

REVIEW ARTICLE

A review on reactive oxygen species (ROS): production, function, and their influence on plants

Armin Saed-Moucheshi¹, Fatemeh Sohrabi², Ali Shirkhani^{1*}

¹Crop and Horticulture Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (AREEO), Kermanshah, Iran.

² Department of Plant Biotechnology, College of Agriculture, Shiraz University, Fars, Iran.

Correspondence

Ali Shirkhani

Email: Ali.shirkhani@gmail.com

How to cite

Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., & Shirkhani, A. (2023). A review on Reactive Oxygen Species (ROS): production, function, and their influence on plants. *Crop Biotechnology*, 13(44), 53-70.

ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) produced in organelles such as mitochondria, chloroplast, and peroxisome play an important role in plant signaling and signal transduction pathways. ROSs basically are able to regulate oxidation-reduction (known as redox) reactions, plant growth and defense responses to environmental stimuli. Therefore, they affect every aspect at all life cycle stages of plants. ROSs such as hydrogen peroxide, superoxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen act as secondary messengers in plant cells to regulate a diverse range of protein functions (with post-translational modifications) and gene expression. They are produced naturally during the plant responses to environmental conditions and intra-/inter-cellular communications. Recent researches are indicating that ROS compounds play a key role in the plants response under both biotic and abiotic stresses. Biotic stresses such as fungi, viruses, mites, insects and other organisms, along with abiotic stresses such as drought, salinity and heavy metals, increase the production of ROS in plant cells. Plants possess various mechanisms to deal with the destructive effects of ROS increased production. ROS removal in plants is usually performed by two main groups of enzymatic and non-enzymatic antioxidant molecules. Antioxidant molecules play important roles in plant tolerance under stressful conditions by neutralizing ROS and converting them into water molecules. However, under severe stress conditions, plants are not able to eliminate the entire content of extra produced ROS molecules; as a result, the high amount of ROS causes oxidative stress in plants leading to various damages to the main components of the cells, such as proteins, lipids, DNA, carbohydrates, and ultimately cell death. There are still many unanswered questions regarding the plant specific responses to oxidative stress and regulation of cell communication during stress conditions. This review article tries to introduce the origin, location, and pathways of ROS production along with their types and effects on the cellular signal transduction system in stimulating adaptive responses of plants under stress conditions. Moreover, this review discusses the effectiveness of antioxidants systems in maintaining cell homeostasis and neutralizing the negative impacts of oxygen free radicals in plants.

KEYWORDS

reactive oxygen species, oxidative stress, plant messenger, oxidation-reduction, antioxidant.

نشریه علمی

زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله مروری»

مروری بر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS): تولید، کارکرد و تأثیر آن‌ها در گیاهان

آرمین ساعدموچشی^۱، فاطمه سهرابی^۲، علی شیرخانی^{۱*}

چکیده

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولیدشده در اندامک‌هایی مانند میتوکندری، کلروپلاست و پراکسی‌زوم نقش مهمی در مسیرهای انتقال پیام در گیاهان دارند و واکنش‌های اکسایش-کاهش، رشد و نمو و همچنین پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر تغییرات محیطی را تنظیم می‌کنند. بنابراین، ROSها بر هر جنبه و مرحله‌ای از گیاه تأثیرگذار هستند. ROSها مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل و اکسیژن منفرد، در سلول‌های گیاهی به‌عنوان پیام‌رسان‌های ثانویه جهت تنظیم طیف متنوعی از عملکردهای پروتئینی (با تغییرات پساترجمه) و تنظیم بیان ژن عمل می‌کنند. ROSها به صورت طبیعی در جریان پاسخ گیاه به شرایط محیطی و ارتباطات داخل و بین سلولی تولید می‌گردند. با این حال تحقیقات اخیر نشان داده است که این ترکیبات نقش مهمی در پاسخ گیاهان به شرایط تنش بر عهده دارند. تنش‌های زیستی مانند: قارچ‌ها، ویروس‌ها، کنه‌ها، حشرات و سایر جانداران، به همراه تنش‌های محیطی غیرزیستی مانند: خشکی، شوری و فلزات سنگین موجب افزایش تولید ROS در گیاهان می‌شود. گیاهان مکانیسم‌های متنوعی جهت مقابله با تأثیرات منفی افزایش تولید ROS دارند. حذف ROS در گیاهان به طور معمول توسط دو گروه اصلی از مولکول‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر-آنزیمی صورت می‌پذیرد. مولکول‌های آنتی‌اکسیدان با خنثی کردن ROS و تبدیل آن به آب، به‌عنوان محصول نهایی، نقش مهمی در تحمل گیاه به تنش‌ها را ایفا می‌کنند. با این حال در شرایط تنش شدید، گیاهان قادر به حذف همه‌ی مولکول‌های تولید شده مازاد نیستند و در نتیجه مقدار بالای ROS موجب ایجاد تنش اکسیداتی و آسیب به ترکیبات اصلی سلول مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA، کربوهیدرات‌ها و در نهایت مرگ سلول می‌شود. هنوز به بسیاری از سوالات در مورد واکنش گیاهان به تنش اکسیداتی و تنظیم ارتباطات سلولی در زمان تنش پاسخ داده نشده است. این مقاله‌ی مروری به بررسی محل و نحوه‌ی تولید ROSها، انواع و تأثیرات آن‌ها بر سیستم پیام‌رسانی سلول‌ها و ایجاد پاسخ‌های سازگاری گیاهان در شرایط تنش می‌پردازد. همچنین، نحوه کارکرد آنتی‌اکسیدان‌های مؤثر در حفظ هموستازی سلول و کارایی آن‌ها در حذف یا خنثی‌سازی اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن مورد بررسی قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی

گونه‌های فعال اکسیژن، تنش اکسیداتیو، پیام‌رسان گیاهی، اکسایش-کاهش، آنتی‌اکسیدان.

^۱ بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

^۲ بخش بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران.

نویسنده مسئول:

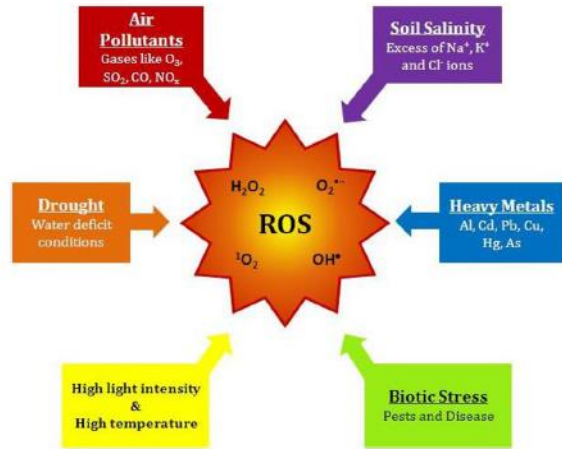
علی شیرخانی

ایانامه: Ali.shirkhani@gmail.com

استناد به این مقاله:

ساعدموچشی، آرمین، سهرابی، فاطمه و شیرخانی، علی (۱۴۰۲). مروری بر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS): تولید، کارکرد و تأثیر آن‌ها در گیاهان. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۴)، ۷۰-۵۳.

آن‌ها و واکنش‌های اکسایش-کاهش در اندامک‌های گیاهی، تولید و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و تنظیم عملکرد ژن‌های مرتبط با مسیرهای پاسخ به محرک‌های محیطی است.



شکل ۱. دلایل مختلف که در ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن دخیل هستند (Sharma *et al.*, 2012).

انواع ROS

فتوتروف‌ها انرژی نور خورشید را توسط فتوسنتز به انرژی بیوشیمیایی تبدیل می‌کنند و بنابراین برای حفظ زندگی روی زمین بسیار مهم هستند. انواع مختلف ROS شامل 1O_2 (اکسیژن منفرد)، H_2O_2 (پراکسید هیدروژن)، $O_2^{\bullet-}$ (رادیکال سوپراکسید) و OH^{\bullet} (رادیکال هیدروکسیل) هستند که به عنوان محصولات ناخواسته تولید می‌شوند (Sonmez *et al.*, 2023) (جدول ۱). اینها فقط از یک تا دو درصد از کل O_2 مصرفی گیاهان تولید می‌شوند (Bhattacharjee, 2005). واکنش‌های تولید کننده اعضای مختلف ROS در شکل ۲ نشان داده شده است.

