

水稻叶绿体抗坏血酸过氧化物酶在干旱和高盐胁迫中的作用

方涛, 董艳苹, 李亚楠, 陈德富, 陈喜文*

南开大学生命科学学院, 天津300071

摘要: 逆境条件下植物积累大量包括过氧化氢(H₂O₂)在内的活性氧。抗坏血酸过氧化物酶(APX)能分解H₂O₂, 被认为在植物逆境胁迫中发挥着重要作用。水稻APX家族有8个成员, 有关叶绿体APX7 (基质型)、APX8 (类囊体型)在逆境中的功能鲜见报道。本研究以从水稻T-DNA插入突变库中筛选出的*Osapx7*和*Osapx8*突变体为材料, 在停止浇水和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理14 d后, 与野生型相比, *Osapx7*和*Osapx8*的生长均受到抑制, 叶片萎蔫严重, 但难以从直观上辨别出两者之间的区别。干旱条件下, 与野生型相比, 突变体植株叶片内H₂O₂含量升高, 叶片DAB染色加深, 叶绿素含量和相对水含量下降; 而在150 mmol·L⁻¹ NaCl条件下, 突变体与野生型之间这些指标区别不大。除干旱条件下*Osapx8*的相对含水量低于*Osapx7*外, 两者的形态与其他生理指标的变化基本相当。这些结果表明, 水稻叶绿体APXs, 特别是APX8在水稻对抗干旱逆境中发挥着重要的作用。

关键词: 水稻; 抗坏血酸过氧化物酶; 干旱胁迫; 高盐胁迫

Function of Rice Chloroplastic Ascorbate Peroxidases in Drought and Salt Stress Conditions

FANG Tao, DONG Yan-Ping, LI Ya-Nan, CHEN De-Fu, CHEN Xi-Wen*

College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract: Plants accumulate a substantial amount of reactive oxide species (ROS) including hydrogen peroxide (H₂O₂) under stress conditions. Ascorbate peroxidases (APX), which catalyze the decomposition of H₂O₂, is thought to play important roles in plant stress response. Rice APX family has eight members, there is little information about the function of chloroplast APX7 (stroma APX) and APX8 (thylakoid-bound APX) in stress response. On the basis of rice *Osapx7* and *Osapx8* mutants screened from a T-DNA insertion mutagenesis library, we treated the genotypes without watering or watering with 150 mmol·L⁻¹ NaCl for 14 days. *Osapx7* and *Osapx8* were significantly inhibited their growth and showed a more severe wilting phenotype compared with wild type. However, it is hard to tell the differences between the mutants from the morphological observation. Under drought stress, the leaves of mutant plants accumulated more H₂O₂ with a darker color in DAB staining, decreased the chlorophyll contents and relative water contents; while under 150 mmol·L⁻¹ NaCl, no significant differences were shown in these indexes between wild type and these mutants. Except that *Osapx8* had a lower relative water content than *Osapx7* under drought stress, their morphological and physiological index were roughly similar. These data suggested that chloroplast APXs, particularly APX8, play an important role in drought stress in rice.

Key words: rice; chloroplastic ascorbate peroxidases; drought stress; salt stress

植物是一类固着生长的生物, 时刻遭受到来自外界环境的各种生物和非生物胁迫。在多种非生物胁迫中, 干旱和高盐对植物的破坏最大、也最普遍(Meti Buh等2013)。胁迫条件下, 植物体内将产生大量的活性氧。在长期的进化过程中, 植物为对抗逆境, 形成了能够清除活性氧的保护机制(Mittler等2004)。主要包括两大类: 一是非酶促的抗氧化剂, 包括谷胱甘肽、生育酚、类胡萝卜素等小分子物质; 二是抗氧化酶类, 包括超氧化物

歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(chloroplastic ascorbate peroxidases, APXs)在内的活性氧清除酶类(Apel和Hirt 2004)。

