

# 植物缺氧响应相关基因的表达调控机制

吴功庆<sup>1,2</sup>, 李亚男<sup>1</sup>, 陈大清<sup>1\*</sup>

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025; 2. 华中农业大学植物科学与技术学院, 武汉 430070)

**摘要:**对近年来缺氧应答相关基因的分离、克隆及缺氧响应信号转导模式与调控机制作了综述。分析了缺氧应答基因的序列特点, 概述了植物感受缺氧胁迫的信号传递模式, 阐述了缺氧响应的调控机制并着重讨论了调控因子 AtMYB2 的调控特点, 并对缺氧相关研究进行了展望。

**关键词:**缺氧响应; 基因表达; 调控机制; 信号转导

中图分类号: Q756

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)01-0087-06

## Anaerobic Gene Expression and Regulation Mechanism in Plants

WU Gong-qing<sup>1,2</sup>, LI Ya-nan<sup>1</sup>, CHEN Da-qing<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China;

2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** This review focuses on anaerobic response in gene expression pattern, signal transduction in higher plants and regulation mechanism under anaerobic stress.

**Key words:** Anaerobic response; Gene expression; Regulation mechanism; Signal transduction

植物缺氧作为一种逆境因子一直以来被人们高度关注, 植物对缺氧胁迫的生理生化特征及其适应机制的相关报道较多。前人已对植物缺氧响应多肽、缺氧诱导相关基因的克隆及缺氧相关基因的结构特点作了详尽的阐述<sup>[1-3]</sup>。目前人们研究的重点已转向对缺氧应答相关基因的功能分析, 通过构建缺氧应答基因表达谱进而分析其表达调控机制, 为筛选耐涝相关基因及培育耐涝品种奠定基础, 本文就有关缺氧响应相关基因的调控机制作一综述。

### 1 缺氧应答基因序列特点

应用分子生物学技术, 科学家们对与缺氧响应相关的乙醇脱氢酶基因 (*adh1*) 进行了较为深入系统的研究。已经在玉米 (*Zea mays*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、大麦 (*Hordeum vulgare*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*) 和白菖

蒲 (*Acorus calamus*) 6 种植物上获得 *adh1* 基因全序列<sup>[4]</sup>。笔者最近以薏苡 (*Coix lacryma-jobi* L.) 为材料克隆了 *adh* 基因, 所获得的序列与玉米中的 *adh1* 基因同源性达到 91%, 且实验证明在缺氧状态下其表达量大大增加。

植物细胞中均存在两套乙醇脱氢酶基因: 一套为组成型 *adh2*, 另一套为缺氧诱导表达型 *adh1*<sup>[5]</sup>。Walker 等<sup>[6]</sup>报道玉米 *adh1* 基因中, 位于起始密码子上游 -140 到 -100 区域是缺氧诱导表达的关键区, 称为缺氧反应元件 (Anaerobic Response Element, ARE), 它有 2 个亚区, 分别含两个 GT- 结构 (5'-[T/C]GGTTT-3') 和两个 GC- 结构 (5'-GCC[G/C]C-3')。Dennis 等<sup>[7]</sup>在分析多种植物的 *adh* 基因启动子区核苷酸的缺失与突变时发现, 当 *adh1* 中有多个 ARE 时, 这一基因的缺氧诱导转录水平成倍提高; 在组成型的 *adh2* 中亦存在 ARE 序列, 因而认为 ARE 是调节蛋白结合位点, 有类似增强子的

收稿日期: 2005-06-27 接受日期: 2005-11-07

基金项目: 湖北省教育厅重点项目资助

\* 通讯作者 Corresponding author

作用。他们进一步证明 ARE 近旁还存在一个决定转录的关键区, 这是一个覆盖 ARE 的更长一些的启动子区(称 AREF), 它决定调节蛋白的结合与缺氧诱导的表达。并且他们认为 AREF 可能对结合蛋白进行二次修饰(如磷酸化), 或在促使第二种分子结合上去时起作用, 从而使调节蛋白复合体活化并启动转录。此后, 在其它缺氧基因的启动子区也发现了类似 AREF 结构, 这提示缺氧基因诱导表达有某种共同的调节开关。Dolferus<sup>[6]</sup>等发现拟南芥启动子上同样存在 ARE, 它位于起始密码子上游-160到-140区域, 存在与玉米方向相反的 GT- 结构(5' -AAACCA-3') 和 GC- 结构(5' -GCCCC-3'), 在 GT- 结构上包含 Myb 结合位点 MBS1和MBS2, 其中 ACC (59-T/CAAC [T/G]G-39; 或 59-CC [T/A] ACC-39)序列是 Myb 结合所必须的。*adh1* 基因这些特有的结构都有利于它在缺氧状态下表达。