رادیکال سوپراکسید $O_2^{\bullet-}$

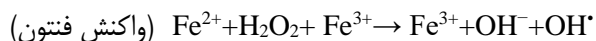
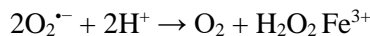
ROS به طور مداوم در کلروپلاست به دلیل کاهش جزئی O_2 (اکسیژن) یا به عنوان نتیجه انتقال انرژی به اکسیژن تولید می‌شود. رادیکال سوپراکسید عمدتاً در فتوسیستم I تیلوکوئیدی طی زنجیره انتقال الکترون غیرچرخه‌ای^۵ (ETC) و هم چنین بخش‌های دیگر سلولی تولید می‌شود. گاهی اوقات، اکسیژن با اجزای مختلف ETC واکنش می‌دهد تا رادیکال سوپراکسید را ایجاد کند (Guo *et al.*, 2023). این رادیکال معمولاً اولین ROSی است که تشکیل

مقدمه

گیاهان به طور مداوم با محیط اطراف خود در ارتباط هستند و سیستم‌های متابولیک خود را مطابق با شرایط محیطی تنظیم می‌کنند تا بهره‌وری گیاهی را بهبود ببخشند. سلول‌های گیاهی درجه بالایی از انعطاف‌پذیری را نشان می‌دهند که آن‌ها را قادر می‌سازد به تغییرات محیطی که روزانه در معرض آن قرار می‌گیرند، واکنش نشان دهند. این انعطاف‌پذیری در فرایندهای اکسایش-کاهش سلولی^۱ و به ویژه تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^۲ (ROS) منعکس می‌شود که نقش مهمی در پاسخ‌های مناسب به تغییرات محیطی مانند شدت نور و دسترسی به آب دارند (Sonmez *et al.*, 2023). عدم تعادل متابولیک ناشی از تنش‌ها می‌تواند منجر به فعال شدن آنزیم NADPH اکسیداز^۳ (NOX) و افزایش تولید ROS از منابعی مانند میتوکندری، کلروپلاست و پراکسی‌زوم می‌شود و در نهایت تجمع ROSها منجر به فعال کردن مسیر پیام‌رسانی^۴ می‌شود (Guo *et al.*, 2023). جمع‌آوری شواهد و بررسی منابع مرتبط با ROSها نشان دهنده نقش کلیدی آن‌ها به عنوان پیام‌رسان‌های زیستی است. عوامل گوناگونی که موجب ایجاد انواع ROS می‌شود در شکل ۱ نشان داده شده است.

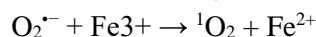
یافته‌های جدید نشان می‌دهد که ROSها تقریباً بر همه جنبه‌های زیست‌شناسی گیاهی تأثیر می‌گذارند و سهم مهمی در کنترل تبادل اطلاعات سلولی و تعیین عملکرد و سرنوشت سلول‌ها دارند (Sonmez *et al.*, 2023). بررسی مقالات و مطالعات چاپ شده در ارتباط با ROSها در طی سال‌های اخیر نشان دهنده اهمیت نقش این مولکول‌ها در گیاهان است. این مولکول‌ها پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را تسهیل می‌کنند (Guo *et al.*, 2023). علاوه بر این، تعاملات ROSها دارای اثرات فراوان در تنظیم طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک به محیط زیست مانند جوانه زنی، نمو ریشه و بسته شدن روزنه‌های برگ دارد (Vavilala *et al.*, 2015). با این حال مطالعات کمی در ارتباط با نحوه تولید ROSها، تأثیر و پیام‌رسانی آن‌ها در شرایط نرمال و تنش به زبان فارسی به چاپ رسیده است. بنابراین، هدف ما در این مقاله ارائه پیشرفت‌های اخیر در درک چگونگی مدیریت و استفاده از ROSها توسط سلول‌های گیاهی، پیام‌رسانی آن‌ها، تعاملات

1. Redux
2. Reactive oxygen species
3. NADPH oxidase
4. Signaling



(واکنش فنتون)

می‌شود. رادیکال سوپراکسید همچنین می‌تواند واکنش‌های بیشتری را برای تولید سایر اعضای خانواده ROS انجام دهد.



جدول ۱. اعضای مختلف خانواده ROS و مشخصات آن‌ها

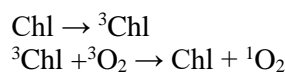
ROS	t _{1/2}	Migration distance	Sources	Mode of action	Reaction with DNA	Reaction with protein	Scavenging systems	Scavenging system
Superoxide (O ₂ ^{·-})	1-4 μs	30 nm	Membranes, Chloroplasts, Mitochondria	Reacts with double bond containing compounds such as (Fe-S) proteins	No	Via the Fe-center	Extremely low	SOD
Hydroxyl radical (OH [·])	1 μs	1 nm	Membranes, Chloroplasts, Mitochondria	Extremely reactive with all biomolecules	Rapidly reacting	Rapidly reacting	Rapidly reacting	Flavonoids and Proline
Hydrogen Peroxide (H ₂ O ₂)	1 ms	1 μm	Membranes, Chloroplasts, Mitochondria, Peroxisomes	Oxidizes proteins and forms OH [·] via O ₂ ^{·-}	No	Attacks the Cys residue	Extremely low	CAT, PDXs and Flavonoids
Singlet Oxygen (O ₂ ¹)	1-4 μs	30 nm	Membranes, Chloroplasts, Mitochondria	Oxidizes proteins, PUFAs and DNA	Reacts with G residue	Attacks Trp, His, Tyr, Met and Cys residues	PUFA	Carotenoids and a-Tocopherol

وسیع‌تری از اهداف آسیب برسانند. این اهداف شامل مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها هستند (Sonmez *et al.*, 2023). این ترکیبات عامل اصلی از دست دادن فعالیت PSII ناشی از نور و در نتیجه مرگ سلولی هستند. گیاهان توانسته‌اند اکسیژن منفرد را با کمک بتاکاروتن، توکوفرول، پلاستوکینون به طور موثری خنثی کنند. از طرف دیگر، اکسیژن منفرد در افزایش بیان ژن‌هایی که مسئول محافظت در برابر تنش اکسیداتیو نوری^۲ هستند، نقش دارد (Guo *et al.*, 2023).

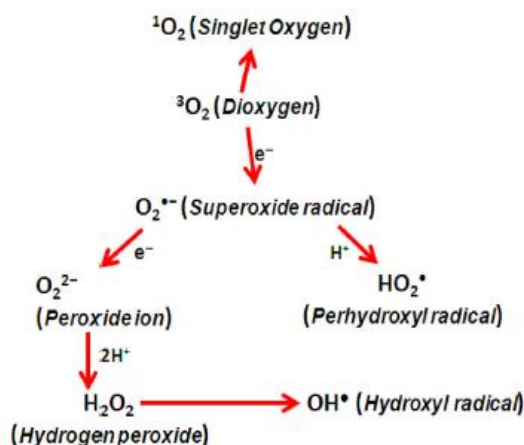
رادیکال سوپراکسید واکنش پذیری متوسط با نیمه عمر کوتاه ۲ تا ۴ میکرو ثانیه دارد و به خودی خود آسیب زیادی ایجاد نمی‌کند. در عوض، به رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن منفرد (واکنش پذیرتر و سمی‌تر) تبدیل می‌شود و باعث پراکسیداسیون لیپیدی غشا می‌شود (Halliwell, 2006).

اکسیژن منفرد (O₂¹)

اکسیژن منفرد یک ROS غیرمعمول است که نه تنها از طریق انتقال الکترون به اکسیژن مولکولی، بلکه با واکنش کلروفیل‌های (Chl) موجود در سیستم آنتن که در مرحله سه گانه^۱ قرار دارند با اکسیژن، ایجاد می‌شود.



تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و فلزات سنگین باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌شود در نتیجه غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی کاهش یافته و این امر به تشکیل اکسیژن منفرد کمک می‌کند. اکسیژن منفرد می‌تواند به هر دو سیستم فتوسنتزی، سیستم I (PSI) و سیستم II (PSII) آسیب جدی وارد ساخته و کل سیستم‌های فتوسنتزی را در معرض خطر قرار دهد. اگرچه اکسیژن منفرد نیمه عمر کوتاهی در حدود ۳ میکرو ثانیه دارد (Guo *et al.*, 2023)، می‌تواند حدود ۱۰۰ نانومتر پخش شود و به طیف

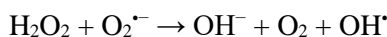


شکل ۲. ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن با انتقال انرژی.

مختلف مانند فروکتوز ۱، ۶ بیس فسفاتاز^۶، سدوهپتولوز ۱، ۷ بیس فسفاتاز ۷ و فسفوریبولوکیناز^۸ در غلظت ۱۰ میکرومولار شده و همچنین مسئول مرگ برنامه ریزی سلولی در غلظت‌های بالای سلولی است. با این حال، مانند رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن نسبتاً واکنش پذیر است. بنابراین، آسیب آن به طور کامل تنها زمانی قابل درک است که به گونه های فعال تر تبدیل شود.

رادیکال هیدروکسیل (OH•)

در میان اعضای خانواده ROS، رادیکال هیدروکسیل (OH•) واکنش پذیرترین و سمی ترین ROS شناخته شده است. در pH خنثی توسط واکنش فنتون بین پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید تولید می شود که توسط فلزات واسطه مانند آهن (Fe²⁺ و Fe³⁺) کاتالیز می شود. این رادیکال، توسط پراکسیداسیون لیپیدی^۹ (LPO)، موجب تخریب غشاء می شود. از آنجایی که سیستم آنزیمی برای حذف این رادیکال سمی وجود ندارد، تجمع بیش از حد رادیکال هیدروکسیل مرگ سلولی را در پی دارد (Pinto et al., 2003).



