

综述 Reviews

氢气在植物抗胁迫中的作用

刘方, 刘勇波*, 李俊生, 黄海

中国环境科学研究院, 环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京100012

摘要: 近年来, 一些研究发现氢气作为一种新的信号分子参与植物抗胁迫网络并具有重要作用。本文综述了近年来氢气参与植物胁迫应答的研究, 总结氢气主要通过调节活性氧(ROS)来参与植物抵御胁迫的过程。在植物抗干旱过程中, 氢气通过促进ROS的产生来调节气孔的闭合; 而在植物抗盐渍、金属离子和农药损伤过程中, 氢气通过去除ROS来修复氧化损伤; 氢气还对植物抗病虫害相关基因的表达有调节作用。

关键词: 氢气; 植物抗胁迫; 活性氧; 分子机制; 农业应用

The Role of Hydrogen in Plant Stress Tolerance

LIU Fang, LIU Yong-Bo*, LI Jun-Sheng, HUANG Hai

State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Abstract: In recent years, some studies have found that hydrogen as a new signal molecules involved in plant stress resistance network and played an important role. Here, we reviewed the research of hydrogen involved in plant stress response in recent years, and summarized the hydrogen participated in the process of plant resistance to stress mainly through regulation of reactive oxygen species (ROS). Hydrogen promotes the ROS production to regulate stomas closure in plant drought tolerance, whereas it scavenges ROS to decrease oxidative damage from saline, metal ions and pesticides. Hydrogen also involves in regulating the expression of genes related with insect- and disease-resistance.

Key words: hydrogen; plant stress tolerance; ROS; molecular mechanism; agricultural application

在自然环境中, 植物整个生命周期都处在一个不断变化的环境中。适宜的环境条件能保证植物的正常发育和生长, 但如果环境条件变化超过植物正常生长发育所能忍受的范围, 就会影响植物的生长。对植物生长发育不利的环境条件称之为逆境或胁迫。植物逆境胁迫分为生物胁迫和非生物胁迫。生物胁迫指病原体的感染、动物的取食以及杂草的竞争等; 非生物胁迫包括高温、寒冷、干旱、盐渍以及有毒物质等。胁迫会对植物造成损伤, 如细胞脱水, 膜系统破坏、光合速率下降、呼吸速率发生变化等, 甚至导致死亡。由于植物的不动性, 不能逃避外部环境的变化, 为了生存, 只有改变本身的形态及内部结构来适应周围环境。经过长期的适应与进化, 植物形成了错综复杂的机制来感应外界信号, 从而选择最优的应对方式来适应不良环境(潘瑞炽等2004)。

由于人类活动的影响, 加之自然灾害时有发

生, 使得环境变化加剧, 严重影响到植物的生长发育。植物如何通过细胞感受并传导逆境胁迫信号、激活一系列分子途径并调控相关基因表达和生理反应等, 已成为植物生物学的热点领域之一。氢气具有抗氧化、抗炎症、抗过敏等作用, 经常作为一种医疗气体, 应用于疾病治疗(Ohsawa等2007; Hong等2010)。研究发现, 氢气可能作为一种新型的信号分子参与植物胁迫应答网络中。氢气可能在植物抵御胁迫中具有重要的作用, 如抵抗干旱环境(Xie等2014), 减轻盐胁迫带来的氧化损伤(Xie等2012; Zeng等2013), 减轻金属离子和农药带来的氧化损伤(Chen等2014; Cui等2014), 参与激素

收稿 2014-08-28 修定 2015-01-23

资助 转基因生物新品种培育重大专项(2012ZX08011002)、环保公益性行业科研专项(201309038)和环境基准与风险评估国家重点实验室自主研究课题基金项目。

* 通讯作者(E-mail: liuyb@craes.org.cn; Tel: 010-84910906)

抗病虫害信号相关基因的表达(Zeng等2013)。

本文综述近年来氢气参与植物抗胁迫的研究,探讨氢气参与植物抵抗干旱、盐渍、毒性物质和病虫害等过程。深入了解植物抵御胁迫的分子机制有助于人们开发新的栽培手段、培育新型栽培作物和研究绿色农药,提高粮食产量与质量,同时也有利于环境保护。

1 植物应对胁迫的方式与途径

经过长期的适应与进化,植物可调节体内激素信号网络,形成防御素、抗病蛋白等,提高植物抵抗各种胁迫的能力。这种植物应对胁迫的途径一般可分为三个阶段:感知阶段、信号传递阶段和生物合成阶段(图1)(Wu和Baldwin 2010)。

感知阶段是指植株对外界胁迫信号的识别。胁迫种类不同,植物的感知方式也不同,如感知干旱的渗透感受器(赵咏梅2008; 杨洪强等2001; Bartels和Sunkar 2005);感知盐胁迫的离子通道和跨膜蛋白激酶(Shi等2000; Xie等2012);感知病原微生物的细胞膜外受体蛋白和细胞内效应蛋白(Dodds和Rathjen 2010);对昆虫取食的感知主要是识别昆虫口腔中的激发子(elicitor)(Wu等2007; Skibbe等2008)。在信号传递阶段,许多离子和化合物参与其中,主要有钙离子(Ca^{2+})、蛋白激酶和植物激素,

它们之间相互影响共同促进下游与抵抗相关的物质的合成。在真核生物中, Ca^{2+} 是信号网络中重要的第二信使, Ca^{2+} 浓度的变化通过 Ca^{2+} 感应蛋白传递给下游,改变体内蛋白激酶的活性,并诱导相关基因的表达(Lecourieux等2006; 蒋廷惠等2005)。参与抵御胁迫的激素主要包括:水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、乙烯(ethylene, ET)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和一氧化氮(NO)(Kunkel和Brooks 2002; 张晓磊等2008),植物利用不同的激素信号抵抗不同类型的胁迫。经过感知和信号传递,植物体内会合成一些小分子物质来帮助抵抗胁迫,这个过程为生物合成阶段。合成与渗透调节有关的小分子物质、功能蛋白(水通道蛋白、LEA蛋白、调渗蛋白、抗氧化酶)和调节蛋白(转录因子、蛋白激酶、磷脂酶C和一些信号分子)(周宜君等2006)。活性氧(ROS)的产生是植物胁迫应答中的重要环节,它可以促进组织坏死,使病原体得不到合适的环境而死亡;在细胞壁和细胞膜之间积累胍胍质,阻止病原体的入侵(Bestwick等1995; Brown等1998)。病虫害还会引起植物激素SA、JA和ET的合成,这些激素对植物建立局部和系统性免疫是必需的(Mishina和Zeier 2007; Tsuda等2008),激素信号会激活下游基因的

