及氧化还原依赖性蛋白必需的辅助因子, 参与植物的光合作用、呼吸作用以及氮代谢等生命活动 (Guerinot 和 Yi 1994)。研究表明, 植株体内铁过量积累会发生 Fenton 反应 ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ ), 诱发羟基自由基 (hydroxyl radical,  $\cdot\text{OH}$ ) 的产生, 从而加剧细胞膜的氧化伤害, 破坏其完整性, 最终导致细胞死亡 (Guerinot 和 Yi 1994)。Pekker 等 (2002) 报道, 过量铁引起的抗氧化机制与其他金属离子引起的抗氧化机制不同, 铁可以作为酶的辅基, 促进抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX) 的合成。已知, 铁蛋白是细胞内游离铁的“储存库”, 能够有效存储体内过量游离铁, 降低 Fenton 反应, 从而减少过量铁对植物造成的损伤 (Briat 和 Lobléaux 1997)。Majerus 等 (2007) 的研究揭示, 过量硫酸亚铁 ( $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 胁迫可以提高非洲水稻根、鞘和叶片内 APX 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的活性, 并可诱导脂质过氧化以及具有抗氧化特性的铁蛋白表达。Fourcroy 等 (2004) 的研究结果也支持 Pekker 等 (2002) 的观点, 并认为铁引起的

APX 基因的表达不受过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 的影响。同时, 他们还认为铁诱导的铁蛋白能与细胞内过量的游离铁离子结合, 从而降低铁通过 Fenton 反应产生的  $\cdot\text{OH}$ , 减轻其对植物细胞的氧化伤害。

另有研究表明, 过量铁能够引起一氧化氮 (NO) 的积累, 进而诱导铁蛋白的表达 (Murgia 等 2002)。与 NO 相类似, 由血红素加氧酶 (heme oxygenase, HO) 催化产生的一氧化碳 (CO) 也是动植物细胞内的信号分子, 能够调节细胞内多种新陈代谢过程 (Dawson 和 Snyder 1994; Dulak 和 Józkowicz 2003; 陈坚等 2009)。Otterbein 等 (2003) 的工作揭示, 低浓度的 CO 可以缓解小鼠肺部的氧化伤害。近年来的研究表明, CO 也参与植物的各种生理代谢过程。例如, 外源 CO 可以缓解盐胁迫下水稻悬浮细胞的死亡进程, 并与其对抗氧化防护的调节有关 (王智等 2009)。此外, 我们实验室最近的研究 (Xie 等 2008) 表明, 盐胁迫可以诱导小麦幼苗叶中的 CO 释

收稿 2009-10-15 修定 2009-11-30

\* 通讯作者 (E-mail: wshenh@njau.edu.cn; Tel: 025-84395773)。

放, 外源 CO 可以通过上调 NO 提高小麦幼苗的耐盐性。Han 等(2008)的结果表明, CO 预处理不仅降低镉胁迫引起的紫花苜蓿根部 APX 活性及其表达量的上升, 而且还可通过调节谷胱甘肽的代谢提高其抵抗重金属镉胁迫的能力。据此, 本文以离体水稻叶片为材料, 研究 CO 预处理对铁胁迫下离体水稻叶片硫代巴比妥酸反应物质(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)含量、抗氧化酶活性以及铁蛋白编码基因表达的影响。

## 材料与方 法

实验材料选择中晚熟水稻品种‘武育粳3号’(*Oryza sativa* L. cv. Wuyujing 3), 由江苏省农业科学院提供。50 mmol·L<sup>-1</sup>的柠檬酸铁母液由100 mmol·L<sup>-1</sup>硫酸亚铁(用0.06 mol·L<sup>-1</sup> HCl 溶解)和200 mmol·L<sup>-1</sup>柠檬酸钠等体积混合而成, 然后用去离子水稀释至实验所需要的浓度(50、100、500 和 1 000 μmol·L<sup>-1</sup>)。根据 Xie 等(2008)文中的方法, 用浓硫酸与甲酸共热制备 CO 气体[ $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{液}) + \text{HCOOH}(\text{液}) \rightarrow \text{CO}(\text{气}) + \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}(\text{液})$ ], 得到的 CO 气体通入盛有去离子水的玻璃烧杯中, 持续 15 min, 以确保溶液达到饱和, 然后用去离子水稀释至实验所需要的浓度(1%、10% 和 50%), 现用现配。CO 清除剂血红蛋白(haematoglobin, Hb)购自南京基天生物技术有限责任公司。