收稿 2015-07-31 修定 2015-11-18

资助 天津市应用基础与前沿技术研究计划重点项目(14JCZD-JC34100)和国家自然科学基金(31571760)。

* 通讯作者(E-mail: xiwenchen@nankai.edu.cn; Tel:022-23500133)。

APXs以抗坏血酸为电子供体,催化 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 ,可减轻活性氧对植物的伤害(Asada 1999)。水稻有8个编码APX的基因成员,APX1~2位于胞质,APX3~4位于过氧化物体,APX6位于线粒体,APX5可能位于叶绿体,APX7~8分别位于叶绿体基质(stroma APX, sAPX)与类囊体(thylakoid-bound APX, tAPX)中(Teixeira等2006)。对拟南芥叶绿体APXs的T-DNA插入突变体研究发现,叶绿体APXs,特别是sAPX在拟南芥早期绿化的光保护中发挥重要作用,但在成熟组织中的作用有限(Giacomelli等2007; Kangasjärvi等2008)。然而,丧失*tAPX* (tAPX-6B)的小麦突变体, tAPX活性降低40%就导致光合作用碳同化率、植物生长速率及结实率明显降低(Danna等2003)。在烟草中构建的*tAPX*反义表达载体也无法获得转基因植株,显示在烟草中抑制*tAPX*基因表达对植株的影响可能是致命的(Yabuta等2002)。过表达*tAPX*的拟南芥与烟草植株的抗氧化能力明显增强,进一步证明了tAPX在抗氧化逆境中的作用(Murgia等2004; Tarantino等2005; Sun等2010)。

有关水稻APXs功能的报道主要集中于对APX1、APX2的研究,其获得的敲减胞质*APX1*或*APX2*的转基因水稻植株明显矮化,对逆境反应非常敏感(Rosa等2010; Bonifacio等2011)。对叶绿体APXs功能的研究仅限于一个研究组的工作。水稻*apx7/8*双干扰突变株在氧化胁迫(甲基紫精)时花青素含量提高,PSII系统受到严重损伤,叶绿素荧光参数(F_v/F_m)下降,光合能力下降(Caverzan等2014)。但APX7和APX8在水稻叶片中各自的功能,特别是在干旱和高盐逆境中的作用目前尚不清楚。本研究以从水稻T-DNA插入突变体文库筛选到的*Osapx7*和*Osapx8*突变体为材料,研究了APX7和APX8在干旱和高盐胁迫中的作用。

材料与方法

1 植物材料

本实验所用的实验材料水稻(*Oryza sativa* L.) *APX7* (Os02g35520)和*APX8* (Os02g34810)的突变体04Z11DS42和04Z11FQ34购自华中农业大学植物基因研究中心水稻突变体文库,其野生型为‘中花11号(ZH11)’。

2 方法

2.1 水稻突变体的筛选与鉴定

用CTAB方法提取单株的基因组DNA,分别用基因组引物DS-42A/DS-42B、FQ-34A/FQ-34B及侧翼序列引物DS-42A/PFRB4、FQ-34A/PFRB4(表1)进行PCR,筛选纯合的突变株系。纯系种子繁殖后,播种于抗性选择培养基(MS基本培养基+ $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 潮霉素B)中发芽及RT-PCR验证。用RNAultra提取试剂盒(Qiagen, USA)提取总RNA,利用SuperScript cDNA合成系统(宝生物工程有公司,大连)及oligo(dT)引物合成第一链cDNA。*APX7*和*APX8*基因的表达分别用APX7-RT (261 bp)和APX8-RT (307 bp)为引物(表1),cDNAs为模板来进行,内标为*actin*基因(AB047313, 250 bp)。

表1 实验所用的引物

Table 1 Primers used in the study

引物名称	序列(5'→3')
DS-42A	acccaacccaaccacca
DS-42B	catgcatgtcatattctatgc
FQ-34A	gcataaggacaaagtattcacgga
FQ-34B	caaccaatcaaggacaaataacc
PFRB4	tcgaggttctctccaaatga
APX7-RTA	caactatcaaggacaaatacca
APX7-RT 7B	tgtatgtgctccagacagcac
APX8-RT A	tgcaagtctgatccacct
APX8-RT B	tccgaatccctctgactcc
actin-A	gaactggtatgtgcaaggctg
actin-B	acacggagctcgtgtagaag

2.2 干旱和高盐处理

种子用0.1%高锰酸钾消毒后,黑暗催芽2 d。将出芽状态基本一致的幼苗移入到装有营养土的直径15 cm的花盆中,人工气候箱中培养。温度设为(27±2) °C,光照强度为 $260\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,12 h光/12 h暗,14 d后进行如下处理。干旱处理:停止浇灌,培养14 d;高盐处理:每盆每天浇灌 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl溶液200 mL,连续14 d。