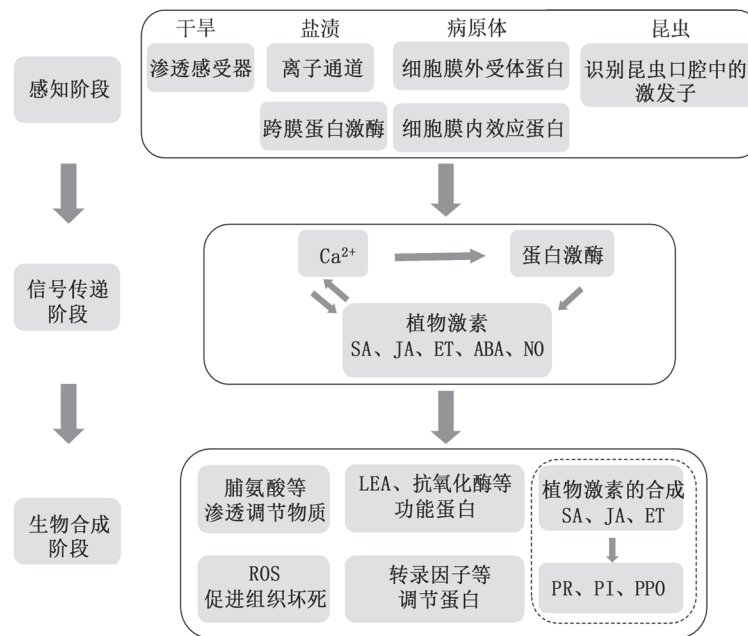


图1 植物应对胁迫的信号通路

Fig.1 A model of stress signaling pathways in plants

表达以帮助植物抗病, 如病原相关蛋白(pathogenesis-related protein, PR)、蛋白酶抑制因子(protease inhibitor, PI)和多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)等(Felton和Korth 2000)。

2 氢气参与植物胁迫应答

2.1 植物的氢气代谢

在复杂的植物胁迫应答网络中, 氢气作为一种新型的信号分子参与其中(表1)。氢是自然界中丰富的化学元素, 其单质形态是氢气, 氢气是一种惰性气体, 无色、无味, 是未来替代有限化石燃料的潜在新能源(Dutta等2005; Huang等2010)。一直以来, 人们认为从远古细菌到真核微藻类均可通过光合作用或非光合作用产生氢气(Gaffron 1939; Eroglu和Melis 2011)。光合生物的氢气代谢最初报道于绿藻中(Gaffron 1939; Gaffron和Rubin 1942), 之后发现在光合细菌中也存在(Gest和Kamen 1949; Melis和Melnicki 2006)。这些微生物

体内执行氢气代谢的是氢化酶(hydrogenase), 氢化酶种类各异, 被广泛了解的是细菌、蓝藻中的[NiFe]氢化酶和专性厌氧细菌、绿藻中的[FeFe]氢化酶(Eroglu和Melis 2011; Hatchikian等1992; Shima等2008)。目前, 许多藻类的[FeFe]氢化酶基因已被确定, 如斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的氢化酶基因*SoHydA1*、莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的氢化酶基因*CrHydA1*和*CrHydA2*、小绿藻(*Chlorella fusca*)的氢化酶基因*CfHydA* (翁海波等2007; Forestier等2003)。除氢化酶外, 在某些细菌中固氮酶(nitrogenase)也可催化生成氢气(Meyer等1978)。生物产生氢气主要通过以下几种方式: (1)直接生物光解途径, 绿藻和蓝藻吸收光能, 可将水直接分解成氢气和氧气; 光合系统I (photo system I, PSI)和光合系统II (photo system II, PSII)均参与其中, PSII吸收光能将水分子分解成氧气和电子, 电子传递给PSI并将其激活, 激活的PSI将铁氧

表1 氢气参与植物胁迫

Table 1 Hydrogen gas involved in plant stress tolerance

胁迫类型	对植物的伤害	植物抵抗方式	氢气的作用	参考文献
干旱	(1)萎蔫 (2)细胞膜受损 (3)代谢紊乱 光合作用减弱	(1)表达作用于抗旱基因的转录因子 (2)表达具渗透调和抗氧化损伤的基因	氢气可与ROS、一氧化氮、保卫细胞K ⁺ 通道共同参与ABA介导的气孔闭合	Xie等2014
盐渍	打破细胞内离子平衡 氧化损伤	(1)抗氧化 (2)重建离子平衡	(1)氢气可激活转录因子 <i>ZAT10/12</i> 及其下游抗氧化基因的表达 (2)氢气可促进Na ⁺ 的外排, 协助维持离子平衡 (3)氢气可增加抗氧化酶的表达量和活性 (4)氢气增加种子内淀粉酶活性, 促进萌发 (5)氢气促进土壤中氢氧化细菌生长, 间接协助植物抗盐渍	Xie等2012; Xu等2013; Zeng等2013
金属离子和农药的氧化损伤	结合细胞内功能蛋白 氧化损伤	(1)与重金属形成无毒复合物 (2)将重金属积累在特定部位 (3)增强抗氧化酶活性	(1)氢气可减少重金属的吸收和积累, 重建细胞内离子平衡 (2)氢气可增强抗氧化酶和抗氧化非酶类物质的表达量和活性 (3)氢气可增加抗氧化损伤信号通路中血红素氧化酶(HO-1)表达量和活性, 参与HO-1信号途径协助抵抗	Chen等2014; Cui等2013, 2014; Jin等2013
病虫害	(1)新陈代谢受到干扰 (2)从生理机能到组织结构上发生一系列的变化和破坏 (3)高传染性	(1)特化的表型: 针刺、毛状物和角质层, 来防止昆虫取食和病菌感染 (2)SA、JA和ET参与的生理抵抗, 合成PR、PI、PPO等抗病蛋白, 协助建立植物系统性抗性	(1)氢气可影响激素下游基因的表达 (2)激素会促进氢化酶基因的表达, 增加氢气产量	Zeng等2013

化还蛋白(ferredoxin, Fd)还原, 氢化酶将还原态的Fd重新氧化并产生氢气; [FeFe]氢化酶和固氮酶分别在绿藻和蓝藻中参与直接生物光解途径, 蓝藻中还原态的Fd可将电子传递给尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(辅酶I, NAD^+)和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(辅酶II, NADP^+), [NiFe]氢化酶将 NAD^+ 和 NADP^+ 氧化并产生氢气(Kim和Kim 2011; Das等2008)。(2)间接生物光解途径, 蓝藻细胞进行光合作用固定二氧化碳、合成糖类, 糖类在无氧条件下通过酵解产生还原力, 协助固氮酶合成氢气(范晓蕾等2009; Sakurai和Masukawa 2008)。这些藻类和细菌是具极大潜力的未来生物制氢生物, 但有些氢化酶对氧气十分敏感, 易受到氧气抑制而失活(范晓蕾等2009)。目前提高衣藻制氢的方法有许多, 如改造氢化酶结构降低氧敏感度, 筛选产氢量高的突变体, 利用基因工程手段在叶绿体中转入氧高亲和蛋白降低氧浓度等(吴双秀和王全喜2006; 冯盈2013; Tamagnini等2002)。