与 *adh* 基因类似, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因同样分为组成型 *Gpc1*、*Gpc2* 与缺氧诱导型 *Gpc3*、*Gpc4*<sup>[9]</sup>。在研究甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因族序列特点时, 用细胞质甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因 *GapC* 的 mRNA, 构建一个包含 *gus* 基因的编码区基因, 将其转入到烟草(*Nicotiana tabacum*)中进行缺氧诱导, 发现 *GapC* 基因 5' 端的 820 个碱基内存在缺氧诱导所必需的序列 5'-nGAAnnTTCn-3'。对拟南芥 *GapC* 基因启动子的研究表明在其 TATA 框上游 80 bp 处存在两个反向重复的 5'-nGAAn-3' 序列<sup>[10]</sup>。缺氧诱导型基因的 5' 端非编码区特殊结构均有利于调控因子(如 AtMYB2、WRKY、bZIP 等)与之结合<sup>[11]</sup>。

Huq 和 Hodges<sup>[12]</sup>报道在水稻中有一种新的基因 *aie*, 称之为缺氧早期诱导基因 (anaerobically inducible early gene), 它在缺氧 1-3 h 后大量表达, 并达到高峰。他们用差别显示技术分离了两个 cDNA 片段和一个 cDNA 全长。这些 cDNA 包含一个以 2-3 个基因为成员的小基因家族。全长 cDNA 编码一个由 127 个氨基酸组成的新蛋白质, 在 GenBank 和 SwissProt 数据库中并没有搜索到与之类似的蛋白质及核苷酸序列。Hossain<sup>[13]</sup>等以水稻为材料克隆出 *pd3* 基因, 该基因缺乏内含子, 在缺氧条件下用 Northern 杂交分析没有检测到其转录产物, 因此被认为是一个假基因 (pseudogene)。Hossain<sup>[14]</sup>和 Huq<sup>[15]</sup>又分别克隆出水稻中的 *pd1* 及 *pd2* 基因, 这两个基因均由 6 个内含子和 5 个外显子组

成。但是, 其中只有 *pd2* 基因在所有的器官中均转录 mRNA, 而 *pd1* 的转录产物只在根部存在, 它属于诱导表达型基因。

Dolferus<sup>[16]</sup>对拟南芥的缺氧诱导基因进行了研究, 发现都存在组成型与诱导型两类同源基因。于是他提出一个缺氧呼吸代谢 O<sub>2</sub> 调节模式, 即糖酵解的相关酶都存有两套基因, 一套是组成型表达, 不受 O<sub>2</sub> 的影响; 另一套受 O<sub>2</sub> 分压的控制, 缺氧下启动, 有氧下则关闭。这些基因表达有共同的调节基因。

## 2 高等植物感受缺氧信号的模式

植物对缺氧信号的响应是一个复杂的生理过程, 涉及众多基因的诱导表达和代谢途径的启动(图 1), 如缺氧代谢、信号传导、防御相关蛋白和 DNA 结构及转录调节蛋白等。探索植物对缺氧信号响应的途径, 是阐明缺氧相关基因表达调控机制的基础。然而, 到目前为止, 有关细胞如何感应氧气浓度的变化, 以及对氧气的感应对相关基因调节的偶联系统等知识的了解仍然很少。已经知道血红素能调节不同供氧条件下基因的表达, 在动植物组织感应和利用氧气的过程中起着枢纽作用, 血红素的合成需要氧气, 所以细胞内血红素的含量可以反映氧气的供应情况并诱导特异基因的表达<sup>[17]</sup>。Bunn 等<sup>[18]</sup>指出以血红素为基础的氧气感受器, 一般是含有两个结构域的血红蛋白, 其中一些是血红蛋白激酶 (hemokinases), 另一些是黄素血红蛋白 (flavo-hemoproteins)。Hon 等<sup>[19]</sup>对酵母细胞内血红素水平、氧气浓度和 Hap1 活性的检测发现, 血红素合成途径中的一些生化反应能够感应氧气浓度的变化, 血红素水平和氧气浓度密切相关。