水稻种子表面用 5% 次氯酸钠消毒 30 min, 清水洗净, 转入 30 °C 暗处催芽培养 2 d。挑取大小一致的露白种子排放于浮板上, 在光照培养箱[光照周期为 14 h (光)/10 h (暗), 温度为 30 °C, 光照强度约为 300 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>]中培养 12 d。取两叶一心期水稻幼苗叶片, 从茎端 1 cm 处剪去根, 将剪下的茎端及其上部置于去离子水中静置 1 h, 以尽量缓解伤害胁迫; 然后置于不同浓度的柠檬酸铁(0、50、100、500 和 1 000 μmol·L<sup>-1</sup>)中处理 9 h 或 24 h。为了进一步深入研究, 进行如下处理, 各处理代号和处理方法分述如下: (1) Con → Con, 去离子水处理 3 h 后, 用去离子水继续处理 9 h; (2) Con → Fe, 去离子水处理 3 h 后, 用 500 μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h; (3) CO 1% → Fe, 1% CO 饱和水溶液处理 3 h 后, 用 500 μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h; (4) CO 10% → Fe, 10% CO 饱和水溶液处理 3 h 后, 用 500

μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h; (5) CO 50% → Fe (CO → Fe), 50% CO 饱和水溶液处理 3 h 后, 用 500 μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h; (6) CO 100% → Fe, 100% CO 饱和水溶液处理 3 h 后, 用 500 μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h; (7) CO → Con, 50% CO 饱和水溶液处理 3 h 后, 用去离子水再处理 9 h; (8) Hb → Con, 0.1 g·L<sup>-1</sup> Hb 处理 3 h 后, 用去离子水再处理 9 h; (9) Hb → Fe, 0.1 g·L<sup>-1</sup> Hb 处理 3 h 后, 用 500 μmol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸铁再处理 9 h。上述所用处理液的 pH 值均用 NaOH/HCl 调至 5.4。

膜脂质过氧化(以 TBARS 为指标)根据 Han 等(2008)文中方法测定, APX 和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性参照 Huang 等(2006)和 Sa 等(2007)文中方法测定, SOD 活性按照 Beauchamp 和 Fridovich (1971)文中方法测定。以牛血清白蛋白为标准蛋白测定蛋白含量(Bradford 1976)。

处理后离体水稻叶片用液氮研磨, 按照 Trizol Reagent (Invitrogen, Gaithersburg, MD)说明书提取总 RNA, 并进行 RT-PCR 分析。cDNA 第一条链合成的反应体系为 20 μL, 含有 1.5 μL RNA 样品和 2.5 U 鸟类成髓细胞性白血病病毒逆转录酶(AMV 反转录酶, TaKaRa)。PCR 反应体系为 25 μL, 含有 1 μL cDNA, 10 pmol·L<sup>-1</sup> 终浓度的引物, 1 U Taq™ 聚合酶; 反应循环参数为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 50~56 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 40 s, 25~30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。实验中针对各目的基因使用的引物分述如下。*OsFer-1* (GenBank 登录号为 AF519570), 上游引物为 5' ACGAGCAGATCAA-TGTGGAGTAC 3', 下游引物为 5' ATGGATGGA-AGAAACGAAACC 3', 扩增片段长度为 529 bp。*OsFer-2* (GenBank 登录号为 AF519571), 上游引物为 5' CCTTGACAGAGTTCGACCAT 3', 下游引物为 5' CATTGCTACTGCGTGCTT 3', 扩增片段长度为 404 bp。水稻 *Actin* (GenBank 登录号为 NM\_001057621), 上游引物为 5' CTTCGTCTC-GACCTTGCTGGG 3', 下游引物为 5' GAGAAACA-AGCAGGAGGACGG 3', 扩增片段长度为 667 bp。以 *Actin* 基因 mRNA 的相对含量为内参, 对目的基因的转录本水平进行 RT-PCR 半定量分析。凝胶电泳结束后, 用溴化乙锭染色后检测, 并克隆测序验证。采用 Quantity One 软件对相应基因相对表