محل های تولید ROS

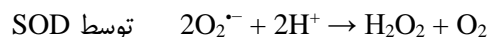
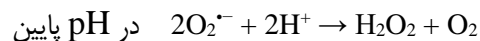
ROS در هر دو حالت تنش و غیرتنش در چندین مکان در کلروپلاست، میتوکندری، غشای پلاسمایی، پراکسیزوم، آپوپلاست، ER و دیواره های سلولی تولید می شود (شکل ۳). ROS همیشه از نشت اجتناب ناپذیر الکترون ها به اکسیژن از فعالیت های انتقال الکترون در کلروپلاست ها، میتوکندری ها و غشای پلاسمایی یا به عنوان یک محصول جانبی از مسیرهای متابولیک مختلف که در بخش های مختلف سلولی قرار دارند، تشکیل می شود.

کلروپلاست ها

در کلروپلاست ها، اشکال مختلف ROS از چندین مکان تولید می شوند. ETC های موجود در PSI و PSII منابع اصلی ROS در کلروپلاست هستند. تولید ROS توسط این منابع شرایط

پراکسید هیدروژن (H₂O₂)

پراکسید هیدروژن، یک ROS نسبتاً واکنش پذیر است و زمانی تشکیل می شود که رادیکال سوپر اکسید هم کاهش یک ظرفیتی و هم چنین پروتونه شدن را تجربه کند. این امر می تواند هم به صورت غیر آنزیمی با تبدیل شدن به پراکسید هیدروژن در شرایط pH پایین یا عمدتاً توسط واکنشی که توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز^۱ (SOD) کاتالیز می شود، رخ دهد.



پراکسید هیدروژن در سلول های گیاهی نه تنها در شرایط عادی، بلکه در اثر تنش اکسیدی^۲، ناشی از عواملی مانند خشکی، سرما، نور شدید، اشعه ماوراء بنفش، زخم و عفونت پاتوژن نیز تولید می شود (Sharma et al., 2012). منابع اصلی تولید پراکسید هیدروژن در سلول های گیاهی شامل ETC در کلروپلاست، میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی^۳ (ER)، غشای سلولی، اکسیداسیون بتای اسید چرب و تنفس نوری است. منابع دیگر شامل اکسیداسیون نوری^۴ توسط NOX و گزانتین اکسیداز^۵ (XOD) می شود.

پراکسید هیدروژن در گیاهان مانند شمشیر دو لبه رفتار می کند. در غلظت های پایین مفید اما در غلظت های بالاتر مضر است. در غلظت های درون سلولی اندک، به عنوان یک پیام تنظیم کننده برای فرآیندهای فیزیولوژیکی ضروری مانند پیری، تنفس نوری، فتوسنتز، حرکت روزنه ای، چرخه سلولی و رشد و نمو عمل می کند (Kawaguchi et al., 2023). به دلیل نیمه عمر طولانی ۱ میلی ثانیه در مقایسه با سایر اعضای ROS، می تواند مسافت های طولانی تری را طی کند و از غشای سلولی گیاه عبور کند. این ترکیب می تواند از طریق آکوپورین ها از غشاها عبور و به قسمت های مختلف سلول دست یابد و موجب تنش اکسیدی شود. پراکسید هیدروژن در غلظت بالا، هر دو اسید آمینه سیستئین (SH⁻) و متیونین (SCH³⁻) را اکسید می کند و آنزیم های چرخه کالوین، Cu/Zn-SOD و Fe-SOD را با اکسید کردن گروه های تیول آن ها غیرفعال می کند (Ozgun et al., 2015). این امر موجب کاهش ۵۰ درصدی فعالیت آنزیم های

6. Fructose 1, 6 bisphosphatase

7. Sedoheptulose 1, 7 bisphosphatase

8. Phosphoribulokinase

9. Lipid peroxidation

1. Superoxide dismutase

2. Oxidative stress

3. Endoplasmic Reticulum

4. Photo-oxidation

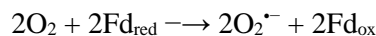
5. Xanthine oxidase

میتوکندری

میتوکندری می‌تواند ROS را در چندین قسمت ETC تولید کند. در میتوکندری احیای مستقیم اکسیژن به رادیکال سوپراکسید در ناحیه فلاووپروتئینی NADH دهیدروژناز^۳ زنجیره تنفسی (کمپلکس I) رخ می‌دهد. هنگامی که پیش ماده مرتبط با NAD^+ برای کمپلکس I محدود می‌شود، انتقال الکترون می‌تواند از کمپلکس II به کمپلکس I (جریان الکترون معکوس) رخ دهد. نشان داده شده است که این فرآیند تولید ROS را در کمپلکس I افزایش می‌دهد که توسط هیدرولیز ATP تنظیم می‌شود (Turrens, 2003). ناحیه یوبی‌کینون - سیتوکروم^۴ ETC (کمپلکس III)، نیز رادیکال سوپراکسید را از اکسیژن تولید می‌کند. اعتقاد بر این است که یوبی‌کینون کاملاً احیا شده یک الکترون به سیتوکروم C1 می‌دهد و یک رادیکال یوبی‌سمی‌کینون^۵ بسیار احیاکننده ناپایدار ایجاد می‌کند که برای نشت الکترون به اکسیژن و در نتیجه تولید رادیکال سوپراکسید مناسب است. در گیاهان، تحت شرایط هوازی معمولی، ETC و تولید ATP به یکدیگر کاملاً وابسته هستند. با این حال، عوامل تنش مختلف منجر به مهار و تغییر اجزای آن می‌شود. این امر منجر به کاهش بیش از حد حامل‌های الکترون و در نتیجه تشکیل ROS می‌شود (Noctor *et al.*, 2007).

چندین آنزیم موجود در ماتریکس میتوکندری می‌توانند ROS تولید کنند. برخی از آن‌ها مانند آکونیتاز^۶ به طور مستقیم ROS تولید می‌کنند در حالی که برخی دیگر مانند 1-galactono- γ -lactone dehydrogenase (GAL)، که قادر به انتقال الکترون‌ها به ETC هستند. رادیکال سوپراکسید از اولین ROSها است که از کاهش تک ظرفیتی در ETC تشکیل می‌شود. این ترکیب به سرعت توسط MnSOD (شکل میتوکندریایی SOD) یا آسکوربات پراکسیداز^۷ (APX) به پراکسید هیدروژن نسبتاً پایدار و نفوذپذیر از غشاء تبدیل می‌شود. پراکسید هیدروژن نیز توسط واکنش فنتون به رادیکال هیدروکسیل تبدیل می‌شود (Rasmusson *et al.*, 2008).

محدود کننده تثبیت دی اکسید کربن، مانند تنش‌های خشکی، شوری، دما و همچنین با ترکیب این شرایط با تنش نور زیاد، افزایش می‌یابد. در شرایط نرمال، جریان الکترون از فتوسیستم‌های برانگیخته شده به NADP رفته و به NADPH احیا می‌شود. NADPH سپس وارد چرخه کالوین می‌شود و گیرنده نهایی الکترون، دی اکسید کربن را احیا می‌کند. در صورت بارگذاری بیش از حد ETC، به دلیل کاهش عرضه NADP ناشی از شرایط تنش، نشت الکترون از فرودوکسین به اکسیژن وجود دارد و تحت فرایندی به نام واکنش مهمل^۱ رادیکال سوپراکسید تولید می‌شود (Cleland & Grace, 1999).



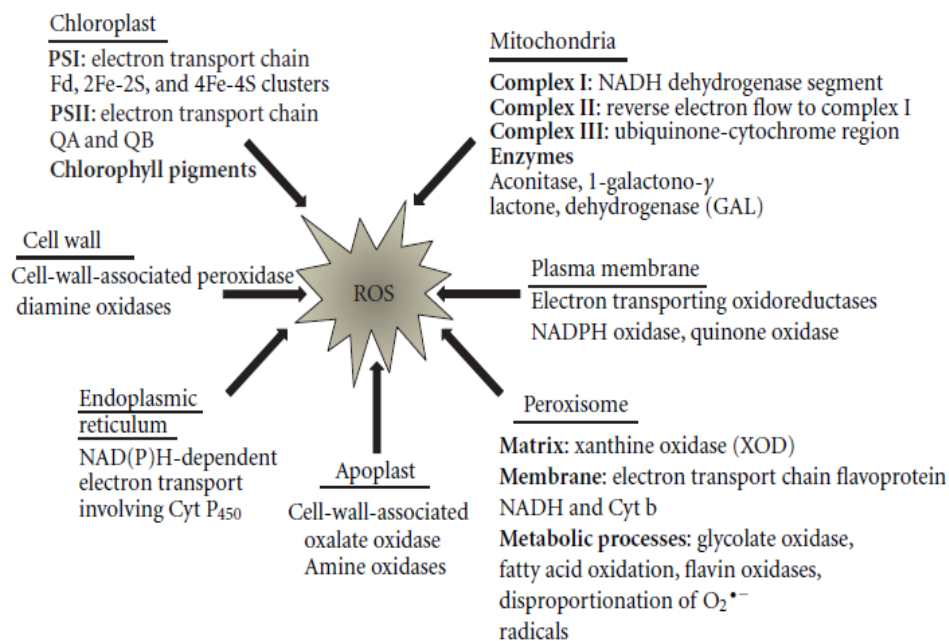
نشت الکترون‌ها به اکسیژن نیز ممکن است از دسته‌های فتوسیستم، سمت پذیرنده شامل کینون A (QA) و کینون B (QB) است. نشت الکترون از این محل به اکسیژن به تولید رادیکال سوپراکسید کمک می‌کند. تشکیل رادیکال سوپراکسید با احیای اکسیژن یک مرحله محدود کننده سرعت است. سپس رادیکال سوپراکسید ممکن است روی سطح غشای داخلی "لومن" به رادیکال HO_2^{\cdot} پروتونه شود یا به صورت آنزیمی (توسط SOD) یا به طور خود به خود به پراکسید هیدروژن در سطح غشای "استرومایی" خارجی تبدیل شود. در مراکز Fe-S که Fe_2^+ در دسترس است، پراکسید هیدروژن ممکن است از طریق واکنش فنتون به رادیکال هیدروکسیل (بسیار خطرناک‌تر) تبدیل شود (Guo *et al.*, 2023).