2.3 叶片 H_2O_2 含量测定及DAB染色

叶片 H_2O_2 含量测定采用南京建成公司的 H_2O_2 检测试剂盒。准确称取植株相同位置的叶片,按照叶片重量(g):体积(mL)为1:9加入PBS缓冲液,冰浴条件下匀浆,12 857×g离心10 min,测定上清液

中 H_2O_2 的含量,同时利用考马斯亮蓝法(李琳和焦新之1980)测定其蛋白质含量。

取适量DAB染液($1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, pH 3.8),用NaOH调pH值至5.8,加入到装有水稻叶片的试管中, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存8 h。随后吸去染色液,加入80%乙醇后在沸水浴中放置至叶片绿色完全脱色为止,再转至 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存一段时间后观察(Thordal-Christensen等1997)。

2.4 叶绿素含量测定

取水稻植株相同位置的叶片约15 mg,剪碎后用液氮研磨,转入1.5 mL离心管中,加入1 mL $4\text{ }^\circ\text{C}$ 预冷的80%丙酮避光抽提12 h, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $12\ 857\times\text{g}$ 离心10 min,分别测定上清液在646.6和663.6 nm下的吸光值,然后通过以下公式计算叶绿素浓度(C)= $17.76\times A_{646.6}+7.34\times A_{663.6}$ (Porra等1989)。

2.5 叶片相对含水量测定

先取相同位置的叶片称重(m_1)。将其浸泡于去离子水 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下过夜,擦掉表面水后称量(m_2)。然后再将其置于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱处理10~15 h,至恒重(m_3)。叶片相对含水量($\%$)= $(m_1-m_3)/(m_2-m_3)\times 100$ 。

2.6 数据分析

实验重复3次,每次处理3盆,每盆中含有植株9~12株。实验数据均通过4次独立测定而获得。利用SPSS Statistics 11.0对数据进行新复极差分析,以95%为置信区间,检测相同条件下基因型间差异的显著性,用a、b、c字母表示。

实验结果

1 APX7、APX8插入突变体的鉴定

T-DNA在APX7基因、APX8基因中的插入位点见图1-A。分别用基因组引物及侧翼序列引物进行PCR,筛选出只扩增出侧翼序列条带的纯合型株系,剔除只扩增出基因组上序列的野生型株系和同时扩增出侧翼序列条带和基因型条带的杂合型株系(图1-B)。对繁殖后的APX7、APX8纯合突变株进行种子抗性发芽实验,发现几乎100%种子均能在潮霉素抗性下萌发(结果未列出)。基因表达分析发现,APX7、APX8基因均没有表达,进一步证实了突变株系APX7、APX8基因被有效敲除。

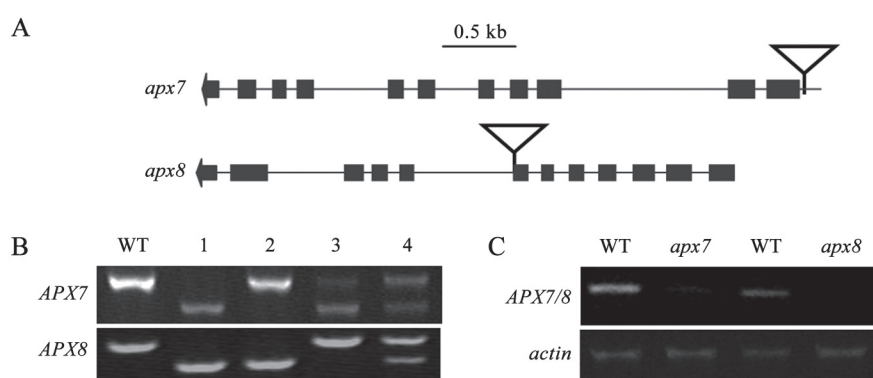


图1 水稻叶绿体APX的T-DNA插入突变体的分析

Fig.1 Molecular analysis of T-DNA inserted rice mutants of chloroplastic ascorbate peroxidases

A: T-DNA分别插入到APX7基因的启动子区域和APX8基因的第7个外显子上; B: 分别以基因组引物和T-DNA右端序列引物进行PCR筛选纯合的水稻缺失突变株系; C: 以actin基因为内标,检测纯合突变株中APX7、APX8基因表达。