大量氢气代谢的研究集中在细菌和藻类中, 而在高等植物中甚少。直到1947年, Boichenko在分离出的叶绿体里研究氢气的产生方式, 并推测在某些高等植物体内也存在氢化酶(Boichenko 1947; Maione和Gibbs 1986)。Renwick等(1964)通过分析不同条件下植物种子萌发时产生的氢气量, 证实部分高等植物种子中存在氢化酶。随后, 人们陆续发现大麦(*Hordeum vulgare*)、水稻(*Oryza sativa*)、苜蓿(*Medicago sativa*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)均可产生内源氢气(Renwick等1964; Xie等2012; Jin等2013; Zeng等2013)。Zeng等(2013)在水稻基因组中找到两个与莱茵衣藻氢化酶同源的基因, 分别是*OsHydA1*和*OsFhdB*, 一个与细菌氢化酶同源的*OsHypB*。水稻氢化酶活性和转录水平的变化与内源氢气产量一致, 预示水稻氢化酶可产生内源氢气(Zeng等2013)。然而, 目前研究的高等植物氢化酶基因仅为藻类和细菌的同源基因, 其确切的生物学功能还有待研究。高等植物的氢气来源除氢化酶外, 还可来自与豆科植物共生的根瘤菌, 根瘤菌在固氮过程中也可释放氢气, 氢气能改变土壤微生物种群结构, 增加氢氧化细菌数量、提高土壤酶含量, 促进植物旺盛生长(刘慧芬等2010; Dong等2003; Irvine等2004)。

2.2 氢气参与抗干旱胁迫

植物受干旱胁迫后会发生显著的生理变化, 干旱对植物的伤害主要表现在老叶死亡、种子籽粒不饱满、细胞膜受损、代谢紊乱和光合作用减弱等(潘瑞炽等2004)。参与植物抗干旱的物质主要有两种, 一种是调控与抗干旱相关基因表达的转录因子, 如*DREB*、*MYC/MYB*、*bZIP*、*WRKY*和*NAC*(刘欣和李云2006), 其过量表达可以激活下游多种抗逆基因的表达, 综合提高植物抗干旱能力。另一种是具有渗透调节作用、抗氧化损伤的类似于分子伴侣的功能基因(唐益苗等2009)。脯氨酸在植物抗干旱中十分重要, 它不仅可保持细胞质与外界的渗透平衡防止过多水分丧失、保持膜结构的稳定和完整、清除自由基, 还是一种与胁迫相关的信号物质(潘瑞炽等2004; Bartels和Sunkar 2005)。植物叶片上气孔的关闭可以减少蒸腾作用, 这是植物抵抗干旱的重要环节。ABA可通过促进 K^+ 离子流出保卫细胞、降低保卫细胞膨压, 从而促进气孔闭合, 减少植物水分损耗(匡逢春等2003; Rock和Ng 1999; Leckie等1998)。ABA介导的气孔闭合需ROS、NO、保卫细胞 K^+ 通道(guard cell outward rectifying K^+ channel, GORK)共同参与(Bright等2006; Yan等2007; Hao等2012), 最新发现在拟南芥中氢气也参与其中(Xie等2014)。Xie等(2014)发现, ABA可引起拟南芥快速且持续的释放氢气, 施加富氢水也可减少气孔开度, 协助抵抗干旱。但当NADPH氧化酶基因突变时, 富氢水无法促进NO的合成和气孔的闭合, 外源施加NO后可恢复; 当硝酸还原酶基因突变时, 富氢水和过氧化氢都无法促进NO产生和气孔闭合, 但富氢水仍可促进ROS的产生。这说明ROS和NO均参与到氢气诱导的气孔闭合中, 并且NO的产生是气孔闭合的必要条件。在GORK缺失突变体中, ABA、富氢水、NO和过氧化氢均不能诱导气孔的闭合, 这表明气孔的闭合最终需通过 K^+ 通道来完成。所以, 氢气通过促进产生ROS, 从而增加NO, NO介导 K^+ 通过GORK通道从细胞质向细胞外释放, 使气孔闭合。有氢气参与的气孔闭合是ABA信号途径中的一个新的分支路径, 为进一步在分子水平上研究氢气在植物抗干旱胁迫中的作用提供基础。

2.3 氢气参与抗盐胁迫

土壤盐化是制约农业生产的重要因素,我国盐碱土地面积约760万公顷,占现有耕地面积的1/5(顾文婷等2014)。一些农业耕种方式使土壤盐化问题更为恶化,如灌溉,如今全球约有20%的耕种土地和一半的灌溉土地盐渍化严重(Zhu 2001)。盐胁迫对植物影响十分明显,会引起细胞渗透性的改变以及打破植物细胞内离子的平衡,最主要的是产生ROS,引起氧化损伤(Zhu 2001; Munns和Tester 2008)。植物抵抗盐胁迫主要通过三种方式:(1)抗氧化,修复和减轻盐胁迫带来的损伤;(2)重建体内离子平衡,以适应胁迫环境;(3)调节在逆境中的生长速率(Zhu 2001)。

转录因子ZAT10/12在拟南芥盐胁迫应答中起重要作用,可激活抗氧化基因的表达,如*cAPX1*和*FSD1*(Zhu 2001)。对盐胁迫处理后的拟南芥,富氢水可调节ZAT10/12及其下游抗氧化基因的表达,如上调*cAPX1*、ZAT10和*FSD1*基因表达量,增加ZAT12的基因表达量,恢复因盐胁迫降低的细胞内APX蛋白含量和活性,从而协助抵抗氧化损伤(Xie等2012)。*cAPX1*是ROS清除机制中的重要成员(Davletova等2005),Xie等(2012)利用*capx1*突变体发现,经富氢水处理的*capx1*突变体不表现抗盐特征,所以*cAPX*很可能是氢气信号通路的下游靶蛋白。氢气可协助维持细胞内离子稳态,通过上调细胞膜Na⁺转运蛋白SOS1、AHA3和H⁺泵的表达,促进多余Na⁺的外排,重建细胞内离子平衡(Xie等2012)。*sos1*突变体经富氢水处理后无法提高耐盐度,这也暗示Na⁺转运蛋白基因*SOS1*可能是氢气信号下游靶基因(Xie等2012)。用富氢水培养水稻,其根和茎中丙二醛(自由基作用于脂质发生过氧化反应产生的细胞毒性物质)含量相对减少;同时盐处理会上调水稻氢化酶基因的表达,使氢气产生量增加,氢气的增加可上调水稻中抗氧化酶基因的表达(如*OsFeSOD*、*OsCAT*等)和抗氧化酶的活性(SOD和CAT),从而减轻盐胁迫带来的氧化损伤(Zeng等2013)。对水稻种子施加富氢水可增强种子中α/β淀粉酶活性,加速可溶性单糖的产生,缓解高盐对萌发和生长的抑制作用;氢气还可增加种子中抗氧化酶基因的转录,减弱种子所受的氧化损伤,使其正常萌发和生长(Xu等2013)。氢气不仅可直接协助

植物抗盐渍,还可通过影响土壤微生物组成间接提高植物抗盐能力。根瘤菌固氮时产生的氢气可促进土壤中氢氧化细菌的生长(Dong等2003),氢氧化细菌可协助小麦和油菜抗盐胁迫,通过减少过氧化物丙二醛的含量,调节脯氨酸含量,提高叶绿素水平、可溶蛋白含量、SOD和CAT活性,调节内源激素生长素(indole-3-acetic acid, IAA)和ABA含量等,促进小麦、油菜在盐胁迫下发芽、提高发芽率和稳定发芽作用(王楠2012)。