شبکه آندوپلاسمی (ER)

در ER، انتقال الکترون وابسته به NAD(P)H که شامل Cyt P450 می‌شود، رادیکال سوپراکسید را تولید می‌کند. پیش ماده ارگانیک، RH، ابتدا با Cyt P450 واکنش نشان می‌دهد و سپس توسط یک فلاووپروتئین احیا می‌شود تا یک رادیکال حد واسط (Cyt P450R-) تشکیل دهد. اکسیژن سه گانه^۲ می‌تواند به راحتی با این رادیکال حدواسط واکنش نشان دهد زیرا هر یک دارای یک الکترون جفت نشده هستند. این کمپلکس اکسیژن‌دار (Cyt P450ROO-) ممکن است توسط سیتوکروم b احیا شود یا گاهی اوقات کمپلکس‌ها ممکن است تجزیه شوند و رادیکال سوپراکسید آزاد کنند (Mittler, 2002).

3. NADH dehydrogenase
4. Ubiquinone-cytochrome region
5. Ubisemiquinone
6. Aconitase
7. Ascorbate peroxidase

1. Mehler
2. Triplet oxygen



شکل ۳. محل‌های تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان. ROS در چندین مکان مانند کلروپلاست، میتوکندری، غشای پلاسمایی، پراکسی‌زوم، آپوپلاست، شبکه آندوپلاسمی و دیواره سلولی تولید می‌شود (Sharma *et al.*, 2012).

پراکسی‌زوم

سه پلی‌پپتید غشای پراکسی‌زومی^۲ (PMPs) با جرم مولکولی ۱۸، ۲۹، و ۳۲ کیلو دالتون در تولید رادیکال سوپراکسید دخیل هستند. در حالی که PMP های ۱۸ و ۳۲ کیلو دالتونی از NADH به عنوان دهنده الکترون برای تولید رادیکال سوپراکسید استفاده می‌کنند، PMP، ۲۹ کیلو دالتون به وضوح به NADPH وابسته است و قادر به احیای سیتوکروم c با NADPH به عنوان دهنده الکترون است. در میان سه PMP، تولید کننده اصلی رادیکال سوپراکسید، PMP ۱۸ کیلو دالتونی است که پیشنهاد می‌شود سیتوکرومی احتمالاً متعلق به گروه نوع b باشد. رادیکال سوپراکسید تولید شده متعاقباً توسط SOD به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود (Datta *et al.*, 2023).

غشای پلاسمایی

اکسیدوردوکنازهای انتقال دهنده الکترون در همه قسمت‌های غشای پلاسمای وجود دارند و منجر به تولید ROS در غشا می‌شوند. تولید ROS با استفاده از تکنیک‌های مختلف در غشاهای پلاسمایی جدا شده از مناطق در حال رشد زیر لپه^۳ و ریشه‌های نهال سویای ایتوله و همچنین کلتوتیپیل و ریشه‌های نهال ذرت ایتوله مورد مطالعه قرار گرفت (Heyno *et al.*, 2011).

پراکسی‌زوم‌ها احتمالاً به دلیل متابولیسم اکسیدی خود، مکان‌های اصلی تولید پراکسید هیدروژن سلولی هستند. فرآیندهای متابولیکی اصلی تولید پراکسید هیدروژن در انواع مختلف پراکسی‌زوم شامل واکنش گلیکولات اکسیداز^۱، بتا اکسیداسیون اسید چرب، واکنش آنزیمی اکسیدازهای فلاوین، و عدم تناسب رادیکال‌های سوپراکسید است (Baker & Graham, 2013). در طول تنفس نوری، اکسیداسیون گلیکولات توسط گلیکولات اکسیداز در پراکسی‌زوم بیشترین عامل تولید پراکسید هیدروژن است. مانند میتوکندری و کلروپلاست، پراکسی‌زوم نیز در نتیجه متابولیسم طبیعی خود سوپراکسید تولید می‌کند. در پراکسی‌زوم‌های برگ نخود و لپه‌های هندوانه حداقل، دو محل تولید رادیکال سوپراکسید با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و طیف سنجی شناسایی شده است. یکی از این دو در ماتریس اندامک، سیستم مولد XOD است که اکسیداسیون گزانتین یا هیپوگزانتین به اسید اوریک را کاتالیز می‌کند که در این فرآیند رادیکال سوپراکسید تولید می‌شود. محل دیگر در غشاهای پراکسی‌زوم است که در آن یک ETC کوچک متشکل از فلاوپروتئین NADH و Cyt b وجود دارد (Noctor *et al.*, 2002).

2. Peroxisomal membrane polypeptides
3. Hypocotyls

1. Glycolate oxidase reaction

آپوپلاست

به نظر می‌رسد آنزیم‌های واقع در دیواره سلولی مسئول تولید ROS آپوپلاستی هستند (Hashem & Khalil, 2023). اگزالات اکسیداز^{۱۱} مرتبط با دیواره سلولی (ژرمین)^{۱۲} پراکسید هیدروژن و دی اکسید کربن را از اگزالیک اسید آزاد می‌کند. گزارش شده است که این آنزیم در تجمع پراکسید هیدروژن آپوپلاستی طی تعاملات بین گونه‌های مختلف غلات و قارچ‌ها نقش دارد (Lane, 2002). آنزیم‌های شبه آمین اکسیداز^{۱۳} ممکن است به واکنش‌های دفاعی که در آپوپلاست به دنبال استرس زیستی رخ می‌دهد، عمدتاً به تولید پراکسید هیدروژن کمک کند (Cona et al., 2006). آمین اکسیدازها^{۱۴}، دامیناسیون اکسیداتیو پلی‌آمین‌ها (یعنی پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین) را با استفاده از FAD به عنوان کوفاکتور کاتالیز می‌کنند (Yan et al., 2023).

مروری بر نقش‌ها و عملکردهای ROS در گیاهان

در بررسی نقش ROS در مطالعه مربوط به de Pinto et al. (2015) عنوان شد که متابولیت‌های اکسایش-کاهش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مسیرهای پیام‌رسانی و پاسخ سلول‌های گیاهی بسیار موثر هستند. به جهت حضور کلروپلاست و فتوستنتز در گیاهان، تفاوت‌های واضحی در روش‌های تولید ROS در حیوانات و گیاهان وجود دارد. اکنون نقش ROS در مسیرهای پیام‌رسانی میان اندامک‌ها و هسته بستر بسیاری از تحقیقات علمی در گیاهان است. در این زمینه، (Ozgun et al., 2015) به بررسی چگونگی اثر اندامک‌های مختلف گیاهی بر بیان یا عدم بیان ژن‌های مرتبط با پروتئین‌ها با واسطه ROS در ER پرداختند. پروتئین‌هایی که به واسطه تأثیر ROS‌ها در سلول‌های گیاهی تولید می‌شوند به نام پروتئین‌های پیچ‌خورده پاسخی^{۱۵} (UPR) شناخته می‌شوند. آن‌ها در تسهیل پیچش^{۱۶}، شکل‌دهی پروتئین‌ها و تخریب پروتئین‌های اشتباه نقش دارند. گفته می‌شود که قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش‌های طولانی مدت می‌تواند منجر به تجمع بیش از حد پروتئین‌های اشتباه شود. این موضوع باعث افزایش میزان تخریب پروتئین‌ها در نتیجه تأثیر

NAD(P)H واسطه‌ای برای تولید رادیکال سوپراکسید در تمام نمونه‌های غشای پلاسمایی بود. بنابراین پیشنهاد شد که در غشاهای پلاسمایی سوپراکسید تولید رادیکال سوپراکسید را می‌توان به عملکرد حداقل دو آنزیم، NOX و منادیون^۱ (یک ردوکتاز کینونی)^۲ نسبت داد (Noctor et al., 2002). انتقال الکترون‌ها را از NADPH سیتوپلاسمی به اکسیژن برای تشکیل رادیکال سوپراکسید کاتالیز می‌کند. رادیکال سوپراکسید به صورت خود به خود یا با فعالیت آنزیم SOD به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. NOX برای ایفای نقش کلیدی در تولید و تجمع ROS در گیاهان تحت شرایط تنش پیشنهاد شده است (Kwak et al., 2003).