2 干旱和高盐胁迫下APX7、APX8水稻突变体的表型

为了探究APX7和APX8在水稻干旱和高盐逆境中的作用,本文首先观察了Osapx7、Osapx8和野生型植株在干旱和 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫后的表型(图2)。与未处理相比,干旱和高盐处理的3种

株系的生长均受到一定程度的抑制,其中Osapx7和Osapx8的抑制程度比野生型严重,叶片发生皱缩与萎蔫的程度也较为严重;但从外观上难以区分突变体间表型的差异。两种逆境处理中,以干旱处理的表型较为严重。总之,水稻APX7、APX8的缺失导致水稻抵抗干旱和高盐逆境的能力下降。

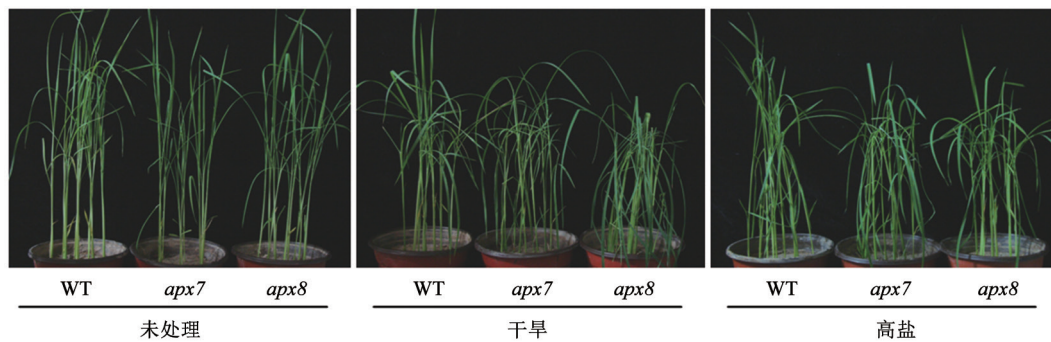


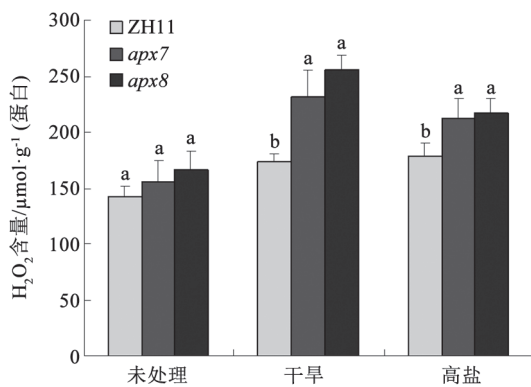
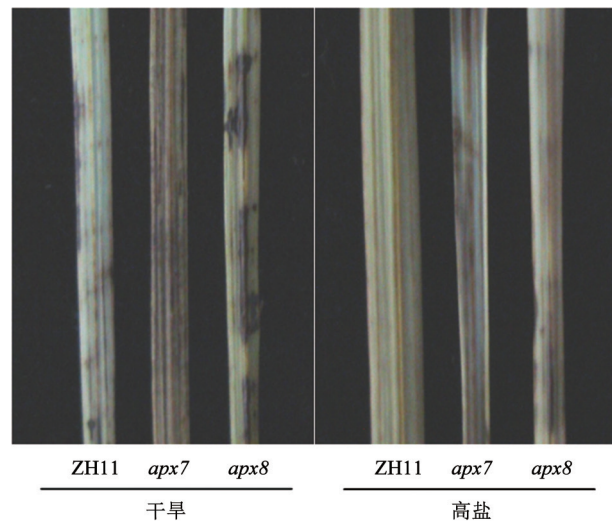
图2 干旱和高盐胁迫下水稻叶绿体APX突变体的表型

Fig.2 Phenotype of rice chloroplast APX mutants under drought and salt stress

3 干旱和高盐胁迫下水稻APX7、APX8突变体H₂O₂含量的变化

逆境条件下植株内积累大量包括H₂O₂在内的ROS, 植株中H₂O₂含量反映其清除ROS的能力。为了探究水稻APX7和APX8在干旱和高盐逆境中的作用, 本文测定了干旱和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理后叶片的H₂O₂含量(图3)。干旱处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*分别比处理前上升21.5%、48.5%和54.0%; 高盐处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*分别比处理前上升25.2%、36.1%和31.0%; 且*Osapx7*和*Osapx8*的H₂O₂含量均显著高于野生型。总之, 水稻APX7和APX8的缺失导致水稻干旱和高盐逆境下H₂O₂的积累。