Ca<sup>2+</sup> 在缺氧信号传导中也起着重要作用, 在缺氧胁迫下, 植物细胞内钙离子的流动是缺氧响应相关基因选择性表达的先决条件, 这一结论已在水稻、玉米及拟南芥中得到证实<sup>[20]</sup>。利用铷红阻碍线粒体及内质网膜上的 Ca<sup>2+</sup> 通道而抑制钙离子的释放, 证明了 Ca<sup>2+</sup> 对于触发缺氧信号的级联反应及维持细胞内离子动态平衡是十分必要的<sup>[20]</sup>。研究表明: 在缺氧条件下, 线粒体内膜通透性发生改变, Ca<sup>2+</sup> 释放到细胞质, 随着钙离子浓度升高, *adh1* 的转录产物也随之增加, 这说明 [Ca<sup>2+</sup>] 变化是缺氧基因表达所必须的, 但 Ca<sup>2+</sup> 信号是如何被缺氧基因所接受目前尚不清楚<sup>[21]</sup>。

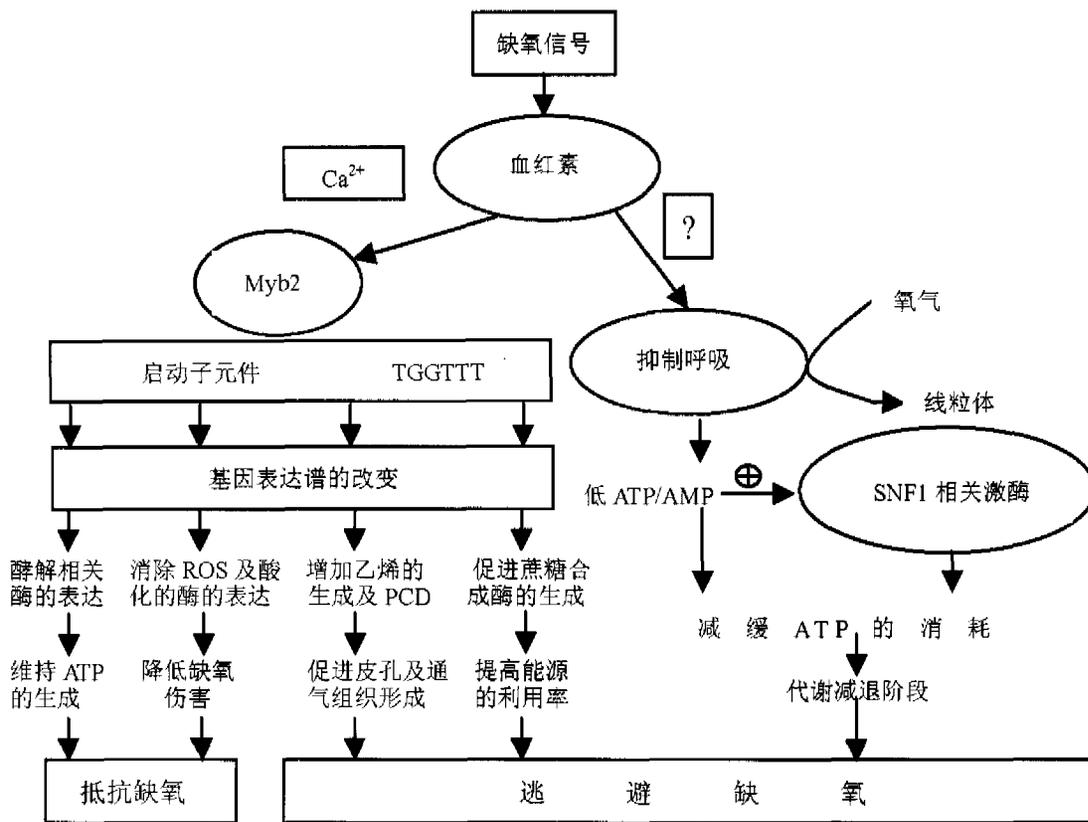


图 1 植物对缺氧信号响应及缺氧应答基因表达模式 (引自 Geigenberger P [22])