دیواره‌های سلولی

دیواره‌های سلولی نیز به عنوان مکان‌های فعال برای تولید ROS در نظر گرفته می‌شوند. نقش پراکسیداز مرتبط با دیواره سلولی^۳ در تولید پراکسید هیدروژن نشان داده شده است. در ترب، پراکسیداز مرتبط با دیواره سلولی جدا شده، تشکیل پراکسید هیدروژن را در حضور NADH کاتالیز می‌کند. واکنش توسط مونوفنل‌های مختلف، به ویژه کانی‌فریل‌الکل^۴ تحریک می‌شود و مشخص شد که مالات دهیدروژناز^۵ تنها کاندید برای تامین NADH است (Gross, 1977).

تولید ROS توسط پراکسیدازهای واقع در دیواره سلولی در طی پاسخ حساسیت بیش از حد^۶ (HR) القا شده توسط باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Martinez et al., 1998) و استرس کمبود پتاسیم (K) در آرابیدوپسیس (Kim et al., 2010) ایجاد می‌شود. دی‌آمین اکسیدازها^۷ همچنین در تولید ROS در دیواره سلولی با استفاده از دی‌آمین یا پلی‌آمین‌ها (پوترسین^۸، اسپرمیدین^۹، کاداورین^{۱۰} و غیره) برای احیای یک کینون که اکسید می‌شود و پراکسیدها را تشکیل می‌دهد، دخیل هستند (Pell & Steffen, 1991).

1. Menadione
2. Quinone reductase
3. Cell-wall-associated peroxidase
4. Coniferyl alcohol
5. Malate dehydrogenase
6. Hypersensitive response
7. Diamine oxidases
8. Putrescine
9. Spermidine
10. Cadaverine

11. Oxalate oxidase
12. Germin
13. Amine oxidase-like enzymes
14. Amine oxidases
15. Unfolded protein response
16. Folding

که جهش یافته‌های Vtc1-1 (دخیل در مسیر سنتز آسکوربات)، حساسیت کمتری نسبت به این تنش را نشان دادند (Jozefczak *et al.*, 2015).

Palma *et al.* (2015) نشان دادند که اکسیدان‌ها در مسیر و فرایند رسیدن میوه در گیاه دیفل تأثیر گذار هستند. بررسی آن‌ها نشان دهنده نقش آسکوربات در کنترل پاسخ‌های گیاه به شرایط محیطی و اثر آن در رسیدگی میوه بود. همچنین بر اساس پژوهش‌های Jeevan Kumar *et al.* (2015)، ROS با جنبه‌های مختلف فیزیولوژی بذر از تولد تا مرگ ارتباط نزدیکی داشته و همچنین در عملکرد نهایی محصولات دانه‌ای مانند غلات و کیفیت دانه تأثیر گذار است. از طرف دیگر، ROS نقش تنظیمی در خواب بذر داشته و می‌تواند در مبارزه با عفونت پاتوژن‌ها نقش داشته باشد. بر اساس گفته Morscher *et al.* (2015) اکسیدان‌ها می‌توانند نقش دوگانه‌ای را در جوانه‌زنی بذر ایفا کنند. به نظر می‌رسد که غلظت بالای اکسیژن به نفع خواب بذر است و از طرفی اکسیداسیون پروتئین‌های موجود در سیتوزول سلول‌های بذر می‌تواند به نفع شکستن خواب بذر باشد. بر اساس پژوهش‌ها Xiaochuang *et al.* (2018)، انتقال از حالت سکون به حالت متابولیک فعال در طول ظهور جوانه نیاز به مدیریت انتقال از حالت هیپوکسی به حالتی است که در آن سطح اکسیژن داخل سلولی به سطح اکسیژن اتمسفر می‌رسد. در این مسیر هماهنگی شبکه‌های پیام رسان مرتبط با مرکز اکسایش/کاهش سلولی بسیار مهم هستند. Meitha *et al.* (2015) نشان داد که تنظیم انتشار هیپوکسی در جوانه‌های نیمه‌فعال و تغییر حالت به صورت توسعه یافته نیازمند تجمع ROS در بافت‌های آوندی در سلول‌های در حال نمو جوانه انگور است. به صورت کلی، شکل ۴ خلاصه نقش گونه‌های فعال اکسیژن در پاسخ گیاهان به شرایط محیطی و تأثیر آنها بر نحوه تغییرات گیاهان را نشان می‌دهد.

نقش ROS در تنش اکسیدی گیاهان

ROS به عنوان نتیجه متابولیسم طبیعی در موجودات هوازی تولید می‌شود. تولید و تجمع ROS در سلول‌های گیاهی باید کنترل شود زیرا آن‌ها در غلظت‌های بالاتر بسیار واکنش پذیر و سمی هستند. نقش ROS به عنوان اکسیدان‌ها و یا مولکول‌های پیام-

منفی بر ER و در نهایت منجر به پدیده‌ای به نام تنش شبکه آندوپلاسمی شود.

Ozgun *et al.* (2015) رونویسی تعدادی از ژن‌های مرتبط با UPR را در پاسخ به غلظت‌های مختلف ROS در اندامک‌ها را بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها درک ما از پاسخ‌های ER به پیام‌های اکسیدی متعدد از اندامک‌های مختلف گیاهی گسترش می‌دهد. مطالعات آن‌ها نشان داد که مقدار پروتئین Ubiquinol oxidase 1a (AOX1a) نشانه‌ای از شدت تنش اکسیدی است. این پروتئین نقش کلیدی را در تنظیم رابطه‌ی متقابل میان میتوکندری-کلروپلاست و همچنین اندامک‌ها-هسته بر اساس مسیرهای پیام رسانی برگشتی بر عهده دارد. همچنین Vishwakarma *et al.* (2015) نشان دادند که فقدان AOX1a عملکردی، در آراییدوپسیس تأثیر منفی بر فتوسنتز دارد. Serrano *et al.* (۲۰۱۵) نقش اصلی پراکسی‌زوم‌ها در تمایز و تحمل تنش در گیاهان را ارائه دادند. آن‌ها در ادامه توضیح دادند که پراکسی‌زوم‌ها از طریق تولید ROS و شبکه‌های پیام‌رسانی مرتبط با آن، تأثیر زیادی بر فرایندهای اکسایش-کاهش سلولی دارند. تنظیم رویدادهای مرگ سلولی برنامه ریزی شده^۱ (PCD) و مکانیسم‌های مرتبط با آن یکی دیگر از موضوعات مورد مطالعه در زمینه کارکردهای ROS و پاسخ‌های گیاهی وابسته به آن‌ها است. Ortiz-Espín *et al.* (2015) بررسی پتانسیل تیوردوکسین میتوکندریایی^۲ TRXO1 برای کاهش مرگ سلولی برنامه ریزی شده ناشی از ROS را در سلول‌های BY-2 تنباکو انجام دادند. بر این اساس افزایش بیان TRXO1 گیاه تنباکو باعث کاهش نشانه‌های تنش اکسیدی گردید و سطح H₂O₂ و نیتریک اکسید (NO) سلولی را کاهش داد که این موضوع باعث تأخیر در مرگ سلولی در این گیاه گردید. گفته می‌شود که این ویژگی‌ها با افزایش فعالیت کاتالاز^۳ و ظرفیت سلول در حفظ میزان گلوکاتایون سلولی مرتبط است. در این زمینه، پژوهش انجام شده توسط Pu *et al.* (2015)، نشان دهنده اهمیت حیاتی پروتئین‌های حامل الکترون در میتوکندری (مانند AOX)، در کنترل هموستازی سلولی و تنظیم مقدار اکسایش-کاهش سلولی است. در آزمایشی گیاهان آراییدوپسیس جهش یافته با تعداد کم ژن cad1-2 (دخیل در تولید گلوکاتایون)، حساسیت بیشتری نسبت به اثر سمیت کادمیوم نسبت به گیاهان نرمال نشان دادند در حالی

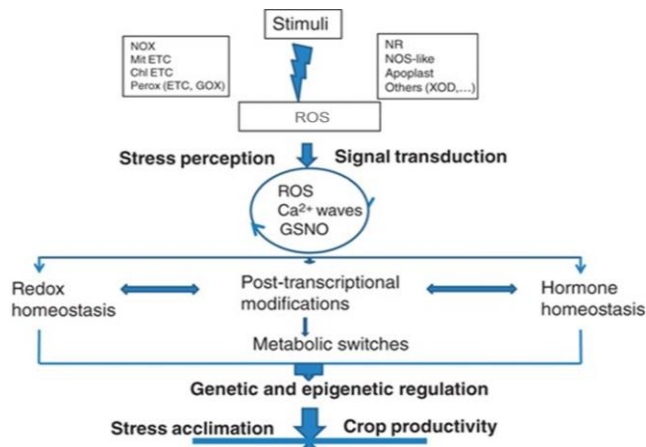
1. Programed Cell Death
2. Mitochondrial thioredoxin
3. Catalase

ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شدند، اکسیداسیون مولکول‌های RNA و DNA، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و تخریب پروتئین‌ها رخ داده و در نهایت مرگ سلولی دیده می‌شود (Petrov *et al.*, 2015). هنگامی که ROS در سلول‌های گیاهی تولید می‌شود، چندین تغییر پس از ترجمه^۴ (PTM) رخ می‌دهد که میزان این تغییرات در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است (Noctor *et al.*, 2018). در میان تغییرهای وابسته به ROS، کربونیل‌شدن، یک تغییر غیرآنزیمی غیرقابل برگشت است که می‌تواند بر ماکرومولکول‌هایی مانند چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها تأثیر گذار باشد و به‌عنوان یک نشانگر تنش اکسیدی^۵ استفاده شود (Friso & van Wijk, 2015).