同时, 本文还对叶片进行了DAB染色。干旱和高盐处理后, *Osapx7*、*Osapx8*与野生型相比, 叶片着色较深(图4)。这一结果进一步验证了逆境条

图3 干旱和高盐胁迫下水稻叶绿体APX突变体叶片的H₂O₂含量Fig.3 H₂O₂ content of leaves in rice chloroplast APX mutants under drought and salt stress图4 干旱和高盐胁迫下叶绿体APX突变体叶片的DAB染色
Fig.4 DAB staining of leaves in rice chloroplast APX mutants under drought and salt stress

件下, 叶绿体APX7、APX8缺失导致植物体内H₂O₂的积累。

4 干旱和高盐胁迫下水稻APX7、APX8突变体叶绿素含量的变化

叶绿素是叶绿体中重要的光合色素, 其含量直接关系到植物的光合同化过程。为了探究干旱和高盐逆境下植株H₂O₂积累导致的伤害, 本文测定了干旱和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理后植株的叶绿素含量(图5)。未处理的突变株和野生型之间的叶绿素含量没有显著差异; 干旱处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*的叶绿素含量分别比处理前下降34%、53.6%和53.4%, 且*Osapx7*和*Osapx8*的叶绿素含量显著低于野生型; 高盐处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*分别比处理前下降31.3%、42.7%

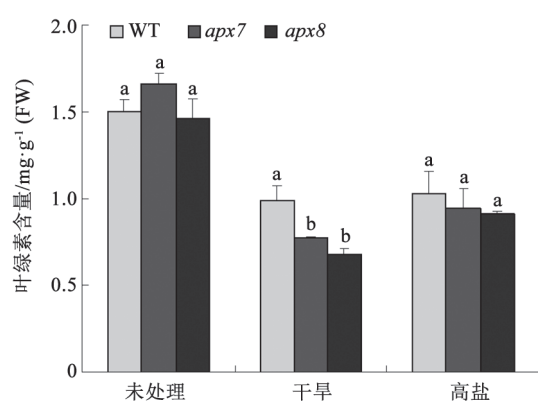


图5 干旱和高盐胁迫下水稻叶绿体APX突变体叶片的叶绿素含量

Fig.5 Chlorophyll content of leaves in rice chloroplast APX mutants under drought and salt stress

和37.7%, 但三者之间叶绿素含量差异不显著。总之, 水稻APX7、APX8的缺失将导致干旱和高盐条件下叶片叶绿素含量降低, 但突变体间的差异不明显。

5 干旱和高盐胁迫下水稻APX7、APX8突变体植株相对水含量的变化

干旱和高盐胁迫的一个共同特征是水分胁迫。为了探究APX7和APX8对水稻干旱和高盐条件下水分状态的影响, 本文测定了干旱和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理后植株的相对含水量(图6)。未处理的突变株和野生型之间的相对含水量没有差异; 干旱处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*的相对含水量分别比处理前下降13.1%、41.1%和57.4%,

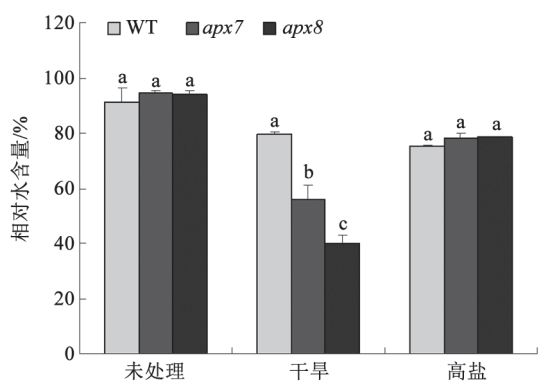


图6 干旱和高盐胁迫下水稻叶绿体APX突变体叶片的相对水含量

Fig.6 Relative water content of leaves in rice chloroplast APX mutants under drought and salt stress