2.4 氢气参与修复金属离子和农药的氧化损伤

一些金属元素是植物生长发育所需的营养元素,例如铜是光合电子传递链PC(质体蓝素)的成分,参与光合电子传递;锌是一些酶的催化剂,缺锌时会导致植物株型和生长习性的改变。当金属离子超过一定数值时,就会对植物产生毒害作用,影响植物的代谢、生长发育和繁殖,甚至导致死亡。重金属离子主要通过以下三条途径对植物造成损伤:(1)通过亚硫酸、组氨酸和羧基基团与细胞内结构蛋白、酶和转运蛋白结合;(2)促进氧化损伤的产生,通过修饰抗氧化抵抗机制;(3)替代某些金属离子结合在蛋白的重要位点,导致蛋白质功能丧失,例如镉(Cd²⁺)可以替代Ca²⁺与PSII结合,阻碍光合反应的进行(Sharma和Dietz 2009)。然而,仍有许多植物可以正常生长于重金属污染的土壤中,这些植物在生理和基因水平发生变化,形成特定的抗重金属机制。植物抗重金属的机制主要有:(1)利用某些金属解毒剂,如金属硫蛋白(metallothionein, MT)和植物络合素(phytochelatin, PC)与重金属结合形成无毒的复合物(杨红玉和王焕校1985; Casterlin和Barnett 1982; Ernst等2000);(2)将重金属离子积累在特定位置,如细胞壁或液泡,避免进入细胞质产生毒害(Nishizono 1987);(3)增加抗氧化酶POD、SOD和CAT的活性,减弱重金属引起的氧化损伤(杨居荣等1995; 曾晓敏等2002)。

研究表明,氢气可协助植物修复金属离子引起的氧化损伤。铝(Al)毒害对植物根生长有明显的抑制作用(Delhaize和Ryan 1995; Kochian 1995),富氢水可缓解Al毒害对苜蓿根伸长和植株生长的抑制,以及减少Al在根尖的积累(Chen等2014)。NO是植物应对Al毒害反应中的重要信号分子,但对其具体的生理作用仍有争议(He等2012)。NO具

有双重生理效应,在不同的植物和重金属胁迫下作用不同,即可加重毒害效果也可协助保护(Beligni和Lamattina 1999)。Chen等(2014)发现,在苜蓿中去除NO可减轻Al毒害的症状,富氢水可减少硝酸还原酶介导的NO的产生,解除Al毒害对根伸长的抑制作用。重金属汞(Hg)对植物的毒害主要表现为产生ROS、抑制生长和增加脂质过氧化(Cho和Park 2000; Gao等2010; Wang等2012)。氢气可减轻苜蓿中的Hg毒害,富氢水可明显减少细胞内离子的泄露和Hg的积累,这有助于重建植物体内离子平衡;富氢水可减少ROS的产生,增加抗氧化酶POD和APX的活性,并增加一些非酶类抗氧化物的含量,如谷胱甘肽(glutathione, GST)、GST同系物(homoglutathione, hGSH)和抗坏血酸,这些抗氧化物质的增加帮助植物对抗Hg毒害带来的氧化损伤(Cui等2014)。重金属镉(Cd)会抑制植物生长,导致叶片萎黄、细胞坏死,富氢水可显著减少苜蓿对Cd的吸收;丙二醛是脂质过氧化和自由基产生的指示物质,富氢水可减少Cd诱导的丙二醛的积累,并增加抗氧化酶的活性和抗氧化非酶类物质的含量,减少ROS引起的氧化损伤,缓解Cd毒害对植物根伸长的抑制和对生长的阻碍(Cui等2013)。

在农业生产上,使用化学农药防治病虫害,能显著提高作物的产量,但也会对植物造成伤害。喷施农药可导致植物产生过多的ROS,抑制植物生长,造成氧化损伤(Jin等2013)。Jin等(2013)研究发现,受农药百草枯胁迫的苜蓿内源氢气产量增加;外源施加氢气和血红素氧化酶(HO-1)均可协助苜蓿抵御农药导致的氧化损伤,减轻农药对根生长的抑制、减少脂质过氧化、降低ROS的含量,并且可以增加抗氧化酶的表达量和活性;进一步研究发现用氢气处理苜蓿,可增加HO-1基因的表达量,并提高HO-1蛋白的活性。HO-1的抑制剂NO可阻碍氢气的作用,这说明氢气可能是通过HO-1信号途径来协助植物减轻氧化损伤,抵御毒性物质(Jin等2013)。

2.5 氢气参与抗病虫害

病虫害等生物胁迫直接损害植物,是影响作物产量的重要原因。农作物常见的病虫害可分为两个类别,一种是病原菌的侵染,如细菌、真菌和线虫等;另一种是植食性昆虫的取食,如蝗虫、玉米螟和麦蚜等。植物对病虫害的感知和应对十分

复杂且精密,进化使得植物利用不同激素信号通路有针对性地对病虫害进行防御。参与植物抗病虫害的激素主要是SA、JA和ET。SA是参与植物抵御病原体的重要角色,当有病原体侵染植物组织时,SA的含量增加,并合成PR来抵抗病原微生物,提高抗病能力;如施加外源SA,可广泛增强植物抵抗力(Kunkel和Brooks 2002; Ryals等1996)。JA参与抵抗昆虫、植食性动物和腐生微生物的入侵,研究发现减少JA的合成会导致植物严重缺乏抵抗力(Kunkel和Brooks 2002; Creelman和Mullet 1997; Reymond和Farmer 1998; Li等2001)。ET作为一种气体激素与JA信号相联系(Kunkel和Brooks 2002)。这三条激素信号通路并不单独起作用,它们之间相互协同或拮抗,共同组成抵御病虫害的植物激素信号网络。

近期有研究发现,氢气与植物激素信号网络密切相关(Zeng等2013)。Zeng等(2013)将水稻和绿豆(*Vigna radiata*)种子置于不同浓度的富氢水中萌发,发现低浓度富氢水可促进绿豆根和茎的伸长,高浓度则抑制;水稻种子的生长可受到富氢水的抑制。氢气对植物生长的影响是通过协助或拮抗不同激素完成的,例如低浓度富氢水可加强ET信号的影响,富氢水可解除高浓度IAA对生长的抑制作用等(Zeng等2013)。为研究氢气参与激素信号通路的途径,Zeng等(2013)在水稻种子中分析氢气对不同激素下游基因表达的影响,富氢水处理后利用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)技术检测了12种与激素相关的基因的变化,包括ET受体基因(Yau等2004)、IAA受体基因(Dharmasiri等2005; Parry等2009)、ABA受体基因(Kim等2012)、赤霉素(gibberellin, GA)受体基因(Shimada等2008)、细胞分裂素(cytokinin, CTK)受体基因(Choi等2012)、SA受体基因(Fu等2012)、ET合成基因、GA信号途径下游转录因子和抗病蛋白PRI基因等。结果表明低浓度氢气可以增强这些基因的表达,高浓度则抑制。同时,外源施加JA、ET、ABA、PEG6000和NaCl可迅速增加水稻内源氢气的产生,3种水稻氢化酶基因的表达量有不同程度的增强(Zeng等2013)。氢气的代谢与多种激素信号通路相互影响,这说明氢气很可能参与这些激素控制的生理过程。氢气可调节SA、JA和ET激