مقابله گیاهان با تنش اکسیدی

گیاهان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را به منظور کاهش اثرات نامطلوب تنش اکسیدی فعال می‌کنند. با این حال، نقش دفاع آنتی‌اکسیدانی بین گونه، ژنوتیپ، انواع و مدت زمان تنش متفاوت است. علاوه بر این، راه‌کارهای مختلفی برای بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان وجود دارد. آنتی‌اکسیدان‌ها به طور مستقیم یا غیرمستقیم ROS را جمع و یا تولید آن‌ها را مهار می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند توکوفرول‌ها، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آسکوربات^۶ (ASA)، گلوکاتیون احیا شده^۷ (GSH) و همچنین چندین اسید آمینه غیر پروتئینی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه را تشکیل می‌دهند (Hasanuzzaman *et al.*, 2019). به منظور محدود کردن تولید ROS، این ترکیبات در یک رویکرد هماهنگ با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند SOD، CAT، POX، APX، مونودیهیدروآسکوربات ردوکتاز^۸ (MDHAR)، گلوکاتیون پراکسیداز (GPX)، دهیدروآسکوربات^۹ (DHAR)، پراکسی ردوکتاز^{۱۰} (PRX)، گلوکاتیون S-ترانسفراز^{۱۱} (GST)، تیوردوکسین^{۱۲} (TRX) و پلی‌فنل اکسیداز^{۱۳} (PPO) عمل می‌کنند (شکل ۵). در سیستم دفاع گیاهی، واکنش‌های کاتالیزوری در اندام‌های سلولی،

رسان اکسایش-کاهش^۱ وابسته به تعادل میان تشکیل و حذف آن‌ها در اندام‌های مختلف سلولی است.



شکل ۴. تصویر نشان دهنده نقش مرکزی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در مسیرهای انتقال پیام است که موجب تسهیل سازگاری به تنش محیطی در گیاهان می‌شود (Considine *et al.*, 2015).

هنگامی که گیاهان در معرض شرایط استرس قرار می‌گیرند، غلظت بیش از حد ROS می‌تواند منجر به تنش اکسیدی شود. با این حال، در غلظت‌های پایین، آن‌ها به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان با تغییر خواص پروتئین و تشکیل پیوندهای کووالانسی در تنظیم بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی عمل می‌کنند. برای کاهش اثرات سمی ROS، گیاهان راه‌کارهایی را برای حفظ هموستازی با از بین بردن آن‌ها یا تحریک سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدان برای کنترل تولید و تجمع ROS بسته به نیازهای پیام‌رسانی سلولی ایجاد می‌کنند. به این ترتیب، سلول‌های گیاهی سطح متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی از جمله گلوکاتیون، آسکوربات و توکوفرول و شبکه گسترده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند SOD، CAT، APX و گلوکاتیون ردوکتاز^۲ (GR) را افزایش می‌دهند (Mittler *et al.*, 2004). حذف‌کننده‌های ROS^۳ در ابتدا مکانیسم‌های دفاعی در برابر سطوح بالای سمی ROS در نظر گرفته شدند. برعکس، مطالعات اخیر ثابت کرده‌اند که نقش سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی نه تنها برای حفظ هموستازی ROS در سلول‌های گیاهی است بلکه آن‌ها نیز در سیستم پیام‌رسانی وابسته به ROS در طول پاسخ گیاه به استرس‌های محیطی درگیر هستند (Noctor *et al.*, 2018). با این حال، زمانی که ROSها بیش از

4. Post transcriptional modification
5. Oxidative stress biomarker
6. Ascorbate
7. Reduced glutathione
8. Monodehydroascorbate
9. Dehydroascorbate reductase
10. Peroxiredoxins
11. Glutathione S-transferase
12. Thioredoxin
13. Polyphenol oxidase

1. Redox signalling molecules
2. Glutathione reductases
3. ROS scavengers

است که با از بین بردن ROS، عمدتاً رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید، از کلروپلاست محافظت می‌کند (ساعدموچشی و صفری، ۱۴۰۲). گروه دیگری از مولکول‌های غیرآنزیمی به نام کاروتنوئیدها نیز نقش مهمی در حفاظت از پروتئین‌های کمپلکس دریافت کننده نور^۲ و یکپارچگی غشای تیلاکوئید با از بین بردن رادیکال‌های آزاد دارند (Terzi et al., 2014). برخی دیگر از ترکیبات مولکولی مانند فلاونوئیدها، به ویژه فلاوانول‌ها^۳ و حلقه B دی هیدروکسی فلاوون جایگزین شده با فلاوانون‌های^۴، همچنین نقش امیدوار کننده‌ای برای حذف ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپید و آسیب سلولی دارند (Tiong et al., 2013). عوامل تنش‌زای غیرزیستی بیان ژن‌هایی را که در سیستم دفاع آنتی اکسیدان و تولید فلاونوئیدها دخیل هستند، افزایش می‌دهد. یک گروه مهم‌تر از آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی به نام اسیدهای فنلیک هستند که از اسیدهای هیدروکسی بنزوئیک^۵ و هیدروکسی سینامیک^۶ تشکیل شده است که به عنوان کلاته کننده‌ها و حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد، به ویژه هیدروکسیل، سوپراکسید و هیدروپراکساید^۷ (ROOH) عمل می‌کنند. به عنوان حذف کننده‌های رادیکال آزاد، آلکالوئیدها همچنین پراکسید هیدروژن را در سلول‌ها کاهش می‌دهند و موجب اکسیداسیون در گیاهان می‌شوند (Carocho and Ferreira, 2013). اسیدهای آمینه غیرپروتئینی (گاما آمینوبوتیریک اسید^۸، اورنیتین و سیترولین) نیز آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند (Vranova et al., 2011).

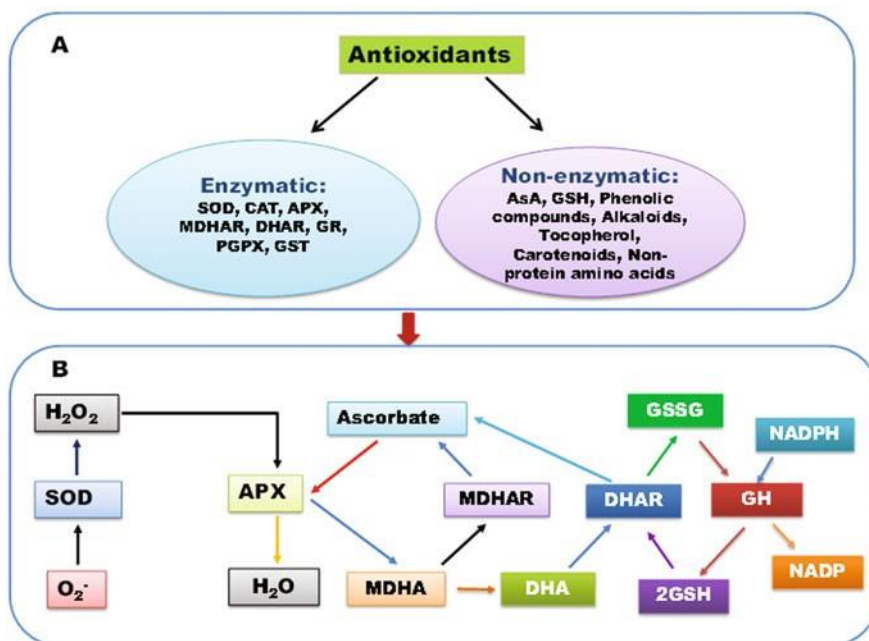
میان آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی رخ می‌دهد. در گیاهان، آنزیم SOD به طور مستقیم نقش مهمی در تحمل به تنش‌ها داشته و با تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن به عنوان اولین خط دفاعی در نظر گرفته می‌شود (Laxa et al., 2019). پراکسید هیدروژن‌های تولید شده توسط آنزیم‌هایی مانند CAT، GPX و APX به آب تبدیل می‌شوند یا می‌توانند در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون احیا شده (AsA-GSH) کاتالیز شوند. چرخه AsA-GSH، همچنین به عنوان چرخه Asada-Halliwell شناخته می‌شود. این چرخه به عنوان سیستم دفاع آنتی اکسیدانی عمده در گیاهان در نظر گرفته می‌شود و نقش مهمی در کاتالیز پراکسید هیدروژن دارد. این چرخه شامل چهار آنزیم آنتی اکسیدانی کلیدی مانند DHAR، MDHAR، APX و GR و همچنین آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی با وزن مولکولی کم مانند AsA و GSH است. در گیاهان، چرخه AsA-GSH با به حداقل رساندن غلظت پراکسید هیدروژن و حفظ هموستازی اکسایش-کاهش در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نقش مهمی ایفا می‌کند. علاوه بر این، سم زدایی پراکسید هیدروژن و زنبوبوتیک‌ها^۱ نیاز به دو آنزیم حیاتی مانند GPX و GST دارد (Hasanuzzaman et al., 2018). در میان آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی، AsA و GSH فراوان‌ترین آنتی اکسیدان‌های محلول در گیاهان عالی هستند (Noctor et al., 2018). این‌ها نقش مهمی را به عنوان دهندگان الکترون بازی می‌کنند و به طور فعال ROS را از طریق چرخه AsA-GSH حذف می‌کنند. علاوه بر این، غلظت ROS سلولی با تعامل بتاکاروتن با رادیکال هیدروکسیل و یون سوپراکسید کاهش می‌یابد (Kapoor et al., 2019).

آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی

در میان آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی، آسکوربات نقش مهمی در حذف مولکول‌های ROS از طریق چرخه AsA-GSH با دادن الکترون ایفا می‌کند (Hasanuzzaman et al., 2019). آسکوربات، آلفا توکوفرول (ویتامین E) را از رادیکال توکوفرول هیدروکسیل با حذف رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید ایجاد و همچنین تعدادی از مسیرهای تولید فیتوکروم را تنظیم می‌کند (Naz et al., 2016). یکی دیگر از آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند GSH نیز مولکول‌های ROS را از بین می‌برد و هموستازی را حفظ می‌کند. از سوی دیگر، توکوفرول عضو مهمی از سیستم دفاع آنتی اکسیدانی

2. Light harvesting complex proteins
3. Flavanols
4. Dihydroxy B-ring substituted flavones and flavano
5. Hydroxybenzoic
6. Hydroxycinnamicacids
7. Hydroperoxide
8. Gamma-aminobutyricacid

1. xenobiotic



شکل ۵. بررسی سیستم دفاع آنتی اکسیدان گیاهی: (الف) انواع آنتی اکسیدانها و (ب) مکانیسمهای ترکیبی آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیرآنزیمی. APX: آسکوربات پراکسیداز، ASA: آسکوربات، CAT: کاتالاز، DHA: دهیدروآسکوربات، DHAR: دهیدروآسکوربات ردوکتاز، GPX: گلوکاتیون پراکسیداز، GR: گلوکاتیون ردوکتاز، GSH: گلوکاتیون احیا شده، GSSG: گلوکاتیون اکسید شده، GST: گلوکاتیون S-ترانسفراز، H₂O₂: پراکسید هیدروژن، MDHA: مونودهیدروآسکوربات، MDHAR: مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز، O₂^{•-}: آنیون سوپراکسید، POX: پراکسیدازها، PRX: پراکسی ردوکسین، R: آلیفاتیک، معطر و یا گروه هتروسیکلیک، ROOH: هیدروپراکسید، SH-: تیولات، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، SOH-: اسید سولفونیک، TRX: تیوردوکسین، X: سولفات، نیتريت یا گروه هاليد (Rai et al., 2022).

آنتی اکسیدان برای از بین بردن مولکولهای ROS است. این آنزیم عمدتاً در غشای تیلاکوئید کلروپلاست قرار دارد و می تواند به طور مستقیم بر فرایند فتوسنتز تاثیر گذار باشد. در واکنش مهار ROS، آنزیم PPO ممکن است با PRX یا چرخه آب-آب تعامل داشته باشد. یکی دیگر از عملکردهای مهم PPO این است که ترکیبات فنلی را با استفاده از اکسیژن موجود به کینون A و آب اکسید می کند (Boeckx et al., 2015). سلولهای گیاهی حاوی آنزیم آنتی اکسیدان دیگری به نام APX: (EC1.11.1.1) وابسته به ASA که در ایزوفرمهای مختلف APX میتوکندریایی (mtAPX)، APX کلروپلاستی (chlAPX) و APX سیتوزولی (cAPX) وجود دارد. APX تنها آنزیمی است که قادر به از بین بردن پراکسید هیدروژن در کلروپلاست گیاهان است زیرا آنزیم CAT در آنجا وجود ندارد و APX پراکسی زوم-گلی اکسی زوم (mAPX) به تولید MDHA از طریق چرخه AsA-GSH در گیاهان کمک می کند (Pandey et al., 2017). در گیاهان، MDHAR: (EC1.6.5.4) تولید شده، یک آنزیم فلاوین آدنین دی نوکلئوتید وابسته به

آنتی اکسیدان های آنزیمی

در میان آنزیمهای، آنزیم SOD: (EC1.15.1.1) که با سه نوع Cu/Zn-SOD، Fe-SOD و Mn-SOD مشخص می شود و خط مقدم سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را هدایت می کند (سهرابی و ساعدموچشی، ۱۴۰۲). این آنزیم رادیکال آزاد سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل و از تولید رادیکال هیدروکسیل جلوگیری می کند (Gill et al., 2015). یکی دیگر از آنزیمهای آنتی اکسیدان مهم CAT: (EC1.11.1.6) است که آنزیمی تترامریک حاوی هم برای سم زدایی ROS در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی است. در تحقیقاتی مشخص شده است که این آنزیم می تواند ۲۶ میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را در یک دقیقه به آب کاتالیز کند. PRX: (EC1.11.1.7) در درجه اول ترکیبات فنلی را برای تولید رادیکال فنوکسیل (PhO•) اکسید می کند، این آنزیم هم چنین به عنوان کینون A (QA) شناخته می شود، که در آن پراکسید هیدروژن الکترون را می گیرد و به آب تبدیل می شود. رادیکال فنوکسیل در غیاب ASA، سوبرین، لیگنین و کینین را تولید می کند، اما در حضور ASA، با آسکوربات واکنش داده و در نتیجه MDHA و در نهایت DHA را به وجود می آورد (شکل ۵ و جدول ۲). PPO: (EC1.14.18.1)، یکی دیگر از آنزیمهای

آنزیمی آنتی اکسیدان شبه POX در سلول‌های گیاهی است که پراکسیدها (پراکسید هیدروژن و ROOH) را در سیتوزول، کلروپلاست‌ها، میتوکندری و هسته خنثی می‌کند. آنزیم‌های PRX وابسته به تیول (GSH یا هر گروه تیول دیگر) هستند و توانایی احیای پراکسیدهای آلی و معدنی متنوع را دارند و همچنین نقش مهمی در تنظیم مولکول‌های ROS دارند (شکل ۵ و جدول ۲) (Liebthal *et al.*, 2018).

پیام‌رسانی گونه‌های فعال اکسیژن گیاهان در پاسخ به تنش

ROS اضافی در پاسخ به تنش‌های مختلف غیرزیستی به عنوان نتیجه اختلال در فعالیت‌های مختلف متابولیک و فیزیولوژیکی تولید می‌شود (Choudhury *et al.*, 2017). در مسیرهای دفاع آنتی اکسیدانی، به عنوان مثال، مسیر AsA-GSH از انرژی به شکل NADPH استفاده می‌کند و هنگامی که این انرژی مصرف می‌شود، این مسیرها قادر به فرار از سمیت ROS نخواهند بود (Choudhury *et al.*, 2017). با این حال، عملکردهای ROS (به ویژه پراکسید هیدروژن) در زیست‌شناسی تنش گیاهی در پایان قرن بیستم و آغاز قرن بیست و یکم مورد توجه قرار گرفت. تعداد کمی از گروه‌های علمی پراکسید هیدروژن را به عنوان مولکول پیام‌رسان شناسایی کردند که باعث ایجاد فرایندهای سازگاری و افزایش تحمل به تنش‌های مختلف محیطی می‌شود. ROS‌هایی که در کلروپلاست و میتوکندری تحت تنش به وجود آمده‌اند ممکن است الکترون‌ها را از اجزای فتوسنتزی و تنفسی منحرف کنند و مانع آسیب‌های ناشی از آن شوند (Asada, 2006). پراکسیداز دیواره سلولی ممکن است به تولید ROS رابطه با پیام‌رسانی کمک کند که در آن پراکسید هیدروژن از مسیرهای کلسیم و پروتئین‌کیناز فعال شده با میتوزن^۷ (MAPK) به عنوان آبشار پیام‌رسانی پایین دست استفاده می‌کند. علاوه بر این، هورمون‌های گیاهی، به ویژه اتیلن (ET) و اسید آبسزیک (ABA)، در پاسخ‌های مختلف به تنش‌های مختلف محیطی از طریق تعامل متقابل با ROS و در نتیجه افزایش تحمل تنش، که نشان‌دهنده نقش دوگانه ROS تحت تنش‌های مختلف است نقش دارند (Saed-Moucheshi *et al.*, 2019).