达进行条带定量分析, 为便于比较, 设定相应对照处理(0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理 9 h 或 Con  $\rightarrow$  Con)的 *OsFer* 表达量为 1。

实验结果至少是 3 次独立实验的平均值, 用 SPSS 8.0 软件作统计分析。选择 Duncan's multiple test 作显著性统计分析。

## 结果与讨论

### 1 柠檬酸铁对离体水稻叶片脂质过氧化的影响

氧化应激发生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)能氧化生物膜, 产生大量脂质过氧化产物。其中, TBARS 涵盖了大部分氧化伤害产生的醛酮类物质, 因此, 常用来作为衡量脂质过氧化的指标 (Umbach 等 2005)。图 1 结果显示, 柠檬酸铁胁迫下离体水稻叶片 TBARS 含量的上升具有浓度梯度和时间诱导效应。与去离子水(0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁)相比, 500 和 1 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理 9 h 后,

叶片内 TBARS 含量分别上升了 55.2% 和 63.6%。此外, 用去离子水处理 24 h 的水稻叶中 TBARS 含量变化相对较小, 而 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理的 TBARS 含量则随着处理时间的延长而呈上升趋势 (24 h 内,  $P < 0.05$ )。

### 2 不同浓度柠檬酸铁对离体水稻叶中抗氧化酶活性及铁蛋白基因表达的影响

表 1 和图 2 结果显示, (1)柠檬酸铁胁迫 9 h 离体水稻叶片中 APX、SOD 和 CAT 酶活性随柠檬酸铁浓度的增加呈不同程度的上升趋势。与去离子水处理相比, 500 和 1 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁胁迫的各种酶活性均达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理后的 APX、SOD 和 CAT 活性分别上升 37.5%、64.4% 和 16.0% (表 1); (2)柠檬酸铁还明显诱导铁蛋白编码基因的表达。其中, 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理 9 h 的 *OsFer-1* 和 *OsFer-2* 转录本的诱导表达效果较明显, 且 *OsFer-1* 基因诱

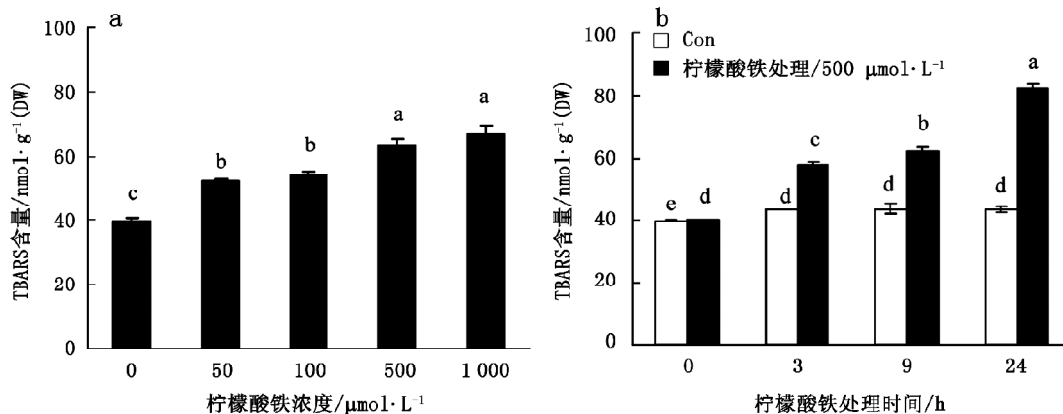


图 1 不同浓度柠檬酸铁对离体水稻叶片中 TBARS 含量及其时间进程变化的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of Fe-citrate on TBARS contents in detached rice leaves and its time-course  
数据中不同的字母表示差异达到  $P < 0.05$  水平。