素信号中基因的表达,且JA和ET也可影响内源氢气的产生,这说明氢气很可能参与这三种激素组成的抗病虫害信号网络,但具体响应方式和作用机理还需实验证实。

3 氢气在生物学上的应用

3.1 氢气在医学上的应用

氢气具有抗氧化、抗凋亡、抗炎症和抗过敏的功效,被逐渐开发成一种医疗气体(Ohsawa等2007; Hong等2010)。氢气可选择性地减弱两种具有细胞毒性的自由基——羟基($\cdot\text{OH}$)和过氧亚硝基(ONOO \cdot),这两种强氧化剂可与核酸、脂类和蛋白质反应,导致DNA片段化、脂类过氧化和蛋白质失活(Huang等2010)。氢气还可通过增加抗氧化酶来保护细胞,如CAT和SOD等(Kajiyama等2008; Xie等2010)。氢气可抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase-3)的活性来抵抗细胞凋亡(Sun等2009),下调促炎性细胞因子的表达以抵抗炎症组织损伤(Mao等2009; Chen等2004)。氢气治疗法已应用于多种疾病的研究,并取得不错的效果,例如治疗帕金森症、阿兹海默症等中枢神经系统疾病,治疗动脉硬化等心血管疾病,减轻肺部感染症状,抑制肿瘤生成等(Huang等2010)。

3.2 氢气在植物学上的应用

除了作为一种医疗气体可以在医学上应用外,氢气在植物学上也有广泛的应用前景。“氢肥理论”已引起大量关注,豆科植物固氮时释放的氢气可被土壤中的氢氧化细菌利用,分离出的氢氧化细菌可促进植物根的伸长、增加土壤肥力和作物产量(陈兴都2007; Dong等2003; Irvine等2004)。氢气不仅可作为植物的“肥料”,还可作为“绿色农药”提高植物的抗胁迫能力。

3.2.1 抗旱耐盐

干旱和土壤盐化是决定植物生长和分布的重要环境因子。全世界超过10%的可耕地受到干旱和盐渍的影响,全球范围内荒漠化、盐渍化土地的迅速增加是导致重要经济作物减产的重要因素(Bray等2000)。干旱和盐渍通常会对植物有相似的影响,例如引起细胞脱水和氧化损伤(Bartels和Sunkar 2005)。随着分子生物学的发展,人们利用转基因技术来培育抗旱耐盐的作物品种(陈丽萍和何道一2010)。植物抗旱耐盐涉及到多种基因的

参与,如调节离子平衡的离子转运蛋白基因、编码渗透调解产物的合成酶基因、抗氧化损伤的相关基因等,所以抗旱耐盐机制涉及植物生理生化各个水平(Zhu 2001; 刘欣和李云2006; 唐益苗等2009)。目前,还没有研究出可以用于农业生产的抗旱耐盐转基因作物。研究氢气参与植物抗旱耐盐的分子机理,将为提高农作物对抗干旱和土壤盐碱化提供一条新途径。植物种子用富氢水浸泡后,可以解除盐胁迫导致的萌发抑制,提高在盐渍土地上作物种子的萌发率(Xu等2013)。还可以向生长在干旱或盐渍土地上的作物施加富氢水,从而帮助作物抵御氧化损伤、重建体内离子平衡,防止脱水死亡、避免减产(Xie等2014; Zeng等2013; Zhu 2001)。在农业中开发利用富氢水增强植物抗旱耐盐的能力,也许是一种方便、快捷且经济的手段。

3.2.2 抗重金属胁迫

随着矿产资源的大量开发,城市污泥、污水的农用,重金属对土壤和水体的污染越来越严重。生物无法降解的重金属大量积累在环境中,参与水体、土壤、生物系统的循环,并通过植物的吸收积攒在植物体中,通过食物链危及动物和人类健康(罗春玲和沈振国2003)。目前,治理污染土壤的措施主要包括工程修复、物理化学修复以及生物修复。大多数修复手段修复周期长、见效慢,尤其是生产符合食用标准的农作物更是一项费力耗时的过程。研究发现氢气可以增强植物对有毒物质的耐性,减少重金属在植物中的积累,降低对植物的毒害;还可减轻重金属对细胞的氧化损伤,维持植物在毒性物质胁迫下继续存活(Cui等2013, 2014; Chen等2014)。加强研究氢气参与植物抗金属胁迫的分子机制,利用富氢水处理植物增加其抵抗有毒物质的能力,都将为利用植物修复重金属土壤提供新的途径和策略。

3.2.3 抗病虫害

农作物病虫害是农作物减产的主要原因,在农业生产上主要使用化学农药防治病虫害。随着生物技术的发展,转基因技术被应用于培育具有抗病虫害能力的农作物新品种中。现已培育出了抗除草剂、抗虫、抗病的转基因水稻、玉米、棉花、大豆和油菜等新品种,并且部分已广泛应用

于农业生产中(James 2013)。虽然种植转基因作物在某些方面有优势,如减少农药使用(Lu等2012),但转基因作物对环境的影响不容忽视,如转基因作物对生态环境的影响就受到广泛的关注(魏伟和马克平2002;刘勇波等2012)。氢气作为一种新的信号分子参与到SA、JA和ET组成的抗病虫害信号网络中,富氢水可增加这些激素受体基因的转录,且内源氢气产量也可受到JA和ET的影响(Zeng等2013),这预示氢气很可能通过植物激素信号网络协助植物抵御病原体的侵染和昆虫的取食。相对于现有防治病虫害措施来说,使用富氢水处理植物增加抗病虫害能力是绿色环保的,且简便易行。然而,还需要深入研究氢气参与植物抗病虫害的途径与分子机理,明确氢气作为信号分子在抗病虫害中的作用。

3.2.4 其他可能的应用

除了以上几种应用外,氢气还可能应用到其他领域。例如,氢气参与花期的调控,其抗氧化作用未来可用于减缓鲜花的凋谢,延长观赏时间(Su等2014),在未来园艺观赏方面有广泛的应用前景。氢气的抗氧化特性也可用于食品的保鲜或存放(Hu等2014),氢气无毒无害、没有残留,优于市面上各种化学防腐剂。鉴于氢气对人类疾病显著的治疗效果,也许可以将此特性应用于水产品的养殖,向水中通入氢气从而帮助治疗鱼类、虾类等的疾病,或提高其免疫能力,这在水产品生产上也有很大的应用潜力。使用富氢水对农作物进行灌溉,可能对作物抗病虫害有显著效果,能减少农药的使用。