且*Osapx7*和*Osapx8*的相对含水量显著低于野生型; 高盐处理后, 野生型、*Osapx7*和*Osapx8*分别比处理前下降15.6%、17.4%和16.5%, 三者之间差异不明显。总之, 水稻APX7、APX8的缺失将导致干旱条件下叶片相对水含量降低, 且APX8显著低于APX7。

讨论

植物的光合机构面临着既需要光能又要避免强光胁迫的矛盾。强光常伴随着高温导致叶绿体活性氧含量的急剧增加。植物叶绿体内有多种对抗H₂O₂的保护机制, 其中包括基质型APX与类囊体型APX。目前有关叶绿体APX在强光逆境下的功能已有不少报道, 且大多以拟南芥、烟草等植物进行的(Giacomelli等2006; Müller-Moulé等2004)。本研究从水稻T-DNA插入突变体库筛选到水稻叶绿体APX突变体*Osapx7*和*Osapx8*。前期研究发现, 水稻叶绿体APX7和APX8在水稻叶片的强光反应中的作用极其有限(未发表), 证实了Caverzan等(2014)以apx7/8双突变株研究的结论。为此, 本研究重点研究APX7和APX8在干旱和高盐逆境中的作用。

干旱、高盐是严重影响作物生长发育及产量的环境胁迫因子。它们的共同特点是均影响到细胞内的水分状态, 使植物缺水产生伤害。另一个特点是逆境破坏体内ROS代谢平衡, 导致ROS的大量积累。正常条件下, *Osapx7*、*Osapx8*及野生型水稻在长势上没有差别。干旱处理14 d后, 与野生型相比, *Osapx7*和*Osapx8*的生长均受到抑制, 叶片内H₂O₂含量、DAB染色、叶绿素含量和相对水含量均显著升高或下降, 而这种变化并未出现在150 mmol·L⁻¹ NaCl逆境处理中。因此我们推测, 本研究中150 mmol·L⁻¹ NaCl对水稻的伤害比干旱处理要轻, *Osapx7*和*Osapx8*植株中存有的APX8或APX7就足以有效清除产生的H₂O₂。而干旱条件下, 由于突变体植株内产生的H₂O₂超过了阈值, 缺乏APX7与APX8将导致氧化胁迫的产生。这与前人研究拟南芥sAPX和tAPX在成熟植株的强光反应中的结论相一致(Kangasjärvi等2008)。这些结果也进一步证实, 水稻叶绿体的基质型APX与类囊体型APX在功能上是冗余的, 在一定程度上可以相互替代(Kangasjärvi等2008)。

比较*Osapx7*、*Osapx8*干旱条件下的反应发现,除*Osapx8*的相对含水量显著低于*Osapx7*以外,两者之间在形态及其他生理指标上没有差异。相对含水量反映了水分不足状况下植物组织在蒸腾耗水时补充过程和恢复能力的差异,胁迫下相对含水量下降大的植物抵抗能力弱。因此可以认为,水稻类囊体APX8在干旱逆境中的作用要比基质型APX7大。这一结果与拟南芥*KO-sAPX*、*KO-tAPX*在强光逆境下的反应结果基本一致(Maruta等2010)。在强光逆境下,拟南芥叶绿体APX突变体比野生型积累较多的H₂O₂、氧化蛋白和GSH,且最显著的效果均发生在*KO-tAPX*而不是*KO-sAPX*植株上(Maruta等2010)。由于类囊体是植物光反应的场所,而光反应是植物叶片ROS重要的来源。因此推测,利用APX8清除类囊体膜边缘产生的H₂O₂,对于维持植物光合机构的稳定性可能具有更为关键的作用。