表 1 不同浓度柠檬酸铁处理 9 h 后对离体水稻叶片中 APX、SOD 和 CAT 活性的影响

Table 1 Effects of different concentrations of Fe-citrate (continuance of stress for 9 h) on APX, SOD, and CAT activities in detached rice leaves

柠檬酸铁浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	APX/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白) $\cdot\text{min}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)	CAT/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白) $\cdot\text{min}^{-1}$
0	0.40 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	5.28 $\pm$ 0.191 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>
50	0.43 $\pm$ 0.013 <sup>c</sup>	5.36 $\pm$ 0.862 <sup>b</sup>	0.27 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>
100	0.46 $\pm$ 0.017 <sup>b</sup>	5.88 $\pm$ 0.328 <sup>b</sup>	0.28 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>
500	0.55 $\pm$ 0.005 <sup>a</sup>	8.68 $\pm$ 0.509 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup>
1 000	0.57 $\pm$ 0.026 <sup>a</sup>	9.49 $\pm$ 0.905 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.012 <sup>a</sup>

同一列数字旁字母不同表示在  $P < 0.05$  水平差异显著。

导表达丰度较高;与 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理相比, 1 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁处理则下调了 *OsFer-1* 和 *OsFer-2* 基因的表达(图2)。

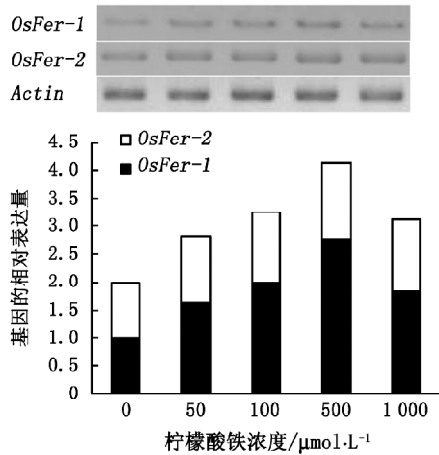


图2 不同浓度柠檬酸铁处理9 h后对离体水稻叶片中铁蛋白基因表达的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of Fe-citrate (continuance of stress for 9 h) on *OsFer* gene transcripts in detached rice leaves

### 3 外源 CO 对柠檬酸铁胁迫下离体水稻叶中脂质过氧化和铁蛋白基因表达的影响

图3结果表明,与单加柠檬酸铁处理(Con  $\rightarrow$  Fe)相比,不同饱和度的CO水溶液预处理能不同程度缓解 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸铁胁迫9 h对水稻叶片的脂质伤害。其中,50%和100% CO饱和水溶液

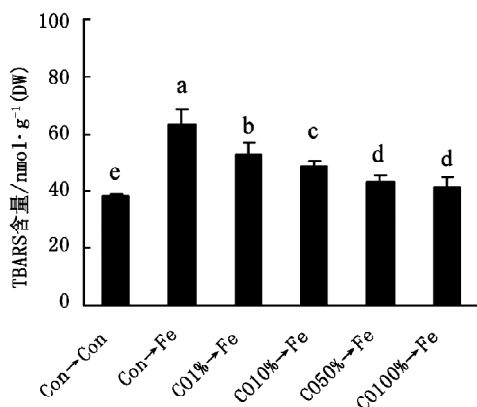


图3 不同饱和度CO溶液预处理对柠檬酸铁胁迫9 h后离体水稻叶片中TBARS含量的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of CO-saturated aqueous solution pretreatment on TBARS contents in 9-hour-Fe-citrate-stressed detached rice leaves

处理的缓解效果最明显,其叶片中TBARS含量分别下降30.8%和37.4%。

半定量RT-PCR的结果显示,不同饱和度的CO水溶液预处理柠檬酸铁胁迫9 h后的水稻叶片,能进一步诱导 *OsFer-1* 基因的表达(图4)。相反,对 *OsFer-2* 基因表达的诱导效果较小。鉴于铁蛋白具有抗氧化的特性(Murgia等2002; Pekker等2002; Fourcroy等2004; Majerus等2007),推测铁蛋白OsFer-1可能参与了CO抗柠檬酸铁的胁迫。