3.2.5 使用富氢水的优缺点

在未来农业生产活动中,氢气可能作为绿色农药使用而提高植物抵抗各种胁迫的能力,调节植物的生长和发育,在提高粮食产量与品质、减少农药与化肥污染等方面具有重要意义。使用富氢水可能是一种简便易行、绿色环保且经济的手段。使用富氢水来增强植物的综合抵抗能力,不涉及外源抗性基因的导入,相比转基因技术来说更容易也更安全。但氢气是易挥发、可燃气体,在农田中大量使用氢气十分危险,如何安全的在实际生产使用氢气,还需考虑施加氢气的方法和配套设施。其次是怎样高效使用氢气,研究已

发现植物的生长发育受富氢水浓度的影响,不同植物所需的最适浓度也有差别,所以需依据植物种类、生长时期和生产目的来选择最适的富氢水浓度,达到最优的使用效果。

4 展望

氢气作为一种气体分子参与植物胁迫应答过程中,并起着重要的作用。通过以上综述可知,氢气主要通过调节活性氧(ROS)的含量来参与植物抵御胁迫过程,但是不同的胁迫环境,调节机理不同。在植物抗干旱过程中,氢气通过提高植物体内ROS的含量来调节气孔的闭合;而在植物抗盐渍、重金属和农药损伤过程中,氢气通过降低ROS的含量来减少这些胁迫造成的氧化损伤。但是,在植物抗干旱、盐渍、重金属和农药损伤过程中,氢气怎样调节ROS的含量?是直接调节还是间接调节?这些将是未来研究氢气如何参与植物胁迫应答中的重点。氢气研究的问题和未来的研究方向应该关注以下几方面:(1)目前研究的一些植物氢化酶基因是藻类和细菌氢化酶基因的同源基因,其生物学功能并没有得到实验证实。因此,需要探寻植物中产生氢气的酶或非酶类物质,并验证其生物学功能。(2)在抗干旱方面,氢气诱导气孔闭合可能通过ABA信号,但内源氢气产量如何受到ABA调控的机理还未知;ROS的产生是氢气介导气孔闭合的关键因子,但NADPH氧化酶如何响应氢气信号来调节ROS的机理还不清楚。(3)在抗盐渍方面,氢气可调控抗氧化基因的表达来抵御高盐带来的氧化损伤,但是目前不清楚氢气是通过哪些基因或蛋白调节这些基因的表达。氢气还可促进 Na^+ 的向外运输来抵抗盐渍,然而氢气调控 Na^+ 转运蛋白实现 Na^+ 外排的过程目前仍不清楚。(4)在抵御重金属方面,氢气能减少重金属对植物引起的氧化损伤,缓解对植物生长的抑制,在此过程中,可能还有他物质作为氢气信号的下游物质或协调因子参与其中,如激素、NO或硫化氢等。(5)氢气能调节植物抗病虫害相关基因的表达。然而,植物抗病虫害的激素信号途径错综复杂,需要研究氢气具体参与的信号通路,探讨氢气的受体蛋白与靶基因,揭示氢气与SA、JA、ET信号通路的相互影响,明白氢气在抗病虫害中的效应和作用机理。

氢气作为一种小分子气体, 参与植物体内的新陈代谢。通过加强氢气参与植物胁迫应答机理的研究, 将不仅有利于理解植物抵御胁迫的分子机理与生理变化, 还将有助于氢气在生物学上的广泛应用, 在未来农业生产上, 减少化学农药的使用、增强植物耐受度, 从而为保护环境和促进农业的可持续发展做出贡献。

参考文献

- 陈丽萍, 何道一(2010). 植物抗旱耐盐基因的研究进展. 基因组学与应用生物学, 29 (3): 542~549
- 陈兴都(2007). 大豆根际氢氧化细菌的分离及特性研究[硕士论文]. 西安: 西北大学
- 范晓蕾, 郭荣波, 王广策, 许晓晖, 时艳侠(2009). 绿藻氢化酶及其产氢代谢的分子生物学研究进展. 海洋科学, 13 (1): 77~83
- 冯盈(2013). *hemH-lba*基因表达调控对莱茵衣藻cc124生长和产氢的影响[硕士论文]. 上海: 上海师范大学
- 顾文婷, 董喜存, 李文建, 刘瑞媛, 金文杰(2014). 盐渍化土壤改良的研究进展. 安徽农业科学, 42 (6): 1620~1623
- 蒋廷惠, 占新华, 徐阳春, 周立祥, 宗良纲(2005). 钙对植物抗逆能力的影响及其生态学意义. 应用生态学报, 16 (5): 971~976
- 匡逢春, 萧浪涛, 夏石头(2003). 脱落酸对植物气孔运动的调控作用. 植物生理学通讯, 39 (3): 262~266
- 刘慧芬, 王卫卫, 曹桂林, 唐明(2010). 氢气对刺槐根际土壤微生物种群和土壤酶活性的影响. 应用与环境生物学报, 16 (4): 515~518
- 刘欣, 李云(2006). 转录因子与植物抗逆性研究进展. 中国农学通报, 22 (4): 61~65
- 刘勇波, 李俊生, 赵彩云, 肖能文, 关潇(2012). 转基因水稻基因流的发生与生态学后果. 应用生态学报, 23 (6): 1713~1720
- 罗春玲, 沈振国(2003). 植物对重金属的吸收和分布. 植物学通报, 20 (1): 59~66
- 潘瑞焱, 王小菁, 李娘辉(2004). 植物生理学. 北京: 高等教育出版社
- 唐益苗, 赵昌平, 高世庆, 田立平, 单福华, 吴敬新(2009). 植物抗旱相关基因研究进展. 麦类作物学报, 29 (1): 166~173
- 王楠(2012). 盐胁迫下氢氧化细菌WS6对小麦和油菜萌发及促生机制研究[硕士论文]. 西安: 西北大学
- 魏伟, 马克平(2002). 如何面对基因流和基因污染. 中国农业科技导报, 4 (4): 10~15
- 翁海波, 翁海滨, 袁明雪, 许卫华(2007). 绿藻[FeFe]氢化酶. 生物技术, 17 (6): 89~91
- 吴双秀, 王全喜(2006). 衣藻生物制氢的研究进展. 中国生物工程杂志, 26 (10): 88~92
- 杨居荣, 贺建新, 蒋婉如(1995). Cd污染对植物生理生化的影响. 农业环境保护, 14 (5): 193~197
- 杨洪强, 贾文锁, 张大鹏(2001). 植物水分胁迫信号识别与转导. 生物学通讯, 37 (2): 149~154
- 杨红玉, 王焕校(1985). 绿藻的镉结合蛋白及其耐镉性初探. 植物生理学报, 11 (4): 357~365
- 张晓磊, 聂玉哲, 李玉花(2008). 盐胁迫下植物的细胞信号转导. 生物技术通讯, 19 (3): 468~471
- 赵咏梅(2008). 植物细胞对干旱胁迫信号的感知与传导. 生物学教学, 33 (3): 7~8
- 曾晓敏, 施新国, 徐勤松, 谷巍, 徐楠, 张小兰, 周红卫(2002). Hg²⁺、Cu²⁺胁迫下茶菱保护酶系统的防御作用. 应用与环境生物学报, 8 (3): 250~254
- 周宜君, 冯金朝, 马文文, 林冬霞, 钱芝惠, 吕惠娟(2006). 植物抗逆分子机制研究进展. 中央民族大学学报(自然科学版), 15 (2): 169~175
- Bartels D, Sunkar R (2005). Drought and salt tolerance in plants. Crit Rev Plant Sci, 24 (1): 23~58
- Beligni MV, Lamattina L (1999). Is nitric oxide toxic or protective? Trends Plant Sci, 4: 299~300
- Bestwick CS, Bennett MH, Mansfield JW (1995). Hrp mutant of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* induces cell wall alterations but not membrane damage leading to the hypersensitive reaction in lettuce. Plant Physiol, 108: 503~516
- Boichenko EA (1947). Hydrogenase from isolated chloroplasts. Biochimica, 12: 153~162
- Bray, EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000). Responses to abiotic stresses. In: Gruissem W, Buchnann B, Jones R (eds). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, 1158~1249
- Bright J, Desikan R, Hancock JT, Weir IS, Neill SJ (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. Plant J, 45: 113~122
- Brown I, Trethowan J, Kerry M, Mansfield J, Bolwell GP (1998). Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. Plant J, 15: 333~343
- Casterline JL, Barnett NM (1982). Cadmium-binding components in soybean plant. Plant Physiol, 69: 1004~1007
- Chen M, Cui W, Zhu K, Xie Y, Zhang C, Shen W (2014). Hydrogen-rich water alleviates aluminum-induced inhibition of root elongation in alfalfa via decreasing nitric oxide production. J Hazard Mater, 267: 40~47
- Chen XL, Zhang Q, Zhao R, Medford RM (2004). Superoxide, H₂O₂, and iron are required for TNF-alpha-induced *MCP-1* gene expression in endothelial cells: role of Rac1 and NADPH oxidase. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 286: 1001~1007
- Cho UH, Park JO (2000). Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. Plant Sci, 156: 1~9
- Choi J, Lee J, Kim K, Cho M, Ryu H, An G, Hwang I (2012). Func-