Fig. 1 General outline of the responses of plants to anaerobic signal and anaerobic gene expression pattern (After Geigenberger P [22])

总体来讲,植物在感受缺氧信号后通过两种途径来调节缺氧伤害:其一,通过抑制线粒体呼吸来减缓 ATP 的消耗;其二,诱导一系列基因的表达来降低伤害。这些基因主要包括:(1)参与发酵的酶,主要是乙醇发酵,如 ADH, PDC 等,通过发酵代谢维持 ATP 的生成[23];(2)清除体内氧自由基伤害及降低细胞质酸化的酶类,如过氧化物酶,超氧化物歧化酶,谷胱甘肽还原酶,谷氨酸脱羧酶,丙氨酸转氨酶等[24];(3)涉及乙烯合成,细胞程序性死亡及细胞伸缩相关的一些酶,乙烯参与细胞程序性死亡的级联反应,并有利于通气组织的形成[25]。

最近,以拟南芥为材料的研究表明:缺氧条件下,植物体内生成的活性氧(如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)参与了缺氧信号转导。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对缺氧信号的响应首先表现在细胞内质膜及胞质腔 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量急剧升高[26]。植物体存在一种特异性的单体 G 蛋白即 Rop,该蛋白结合 GDP 呈失活状态,缺氧时 GDP 转换成 GTP,结合 GTP 的 Rop 呈活性状态,并通过二亚苯基碘(DPI)敏感的黄素结合氧化酶(Flavin-binding oxidase)生成

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Rop 信号存在两种负反馈调控机制,一种是通过 Rop-GTPase 活性蛋白(RopGAPs)水解 Rop-GTP 成 Rop-GDP, 另一种是通过 GDP 降解抑制因子(GDIs)保持 Rop 与 GDP 结合的非活性状态。这一信号途径是 ADH 酶活性增加所必需的[27](图 2)。在动物中高含量的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 促使缺氧诱导因子 1α(HIF1α)的生成,HIF1α 促进了缺氧诱导基因的表达[28]。NO 作为第二信使在缺氧信号传导中有着不可替代的作用,它在硝酸还原酶及植物特异性的一氧化氮合成酶(NOS)的催化作用下生成,并通过抑制细胞色素氧化酶促使蛋白质硝基化来传递缺氧信号,在血红蛋白调节下,其含量随血红蛋白浓度升高而升高[29]。

### 3 缺氧响应相关基因的表达调控特点

缺氧应答基因的表达调控包括转录水平及翻译水平的调控[30]。早在 1980 年 Sachs 等[31]用含 35S 的蛋氨酸进行脉冲场标记及双向聚丙烯酰胺凝胶电泳技术研究了玉米(Zea mays)根尖在缺氧中蛋