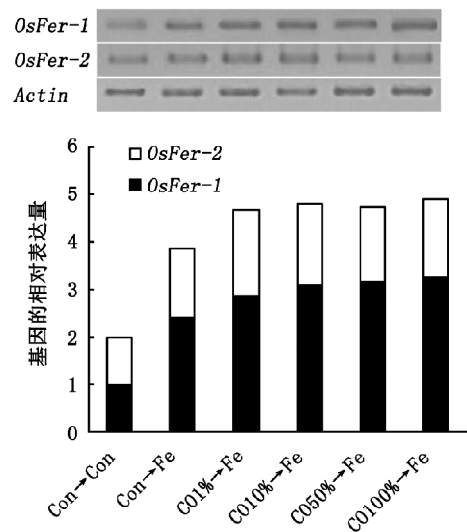


图4 不同饱和度CO溶液预处理对柠檬酸铁胁迫下离体水稻叶片中铁蛋白基因表达的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of CO-saturated aqueous solution pretreatment on *OsFer* gene transcripts in Fe-citrate-stressed detached rice leaves

### 4 外源 CO 对柠檬酸铁胁迫下离体水稻叶片中抗氧化酶活性的影响

表2结果显示,50% CO饱和水溶液可以阻断柠檬酸铁胁迫9 h引起的离体水稻叶中APX和SOD活性的增高趋势,前者与我们最近的结果(Han等2008)是一致的。其中,柠檬酸铁胁迫叶片经50% CO饱和水溶液预处理(CO  $\rightarrow$  Fe)后,APX活性接近对照处理(Con  $\rightarrow$  Con)的数值;SOD的活性则比柠檬酸铁胁迫下(Con  $\rightarrow$  Fe)叶片中的降低19.7%。不过,50% CO饱和水溶液对CAT活性的影响则较小。值得注意的是,CO的清除剂Hb预处理(Hb  $\rightarrow$  Fe)后,APX和SOD的活性均显著超过柠檬酸铁单独处理(Con  $\rightarrow$  Fe)的数值( $P < 0.05$ ),这暗示柠檬酸铁还可能

表2 CO溶液(50%)预处理对柠檬酸铁胁迫9 h后离体水稻叶片中APX、SOD和CAT活性的影响

Table 2 Effects of CO-saturated aqueous solution (50%) pretreatment on APX, SOD, and CAT activities in 9-hour-Fe-citrate-stressed detached rice leaves

处理	APX/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{蛋白})\cdot\text{min}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{蛋白})$	CAT/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{蛋白})\cdot\text{min}^{-1}$
Con → Con	0.45±0.013 <sup>c</sup>	5.70±0.226 <sup>d</sup>	0.27±0.002 <sup>bc</sup>
Con → Fe	0.57±0.009 <sup>b</sup>	8.85±0.154 <sup>b</sup>	0.30±0.009 <sup>a</sup>
CO → Con	0.43±0.009 <sup>c</sup>	5.70±0.174 <sup>d</sup>	0.25±0.006 <sup>c</sup>
CO → Fe	0.47±0.012 <sup>c</sup>	7.11±0.098 <sup>c</sup>	0.29±0.006 <sup>ab</sup>
Hb → Con	0.43±0.021 <sup>c</sup>	6.20±0.126 <sup>d</sup>	0.26±0.007 <sup>c</sup>
Hb → Fe	0.62±0.020 <sup>a</sup>	9.69±0.131 <sup>a</sup>	0.31±0.008 <sup>a</sup>

同一列数字旁字母不同表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。

导致HO基因表达的诱导以及内源CO的释放。

综上所述,我们认为,外源CO预处理能缓解因柠檬酸铁胁迫所引起的TBARS含量的上升,逆转APX、SOD和CAT活性的上升,并可能通过调节离体水稻叶中铁蛋白的基因表达来缓解过量柠檬酸铁胁迫所导致的叶片氧化伤害。