- tional identification of *OsHk6* as a homotypic cytokinin receptor in rice with preferential affinity for iP. *Plant Cell Physiol*, 53: 1334~1343
- Creelman RA, Mullet JE (1997). Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell*, 9: 1211~1223
- Cui W, Fang P, Zhu K, Mao Y, Gao C, Xie Y, Wang J, Shen W (2014). Hydrogen-rich water confers plant tolerance to mercury toxicity in alfalfa seedlings. *Ecotox Environ Safe*, 105: 103~111
- Cui W, Gao C, Fang P, Lin G, Shen W (2013). Alleviation of cadmium toxicity in *Medicago sativa* by hydrogen-rich water. *J Hazard Mater*, 260: 715~724
- Das D, Khanna N, Veziroglu TN (2008). Recent developments in biological hydrogen production processes. *Chem Ind Chem Eng Q*, 14 (2): 57~67
- Davletova S, Rizhsky L, Liang H, Shengqiang Z, Oliver DJ, Coutu J, Shulaev V, Schlauch K, Mittler R (2005). Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 268~281
- Delhaize E, Ryan PR (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol*, 107: 315~321
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435: 441~445
- Dodds PN, Rathjen JP (2010). Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat Rev Genet*, 11 (8): 539~548
- Dong ZM, Wu L, Kettlewell B, Caldwell CD, Layzell DB (2003). Hydrogen fertilization of soils – is this a benefit of legumes in rotation? *Plant Cell Environ*, 26: 1875~1879
- Dutta D, De D, Chaudhuri S, Bhattacharya SK (2005). Hydrogen production by Cyanobacteria. *Microb Cell Fact*, 4: 36
- Ernst WHO, Nelissen HJM, Bookum WMT (2000). Combination toxicology of metal-enriched soils: physiological responses of a Zn and Cd-resistant ecotype of *Silene vulgaris* on polymetallic soils. *Environ Exp Bot*, 43: 55~71
- Eroglu E, Melis A (2011). Photobiological hydrogen production: recent advances and state of the art. *Bioresource Technol*, 102: 8403~8413
- Felton GW, Korth KL (2000). Trade-offs between pathogen and herbivore resistance. *Curr Opin Plant Biol*, 3 (4): 309~314
- Forestier M, King P, Zhang L, Posewitz M, Schwarzer S, Happe T, Ghirardi ML, Seibert M (2003). Expression of two [Fe]-hydrogenases in *Chlamydomonas reinhardtii* under anaerobic conditions. *Eur J Biochem*, 270: 2750~2758
- Fu ZQ, Yan S, Saleh A, Wang W, Ruble J, Oka N, Mohan R, Spoel SH, Tada Y, Zheng N, Dong XN (2012). NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature*, 486: 228~232
- Gaffron H (1939). Reduction of carbon dioxide with molecular hydrogen in green algae. *Nature*, 143: 204~205
- Gaffron H, Rubin J (1942). Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *J Gen Physiol*, 26: 219~240
- Gao S, Ou-yang C, Tang L, Zhu JQ, Xu Y, Wang SH, Chen F (2010). Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity. *J Hazard Mater*, 18: 2591~2597
- Gest H, Kamen MD (1949). Photochemical production of molecular hydrogen by growing cultures of photosynthetic bacteria. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria IV. *J Bacteriol*, 58: 239~245
- Hao LH, Wang WX, Chen C, Wang YF, Liu T, Li X, Shang ZL (2012). Extracellular ATP promotes stomatal opening of *Arabidopsis thaliana* through heterotrimeric G protein α subunit and reactive oxygen species. *Mol Plant*, 5: 852~864
- Hatchikian EC, Forget N, Fernandez VM, Williams R, Cammack R (1992). Further characterization of the [Fe]-hydrogenase from *Desulfovibrio desulfuricans* ATCC 7757. *Eur J Biochem*, 203: 357~366
- He H, Zhan J, He L, Gu M (2012). Nitric oxide signaling in aluminum stress in plants. *Protoplasma*, 249: 483~492
- Hong Y, Chen S, Zhang JM (2010). Hydrogen as a selective antioxidant: a review of clinical and experimental studies. *J Int Med Res*, 38 (6): 1893~1903
- Hu HL, Li PX, Wang YN, Gu RX (2014). Hydrogen-rich water delays postharvest ripening and senescence of kiwifruit. *Food Chem*, 156: 100~109
- Huang CS, Kawamura T, Toyoda Y, Nakao A (2010). Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radic Res*, 44: 971~982
- Irvine P, Smith M, Dong ZM (2004). Hydrogen fertilizer: bacteria or fungi? *Acta Hort*, 631: 239~242
- James C (2013). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013. ISAAA Brief, Ithaca, NY
- Jin Q, Zhu K, Cui W, Xie Y, Han B, Shen W (2013). Hydrogen gas acts as a novel bioactive molecule in enhancing plant tolerance to paraquat-induced oxidative stress via the modulation of heme oxygenase-1 signalling system. *Plant Cell Environ*, 36: 956~969
- Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, Kitawaki J, Imai S, Nakano K, Ohta M et al (2008). Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutr Res*, 28: 137~143
- Kim DH, Kim MS (2011). Hydrogenases for biological hydrogen production. *Bioresource Technol*, 102 (18): 8423~8431
- Kim H, Hwang H, Hong JW, Lee YN, Ahn IP, Yoon IS, Yoo SD, Lee S, Lee SC, Kim BG (2012). A rice orthologue of the ABA receptor, OsPYL/RCAR5, is a positive regulator of the ABA signal trans-