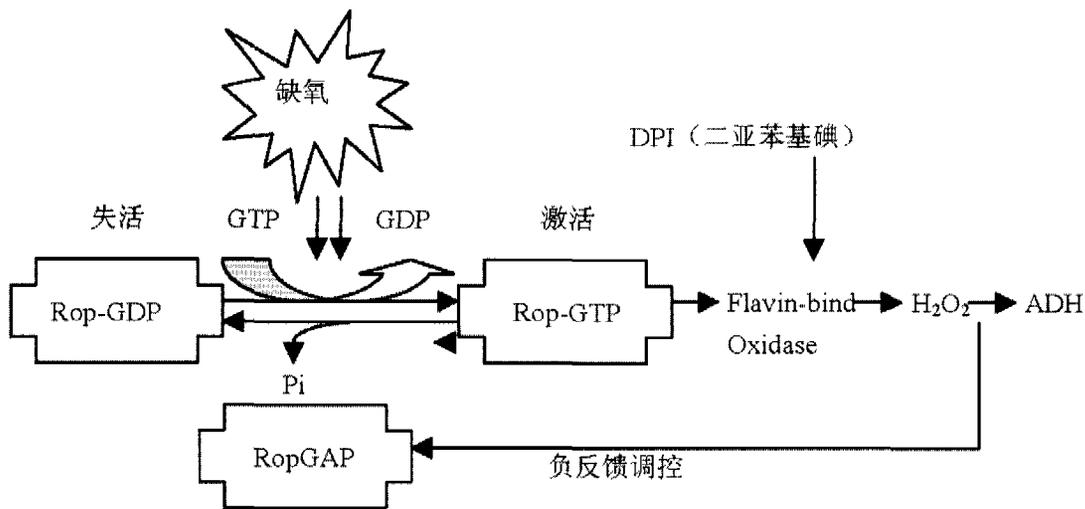


图 2 Rop 参与的缺氧信号转导途径 (参见 Baxter-Burrell<sup>[27]</sup>)

Fig. 2 Signal transduction pathway participated by Rop (After Baxter-Burrell<sup>[27]</sup>)

白质及多肽表达的变化过程:当玉米处于根系缺氧状态时,首先合成的是一类过渡性多肽(transition polypeptides; TPs),它与热休克蛋白类似,在较短的时间内合成,然后迅速下降;另一类在缺氧 1.5 h 后开始合成,可一直持续 72 h,直到细胞死亡,大约有 20 多种,称之为缺氧多肽 (anaerobic polypeptides, ANPs)。

根据玉米中缺氧响应基因在缺氧状态下的表达调控模式可将缺氧应答基因分为三类:第一类包括编码 ADH, GAPC, PDC 等缺氧多肽 (ANPs) 的基因,这类基因在正常状态下表达量极低,但在缺氧状态下转录和翻译活性大大增强。第二类基因在缺氧状态下转录活性增强,和 ANPs 相似,mRNA 大量积累,但翻译活性基本上没变化,因此,蛋白质也只有少量增加,这类基因在缺氧状态下的活性体现在通过翻译水平的调控起作用,如 *sh1*, *ald*, *eno* 等基因。第三类是一些编码好氧多肽(APs)的基因,它们在缺氧条件下转录和翻译都受阻,如 *ant1*, *cat2* 等基因<sup>[22]</sup>。

目前研究较多也较细致的是有关 *adh1* 基因在缺氧状态下的调控机理。对 *adh1* 基因启动子序列及有关转录调控因子与缺氧响应元件 (ARE) 结合的机制也有较详细的阐明。ARE 含有低氧诱导必须的足够序列,如果将其连接到另一基因上,该基因同样会对低氧胁迫产生响应<sup>[23]</sup>。Dolferus<sup>[24]</sup>的研究证明,拟南芥 *adh1* 基因启动子序列上的 GT- 和 GC- 结构是其缺氧诱导表达的关键。在其它一些缺氧应

答基因中也同样存在相似的结构。从拟南芥中得到的一个 1 kb 的启动子片段,可以在干旱、冷害和低氧胁迫下,调节 *adh* 基因的表达。该启动子包含 3 个区域,其中区域 II 和区域 I 在这 3 种胁迫条件下分别诱导和抑制 *adh* 基因的表达,而区域 III 则对这 3 种胁迫条件有不同的响应。进一步的研究显示,玉米、豌豆和拟南芥中编码 ANPs 的许多基因都含有相同的这一启动子序列<sup>[24]</sup>。在低氧诱导的玉米细胞中,GBF1 与 *adh1* 基因的低氧诱导启动子结合,其 mRNA 在 *adh1* 基因上调表达之前迅速聚集。因此,GBF1 可能是激活 *adh1* 基因表达的因子之一<sup>[25]</sup>。在另一些研究中找到了与玉米 *adh1* 启动子相互作用,结合于 ARE 上和 ARE 之外的一些核蛋白<sup>[26]</sup>。