### 参考文献

- 陈坚, 耿贝贝, 沈文飏, 黄丽琴(2009). 一氧化碳在植物体内的信号转导作用. 生命的化学, 29 (2): 283~286
- 王智, 陈楚琴, 袁星星, 徐晟, 杨清, 沈文飏(2009). 外源一氧化碳对盐胁迫下水稻悬浮细胞死亡的缓解效应. 植物生理学通讯, 45 (7): 643~646
- Beauchamp C, Fridovich I (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem, 44 (1): 276~287
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72 (1-2): 248~254
- Briat J-F, Lobréaux S (1997). Iron transport and storage in plants. Trends Plant Sci, 2 (5): 187~193
- Dawson TM, Snyder SH (1994). Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. J Neurosci, 14 (9): 5147~5159
- Dulak J, Józkwicz A (2003). Carbon monoxide – a “new” gaseous modulator of gene expression. Acta Biochim Pol, 50 (1): 31~47
- Fourcroy P, Vansuyt G, Kushnir S, Inzé D, Briat J-F (2004). Iron-regulated expression of a cytosolic ascorbate peroxidase encoded by the *APX1* gene in *Arabidopsis* seedlings. Plant Physiol, 134 (2): 605~613
- Guerinot ML, Yi Y (1994). Iron: nutritious, noxious, and not readily available. Plant Physiol, 104 (3): 815~820
- Han Y, Zhang J, Cheng X, Gao Z, Xuan W, Xu S, Ding X, Shen W (2008). Carbon monoxide alleviates cadmium-induced oxidative damage by modulating glutathione metabolism in the roots of *Medicago sativa*. New Phytol, 177 (1): 155~166
- Huang B-K, Xu S, Xuan W, Li M, Cao Z-Y, Liu K-L, Ling T-F, Shen W-B (2006). Carbon monoxide alleviates salt-induced oxidative damage in wheat seedling leaves. J Integr Plant Biol, 48 (3): 249~254
- Majerus V, Bertin P, Swenden V, Fortemps A, Lobréaux S, Lutts S (2007). Organ-dependent responses of the African rice to short-term iron toxicity: ferritin regulation and antioxidative responses. Biol Plantarum, 51 (2): 303~312
- Murgia I, Delledonne M, Soave C (2002). Nitric oxide mediates iron-induced ferritin accumulation in *Arabidopsis*. Plant J, 30 (5): 521~528
- Otterbein LE, Otterbein SL, Ifedigbo E, Liu F, Morse DE, Fearn C, Ulevitch RJ, Knickelbein R, Flavell RA, Choi AM (2003). MKK3 mitogen-activated protein kinase pathway mediates carbon monoxide-induced protection against oxidant-induced lung injury. Am J Pathol, 163 (6): 2555~2563
- Pekker I, Tel-Or E, Mittler R (2002). Reactive oxygen intermediates and glutathione regulate the expression of cytosolic ascorbate peroxidase during iron-mediated oxidative stress in bean. Plant Mol Biol, 49 (5): 429~438
- Sa Z-S, Huang L-Q, Wu G-L, Ding J-P, Chen X-Y, Yu T, Shi C, Shen W-B (2007). Carbon monoxide: a novel antioxidant against oxidative stress in wheat seedling leaves. J Integr Plant Biol, 49 (5): 638~645
- Umbach AL, Fiorani F, Siedow JN (2005). Characterization of transformed *Arabidopsis* with altered alternative oxidase levels and analysis of effects on reactive oxygen species in tissue. Plant Physiol, 139 (4): 1806~1820
- Xie Y, Ling T, Han Y, Liu K, Zheng Q, Huang L, Yuan X, He Z, Hu B, Fang L, Shen Z, Yang Q, Shen W (2008). Carbon monoxide enhances salt tolerance by nitric oxide-mediated maintenance of ion homeostasis and up-regulation of antioxidant defence in wheat seedling roots. Plant Cell Environ, 31 (12): 1864~1881