- duction pathway in seed germination and early seedling growth. *J Exp Bot*, 63: 1013~1024
- Kochian LV (1995). Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 46: 237~260
- Kunkel BN, Brooks DM (2002). Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Curr Opin Plant Biol*, 5: 325~331
- Leckie CP, Mcainsh MR, Allen GJ, Sanders D, Hetherington AM (1998). Abscisic acid-induced stomatal closure mediated by cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (26): 15837~15842
- Lecourieux D, Ranjeva R, Pugin A (2006). Calcium in plant defence-signaling pathways. *New Phytol*, 171: 249~269
- Li L, Li C, Howe GA (2001). Genetic analysis of wound signaling in tomato. Evidence for a dual role of jasmonic acid in defense and female fertility. *Plant Physiol*, 127: 1414~1417
- Lu Y, Wu K, Jiang Y, Guo Y, Desneux N (2012). Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature*, 487: 362~365
- Maione TE, Gibbs M (1986). Hydrogenase-mediated activities in isolated chloroplasts of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*, 80: 360~363
- Mao YF, Zheng XF, Cai JM, You XM, Deng XM, Zhang JH, Jiang L, Sun XJ (2009). Hydrogen-rich saline reduces lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Biochem Bioph Res Commun*, 381: 602~605
- Melis A, Melnicki MR (2006). Integrated biological hydrogen production. *Int J Hydrogen Energ*, 31: 1563~1573
- Meyer J, Kelley BC, Vignais PM (1978). Effect of light on nitrogenase function and synthesis in *Rhodospseudomonas capsulata*. *J Bacteriol*, 136 (1): 201~208
- Mishina TE, Zeier J (2007). Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 50: 500~513
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651~681
- Nishizono H (1987). The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athyrium yokoscense*. *Plant Soil*, 101: 15~20
- Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S, Ohta S (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med*, 13: 688~694
- Parry G, Calderon-Villalobos LI, Prigge M, Peret B, Dharmasiri S, Itoh H, Lechner E, Gray WM, Bennett M, Estelle M (2009). Complex regulation of the TIR1/AFB family of auxin receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 22540~22545
- Renwick GM, Giumarro C, Siegel SM (1964). Hydrogen metabolism in higher plants. *Plant Physiol*, 39 (3): 303~306
- Reymond P, Farmer EE (1998). Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Curr Opin Plant Biol*, 1: 404~411
- Rock CD, Ng PPF (1999). Dominant *Wilty* mutants of *Zea mays* (poaceae) are not impaired in abscisic acid percept ion or metabolism. *Am J Bot*, 86: 1796~1800
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A, Steiner H, Hunt MD (1996). Systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 8: 1809~1819
- Sakurai H, Masukawa H (2008). Promoting R & D in photobiological hydrogen production utilizing mariculture-raised cyanobacteria. *Mar Biotechnol*, 9: 128~145
- Schmelz EA, LeClere S, Carroll MJ, Alborn HT, Teal PE (2007). Cowpea chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory. *Plant Physiol*, 144: 793~805
- Sharma SS, Dietz KJ (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci*, 14 (1): 43~50
- Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu JK (2000). The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 6896~6901
- Shima S, Pilak O, Vogt S, Schick M, Stagni MS, Meyer-Klaucke W, Warkentin E, Thauer RK, Ermler U (2008). The crystal structure of [Fe]-hydrogenase reveals the geometry of the active site. *Science*, 321: 572~575
- Shimada A, Ueguchi-Tanaka M, Nakatsu T, Nakajima M, Naoe Y, Ohmiya H, Kato H, Matsuoka M (2008). Structural basis for gibberellin recognition by its receptor GID1. *Nature*, 456: 520~523
- Skibbe M, Qu N, Galis I, Baldwin IT (2008). Induced plant defenses in the natural environment: *Nicotiana attenuata* WRKY3 and WRKY6 coordinate responses to herbivory. *Plant Cell*, 20: 1984~2000
- Su N, Wu Q, Liu Y, Cai J, Shen W, Xia K, Cui J (2014). Hydrogen-rich water reestablishes ROS homeostasis but exerts differential effects on anthocyanin synthesis in two varieties of radish sprouts under UV-A irradiation. *J Agric Food Chem*, 62 (27): 6454~6462
- Sun Q, Kang Z, Cai J, Liu W, Liu Y, Zhang JH, Denoble PJ, Tao H, Sun X (2009). Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats. *Exp Biol Med* (Maywood), 234: 1212~1219
- Tamagnini P, Axelsson R, Lindberg P, Oxelfelt F, Wünschiers R, Lindblad P (2002). Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66 (1): 1~20
- Tsuda K, Sato M, Glazebrook J, Cohen JD, Katagiri F (2008). Interplay between MAMP triggered and SA-mediated defense responses. *Plant J*, 53 (5): 763~775

- Wang J, Feng X, Anderson CWN, Xing Y, Shang L (2012). Remediation of mercury contaminated sites. *J Hazard Mater*, 221~222: 1~18
- Wu J, Baldwin IT (2010). New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annu Rev Genet*, 44: 1~24
- Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT (2007). Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuata*. *Plant Cell*, 19: 1096~1122
- Xie K, Yu Y, Pei Y, Hou L, Chen S, Xiong L, Wang G (2010). Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release. *Shock*, 34: 90~97
- Xie YJ, Mao Y, Lai DW, Zhang W, Shen WB (2012). H₂ enhances arabidopsis salt tolerance by manipulating ZAT10/12-mediated antioxidant defence and controlling sodium exclusion. *PLoS ONE*, 7 (11): e49800
- Xie YJ, Mao Y, Zhang W, Lai DW, Wang QY, Shen WB (2014). Reactive oxygen species-dependent nitric oxide production contributes to hydrogen-promoted stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 165 (2): 759~773
- Xu S, Zhu SS, Jiang YL, Wang N, Wang R, Shen WB, Yang J (2013). Hydrogen-rich water alleviates salt stress in rice during seed germination. *Plant Soil*, 370 (1-2): 47~57
- Yan J, Tsuichihara N, Etoh T, Iwai S (2007). Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in ABA inhibition of stomatal opening. *Plant Cell Environ*, 30: 1320~1325
- Yau CP, Wang L, Yu M, Zee SY, Yip WK (2004). Differential expression of three genes encoding an ethylene receptor in rice during development, and in response to indole-3-acetic acid and silver ions. *J Exp Bot*, 55: 547~556
- Zeng JQ, Zhang MY, Sun XJ (2013). Molecular hydrogen is involved in phytohormone signaling and stress responses in plants. *PLoS ONE*, 8 (8): e71038
- Zhu JK (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 6: 66~71