总之,本研究以*Osapx7*和*Osapx8*为材料,证实了水稻叶绿体APX,特别是APX8,在水稻对抗干旱的逆境中发挥着重要的作用。

参考文献

- 李琳, 焦新之(1980). 应用蛋白染色剂考马斯蓝G250测定蛋白质的方法. 植物生理通讯, 6: 25~45
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55 (1): 373~399
- Asada K (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, 50 (4): 601~639
- Bonifacio A, Martins MO, Ribeiro CW, Fontenele AV, Carvalho FE, Margis-Pinheiro M, Silveira JA (2011). Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress. *Plant Cell Environ*, 34 (10): 1705~1722
- Caverzan A, Bonifacio A, Carvalho FE, Andrade CM, Passaia G, Schünemann M, Maraschin Fdos S, Martins MO, Teixeira FK, Rauber R et al (2014). The knockdown of chloroplastic ascorbate peroxidases reveals its regulatory role in the photosynthesis and protection under photo-oxidative stress in rice. *Plant Sci*, 214 (1): 74~87
- Danna CH, Bartoli CG, Sacco F, Ingala LR, Santa-María GE, Guiamet JJ, Ugalde RA (2003). Thylakoid-bound ascorbate peroxidase mutant exhibits impaired electron transport and photosynthetic activity. *Plant Physiol*, 132 (4): 2116~2125
- Giacomelli L, Masi A, Ripoll DR, Lee MJ, van Wijk KJ (2007). *Arabidopsis thaliana* deficient in two chloroplast ascorbate peroxidase shows accelerated light-induced necrosis when levels of cellular ascorbate are low. *Plant Mol Biol*, 65 (5): 627~644
- Giacomelli L, Rudella A, van Wijk KJ (2006). High light response of the thylakoid proteome in *Arabidopsis* wild type and the ascorbate-deficient mutant *vte2-2*. A comparative proteomics study. *Plant Physiol*, 141 (2): 685~701
- Kangasjärvi S, Lepistö A, Hännikäinen K, Piippo M, Luomala EM, Aro EM, Rintamäki E (2008). Diverse roles for chloroplast stromal and thylakoid-bound ascorbate peroxidases in plant stress responses. *Biochem J*, 412 (2): 275~285
- Maruta T, Tanouchi A, Tamoi M, Yabuta Y, Yoshimura K, Ishikawa T, Shigeoka S (2010). *Arabidopsis* chloroplastic ascorbate peroxidase isoenzymes play a dual role in photoprotection and gene regulation under photooxidative stress. *Plant Cell Physiol*, 51 (2): 190~200
- Meti Buh G, Metka L, Cene G, Ana R, Ana P, Nina GC, Kcristina G, Jana Z (2013). Insertion of a specific fungal 3'-phosphoadenosine-5'-phosphatase motif into a plant homologue improves halotolerance and drought tolerance of plants. *PLoS ONE*, 8 (12): e81872
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci*, 9 (10): 490~498
- Müller-Moulé P, Golan T, Niyogi KK (2004). Ascorbate-deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress. *Plant Physiol*, 134 (3): 1163~1172
- Murgia I, Tarantino D, Vannini C, Bracale M, Carravieri S, Soave C (2004). *Arabidopsis thaliana* plants overexpressing thylakoidal ascorbate peroxidase show increased resistance to Paraquat-induced photooxidative stress and to nitric oxide-induced cell death. *Plant J*, 38 (6): 940~953
- Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim Biophys Acta*, 975 (3): 384~394
- Rosa SB, Caverzan A, Teixeira FK, Lazzarotto F, Silveira JA, Ferreira-Silva SL, Abreu-Neto J, Margis R, Margis-Pinheiro M (2010). Cytosolic APx knockdown indicates an ambiguous redox responses in rice. *Phytochemistry*, 71 (5-6): 548~558
- Sun WH, Duan M, Shu DF, Yang S, Meng QW (2010). Over-expression of *StAPX* in tobacco improves seed germination and in-

- creases early seedling tolerance to salinity and osmotic stresses. *Plant Cell Rep*, 29 (8): 917~926
- Tarantino D, Vannini C, Bracale M, Campa M, Soave C, Murgia I (2005). Antisense reduction of thylakoidal ascorbate peroxidase in *Arabidopsis* enhances paraquat-induced photooxidative stress and nitric oxide-induced cell death. *Planta*, 221 (6): 757~765
- Teixeira FK, Menezes-Benavente L, Galvão VC, Margis R, Margis-Pinheiro M (2006). Rice ascorbate peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different sub-cellular compartments. *Planta*, 224 (2): 300~314
- Thordal-Christensen H, Zhang ZG, Yang DW, Collinge DB (1997). Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J*, 11 (6):1187~1194
- Yabuta Y, Motoki T, Yoshimura K, Takeda T, Ishikawa T, Shigeoka S (2002). Thylakoid membrane bound ascorbate peroxidase is a limiting factor of antioxidative systems under photooxidative stress. *Plant J*, 32 (6): 915~925