#### 4 AtMYB2 参与缺氧反应的调控

AtMYB2 是已经发现的一个重要的参与缺氧反应调控的转录调控因子,它结合在一些特定的序列上如 Myb 结合位点 (MBS1, MBS2) 并诱导这些缺氧基因表达,AtMYB2 是 Myb 家族中的一个,分子量为 32 kD<sup>[27]</sup>。有关拟南芥 AtMYB2 已广泛用于植物对缺氧响应机制的研究<sup>[28]</sup>,拟南芥 *adh1* 基因的 AtMYB2 结合位点位于转录起始点上游 200 bp 处,其中 MBS1 位于 -189 至 -187 之间,包含 G-box-2; MBS2 位于 -150 至 -148 之间,包含 GT- 结构。突变实验结果表明:当 MBS1 突变时 AtMYB2 便不能与之结合, *adh1* 随之也不能表达; MBS2 发生突变虽然降低了 AtMYB2 的结合能力,但并不影响

*adh1* 的表达, 这说明 MBS2 并不是诱导 *adh1* 表达的功能位点。利用原生质体瞬时表达及微粒子轰击实验证明: *adh1* 基因受 AtMYB2 的调控, 其表达量随 AtMYB2 的升高而升高, 一般 AtMYB2 的合成在 2-4 h 内达到最大值, 紧接着 4-6 h 内 *adh1* 的合成也随之达到高峰。

从图 3 我们可以看出: 无论在缺氧或是正常状态下, 编码 AtMYB2 调控因子的基因都存在转录产物, 只是当氧含量充足时其转录的 mRNA 迅速降解, 相反缺氧时它能稳定存在并很快调节 *adh* 基因的表达。因此, AtMYB2 所参与的缺氧调控主要体现在转录后的水平。

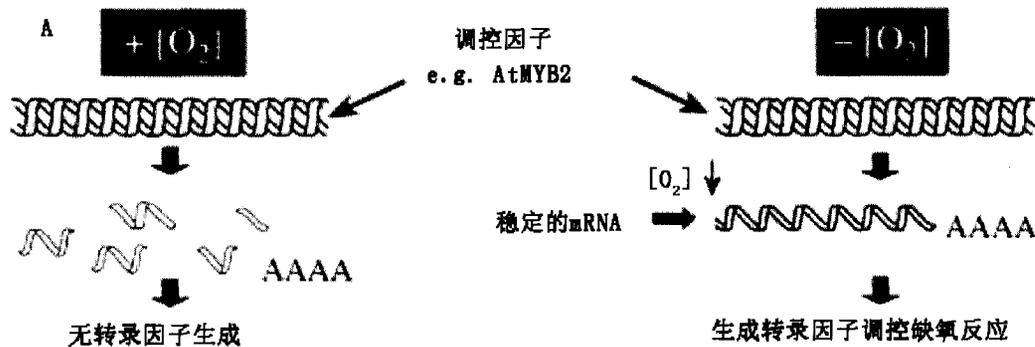


图 3 AtMYB2 参与缺氧调控的机制 (参见 Dolferus<sup>[6]</sup>)

Fig. 3 The regulated mechanism of anaerobic response participated by AtMYB2 (After Dolferus<sup>[6]</sup>)

## 5 展望

过去一段时间里, 人们在高等植物对缺氧响应的形态变化及生理代谢方面积累了大量的资料, 这些工作为开展缺氧响应的分子机制的研究奠定了重要的基础。高通量的功能基因组研究方法被应用于植物的耐渍性研究中, 已成功地分离、鉴定出了一系列耐渍相关基因, 对揭示植物耐渍性分子机理具有重要意义。分析玉米及拟南芥 *adh1* 突变体表明: 体内高活性的 ADH 或 PDC 有利于它们抵抗短期的渍胁迫<sup>[39]</sup>。目前, 对耐渍基因的研究主要集中在 (1) 有关糖代谢, 乙醇发酵及氮代谢相关的基因; (2) 参与缺氧信号转导过程及形态结构变异相关的一类基因。SSH, cDNA 微阵列等技术的应用有助于更多的缺氧响应基因的鉴定和克隆。高灵敏度的微阵列技术能够比较缺氧诱导下不同时期的缺氧应答基因及这些基因所参与的不同反应的调控, 但它仅局限于 mRNA 水平而无法应用于转录后水平调控的研究。研究证明转录后水平调控及 mRNA 选择性的翻译是缺氧响应相关基因的一种重要的调控机制<sup>[40, 41]</sup>。科学家对缺氧响应的研究将会从旱生性及一些模式植物转向于湿生性野生植物, 通过阐明湿生性野生植物对缺氧的响应机制, 并运用这种机制来调控某些旱生性植物对缺氧的耐受能力具有重要的理论和实践意义。分离、鉴定湿生性野

生植物中缺氧反应基因将是今后一个时期的研究热点。通过研究缺氧适应生物资源多样性的内在特点也是揭示植物耐受缺氧规律的重要途径。

## 参考文献

- [1] Crawford R, Braendle R. Oxygen, deprivation stress in a changing environment [J]. *J Exp Bot*, 1999, 47(295):145-159.
- [2] Roberts J, Callis J. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding in tolerance in plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81:6029-6033.
- [3] Kelley P M, Godfrey K, Lal S K, et al. Characterization of a hypoxically induced maize lactate hydrogenase gene [J]. *Plant Mol Biol*, 1991, 17:1259-1261.
- [4] Wang W Q (王文泉), Zhang F S (张福锁). The physiological and molecular of adaptation to anaerobiosis in higher plants [J]. *Plant Physiol Commun (植物生理学通讯)*, 2001, 37(1):63-70. (in chinese)
- [5] Xie Y, Wu R. Rice alcohol dehydrogenase genes: anaerobic induction, organ specific expression and characterization of cDNA clones [J]. *Plant Mol Biol*, 1989, 13:53-58.
- [6] Walker J C, Howard E A, Freeling M. DNA sequences required for anaerobic expression of the maize alcohol dehydrogenase I gene [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1987, 84:6624-6628.
- [7] Dennis E S, Olive M, Gerlach W L. Biochemistry and molecular biology of the anaerobic response [A]. In: Wray J L. *Society for Experimental Biology Seminar Series 49: Inducible Plant Proteins* [C]. Manila: IRRI, 1992. 213-245.
- [8] Dolferus R, Peacock W J, Dennis E S. Differential interactions of promoter elements in stress responses of the *Arabidopsis adh* gene

- [J]. *Plant Physiol*, 1994, 105:1075–1078.
- [9] Subbaiah C C, Sachs M M. Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress [J]. *Ann Bot*, 2003, 90:119–127.
- [10] Hansch R, Mendel R, Cerff R, et al. Light-dependent anaerobic induction of the maize glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 4 (*GapC4*) promoter in *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum* [J]. *Ann Bot*, 2003, 91:149–154.
- [11] Liu F, Vantoai T, Moy L, et al. Global transcription profiling reveals novel insights into hypoxic response in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2005, 137:1115–1129.
- [12] Huq E, Hodges T K. An anaerobically inducible early (*ae*) gene family from rice [J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 40:591–601.
- [13] Hossain M A, Huq E, Hodges T K. Sequence of a cDNA from *Oryza sativa* L. encoding the pyruvate decarboxylase I gene [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106:799–800.
- [14] Hossain M A, Huq E, Grover A, et al. Characterization of pyruvate decarboxylase genes from rice [J]. *Plant Mol Biol*, 1996, 31:761–770.
- [15] Huq E, Harrington S, Hossain M A, et al. Molecular characterization of *pdc2* and mapping of three *pdc* genes from rice [J]. *Theor Appl Gen*, 1999, 98:815–824.
- [16] Dolferus R, Delessert C. Enhancing the anaerobic response [J]. *Ann Bot*, 2003, 91:111–117.
- [17] Kwast K E, Burke P V, Staahl B T, et al. Oxygen sensing in yeast: Evidence for the involvement of the respiratory chain in regulating the transcription of a subset of hypoxic genes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(10):5446–5551.
- [18] Bunn H F, Poyton R O. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia [J]. *Physiol Rev*, 1996, 76(3):839–885.
- [19] Hon T, Dodd A, Dirmeier R, et al. A mechanism of oxygen sensing in yeast. Multiple oxygen-responsive steps in the heme biosynthetic pathway affect *Hap1* activity [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50):50771–50780.
- [20] Subbaiah C C, Kollipara K, Sachs M M. A Ca<sup>2+</sup>-dependent cysteine protease is associated with anoxia-induced root tip death in maize [J]. *J Exp Bot*, 2000, 51(347):721–730.
- [21] Kuzmin E V, Karpova O V, Elthon T E, et al. Mitochondrial respiratory deficiencies signal up-regulation of genes for heat shock proteins [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:20672–20677.
- [22] Geigenberger P. Response of plant metabolism to too little oxygen [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6(3):247–256.
- [23] Gerlach W L, Pryor A J, Dennis E S, et al. cDNA cloning and induction of the alcohol dehydrogenase gene (*adh1*) of maize [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79:2981–2985.
- [24] Mattana M, Bertani A, Reggiani R. Expression of glutamine synthetase during the anaerobic germination of *Oryza sativa* L. [J]. *Planta*, 1994, 195:147–149.
- [25] Bouny J M, Saglio P H. Glycolytic flux and hexokinase activities in anoxic maize root tips acclimated by hypoxic pretreatment [J]. *Plant Physiol*, 1996, 111:187–194.
- [26] Davletova S, Rizhsky L, Liang H, et al. Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2005, 17:268–281.
- [27] Baxter-Burrell A, Kloeckener-Gruissem B, Freeling M, et al. RopGAP4-dependent Rop GTPase rheostat control of *Arabidopsis* oxygen deprivation tolerance [J]. *Science*, 2002, 296:2026–2028.
- [28] Hagen T. Redistribution of intracellular oxygen in hypoxia by nitric oxide: effect on *HIF1α* [J]. *Science*, 2003, 302:1975–1978.
- [29] Dordas C. Expression of a stress-induced hemoglobin affects NO levels produced by alfalfa root cultures under hypoxic stress [J]. *Plant J*, 2003, 35:763–770.
- [30] Menguzzato E, Valle G, Sachs M M, et al. A Myb encoding cDNA expressed in anaerobic rice presents features suggesting post-transcriptional regulation [J]. *Plant Gene Register*, 1995, 95–104.
- [31] Sachs M M, Subbaiah C C, Saab I N. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize [J]. *J Exp Bot*, 1996, 47:1–15.
- [32] Sheila L, Fennoy T N, Bailey-Serres J. Transcriptional and post-transcriptional processes regulate gene expression in oxygen-deprived roots of maize [J]. *Plant J*, 1998, 15(6):727–735.
- [33] Dennis E S, Dolferus R, Ellis M, et al. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants [J]. *J Exp Bot*, 2000, 51(342):89–97.
- [34] Dennis E S, Gerlach W L, Walker J C, et al. Anaerobic regulated aldolase gene of maize: a chimaeric origin [J]? *J Mol Biol*, 1988, 202(4):759–767.
- [35] de Vetten N C, Ferl R J. Characterization of a maize G-box binding factor that is induced by hypoxia [J]. *Plant J*, 1995, 7(4):589–601.
- [36] Olive M R, Peacock W J, Dennis E S. The anaerobic responsive element contains two GC-rich sequences essential for binding a nuclear protein and hypoxic activation of the maize *adh1* promoter [J]. *Nucl Acids Res*, 1991, 19(15):7953–7960.
- [37] Kelley P M. Maize pyruvate decarboxylase mRNA is induced anaerobically [J]. *Plant Mol Biol*, 1989, 13(1):213–222.
- [38] Hoeren F, Dolferus R, Wu Y, et al. Evidence for a role of AtMYB2 in the induction of the *Arabidopsis* alcohol dehydrogenase gene (*adh1*) by low oxygen [J]. *Genetics*, 1998, 149:479–490.
- [39] Hake S, Kelly P M, Taylor W C, et al. Coordinate induction of alcohol dehydrogenase 1, aldolase and other anaerobic RNAs in maize [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260:5050–5054.
- [40] Bailey-Serres J, Dawe R D. Both 5' and 3' sequences of maize *adh1* mRNA are required for enhanced translation under low-oxygen conditions [J]. *Plant Physiol*, 1996, 112:685–695.
- [41] Bailey-Serres J, Rochaix J D, Wassenegger M, et al. Plant their organelles viruses and transgenes reveal the mechanisms and relevance of post-transcriptional processes [J]. *EMBO J* 1999, 18:5153–5158.