NADPH^۱ است که به صورت دو ایزوفرم در قسمت‌های متنوع سلولی یافت می‌شود (Hasanuzzaman *et al.*, 2019). این آنزیم (حاوی گروه تیول) با تبدیل MDHA به AsA نقش مهمی در زندگی گیاه ایفا می‌کند. MDHAR به علاوه، به صورت غیرآنزیمی به DHA احیا می‌شود که پس از آن توسط فعالیت DHAR: (EC1.8.5.1) (وابسته به GSH) به AsA باز یافت می‌شود. علاوه بر این، GSH به GSSG اکسید شده و سپس توسط آنزیم GR: (EC1.6.4.2) (وابسته به NADPH) به GSH احیا می‌شود. GR آنزیم مهمی در تنظیم هموستازی واکنش‌های اکسایش-کاهش است (Couto *et al.*, 2016). در گیاهان GPX: (EC1.11.1.9)، آنزیمی آنتی اکسیدان، از خانواده POX بدون آهن با یک گروه تیول بسیار فعال است که پراکسید هیدروژن را از حذف کرده و چربی‌ها و اسیدهای آلی را از طریق GSH و TRX^۲ احیا می‌کند (Bela *et al.*, 2015). آنزیم GST: (EC2.5.1.18)، زئوبیوتیک‌ها (به ویژه علف‌کش‌ها و سایر ترکیبات فعال دارویی) را متابولیزه می‌کند و آن‌ها را به واکنش‌های گیاهی منتقل می‌کند (Christou *et al.*, 2016). آنزیم GST همچنین نقش مهمی در تجزیه پراکسیدها، تولید هورمون و پیام‌رسانی در زمان تنش و همچنین تسریع فعالیت GPX دارد (Nianiou-Obeidat *et al.*, 2017). یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی اکسیدان مهم در گیاهان با نقش مهم در حذف ROSها، TRX: (EC1.8.1.9) است. این آنزیم دارای ایزوفرم‌های مختلف (y, o, h, m, f, z) است و حاوی یک جایگاه اکسایش-کاهش فعال آنزیمی به نام (WCG/PPG) است. این آنزیم پیوندهای دی سولفیدی^۲ را توسط پراکسید هیدروژن به دی تیول^۳ احیا کرده و پروتئین‌های هدف را سریع‌تر از آنزیم GSH یا دی تیوتریتول^۴ تنظیم می‌کند (Calderón *et al.*, 2018). در کلروپلاست گیاهان، دو ایزوفرم آنزیم TRX (TRX_y و TRX_x) با احیای^۲ سیستمین PRX، هموستازی اکسایش-کاهش را تنظیم می‌کنند، در حالی که TRX01، دفاع آنتی اکسیدانی را در میتوکندری با تعامل با PRX و سولفیدوکسین^۵ فعال می‌کند (Sevilla *et al.*, 2015). یکی دیگر از آنزیم‌های PRX مبتنی بر تیول^۶؟ (EC1.11.1.15)،

1. NADPH-dependent flavin adenine dinucleotide enzyme
2. Disulfide bonds
3. Dithiol
4. Dithiothreitol
5. Sulfiredoxin
6. Thiol-based PRX enzyme

جدول ۲. مکانیسم واکنش آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی حذف کننده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS).

Antioxidants	Reactions catalyzed	Catalytic reaction sites
Nonenzymatic		
Ascorbic acid	Scavenges O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , •OH, and 1O ₂	Chloroplast, peroxisomes, cytosol, mitochondria, apoplast
Glutathione	Scavenges H ₂ O ₂ , •OH, and 1O ₂	Chloroplast, peroxisomes, cytosol, mitochondria, apoplast
Tocopherol	Scavenges •OH, 1O ₂ , ROO•, and ROOH	Thylakoid membrane of chloroplast
Carotenoids	Scavenges mainly 1O ₂	Chloroplast
Flavonoids	Scavenges O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , and 1O ₂	Chloroplast, vacuole
Phenolic acids	Scavenges O ₂ [•] , •OH, ROO•, and ONOO	Cell wall
Alkaloids	Scavenges O ₂ ^{•-} , •OH, H ₂ O ₂ , and 1O ₂	Vacuole
Nonprotein amino acids	Scavenges O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , and 1O ₂	Cytosol, mitochondria, cell wall
Enzymatic		
Superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)	2 O ₂ ^{•-} + 2H → O ₂ + H ₂ O ₂	Chloroplast, peroxisomes, cytosol, mitochondria, apoplast
Catalase (CAT; EC 1.11.1.6)	2H ₂ O ₂ → 2H ₂ O + O ₂	Peroxisomes
Peroxidases (POX; EC 1.11.1.7)	2PhOH + H ₂ O ₂ → 2PhO• + 2H ₂ O 2PhO• → cross-linked substances, PhO• + Asc → PhOH + MDHA, PhO• + MDHA → PhOH + DHA	Cell wall, apoplast, vacuole
Polyphenol oxidase (PPO; EC 1.14.18.1)	PhOH + O ₂ → Catechols + O ₂ → Q + H ₂ O	Thylakoid membrane of chloroplast, cytosol, vacuole
Ascorbate peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)	H ₂ O ₂ + AsA → 2H ₂ O + MDHA	Chloroplast, peroxisomes, cytosol, mitochondria, apoplast
Monodehydroascorbate reductase (MDHAR; EC 1.6.5.4)	MDHA + NAD(P)H → AsA + NAD(P) ⁺	Chloroplast, cytosol, mitochondria
Dehydroascorbate reductase (DHAR; EC 1.8.5.1)	2GSH + DHA → GSSG + AsA	Chloroplast, cytosol, mitochondria
Glutathione reductase (GR; EC 1.6.4.2)	GSSG + NADPH + H ⁺ → GSH + NADP ⁺	Chloroplast, cytosol, mitochondria
Glutathione peroxidase (GPX; EC 1.11.1.9)	H ₂ O ₂ + GSH → H ₂ O + GSSG	Cytosol, mitochondria
Glutathione S-transferase (GST; EC 2.5.1.18)	R-X + GSH → GS-R + H-X	Chloroplast, cytosol, mitochondria
Peroxiredoxins (PRX; EC 1.11.1.15)	H ₂ O ₂ + PRX-S- → OH + PRX-SOH + GSH → PRX-SSG + H ₂ O PRX-SSG + GSH → PRX-S- + GSSG	Cytosol, chloroplasts, mitochondria, nucleus, extracellular spaces
Thioredoxin (TRX; EC 1.8.1.9)	TRX-RS ₂ + NADPH + H ⁺ → TRX-R(SH) ₂ + NADP ⁺	Chloroplast, cytosol, mitochondria

محوری در افزایش تحمل استرس غیرزیستی دارد، کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن در حال افزایش است و کارایی آن در مقیاس بزرگ ثابت شده است (Hasanuzzaman *et al.*, 2017). از طرفی، ROS با گونه‌های گوگرد فعال^۱ (RSS)، گونه‌های نیتروژن فعال^۲ (RNS) و گونه‌های کربن فعال^۳ (RCS) تحت شرایط تنش ارتباط برقرار می‌کند و در مسیرهای انتقال پیام همکاری می‌کند (Kaur *et al.*, 2019a). سطوح آنتی اکسیدان

علاوه بر انتقال پیام و ارتباط با هورمون‌ها، ROS می‌تواند در تنش‌های غیرزیستی در انتقال متابولیت‌ها درگیر شود و فرایندهای سازگاری را در واکنش‌های اکسایش-کاهش، رونویسی و ترجمه پروتئین‌ها تنظیم کند و در نهایت از سلول‌های گیاهی در برابر آسیب دفاع کند (Choudhury *et al.*, 2017). علاوه بر این، پراکسید هیدروژن مسیرهای پیام‌رسانی NO و Ca²⁺ که در رشد و نمو، پاسخ‌های سلولی و فیزیولوژیکی تحت تنش‌های غیرزیستی دخالت دارند را مدیریت می‌کند (Janicka *et al.*, 2019). از آنجا که پراکسید هیدروژن درون‌زا نقش

1. Reactive sulfur species
2. Reactive nitrogen species
3. Reactive carbonyl species

رویکرد زیست شناسی مولکولی^۴ برای بیان بیش از حد کاست‌های ژن آنتی اکسیدانی می‌تواند منجر به افزایش تحمل به تنش‌های متعدد در آینده شود.

منابع

ساعدموچشی، آ.، و صفری، ه. (۱۴۰۲). بررسی عناصر تنظیم کننده ژن‌های کدکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم.

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات ۲(۱): ۶۴-۷۳.

سهرابی، ف.، و ساعدموچشی، آ. (۱۴۰۲). بررسی عناصر تنظیم کننده ژن‌های NAD(P)H oxidase در گندم. بیوتکنولوژی

و بیوشیمی غلات: ۲(۳): ۶۷-۸۱.

Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant physiology* 141: 391-396.

Baker, A., & Graham, I. A. (2013). Plant peroxisomes: biochemistry, cell biology and biotechnological applications. Springer Science & Business Media.

Bela, K., Horváth, E., Gallé, Á., Szabados, L., Tari, I., & Csiszár, J. (2015). Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *Journal of Plant Physiology* 176: 192-201.

Biswas, M. S., Fukaki, H., Mori, I. C., Nakahara, K., & Mano, J. i. (2019). Reactive oxygen species and reactive carbonyl species constitute a feed-forward loop in auxin signaling for lateral root formation. *The Plant Journal* 100: 536-548.

Boeckx, T., Winters, A. L., Webb, K. J., & Kingston-Smith, A. H. (2015). Polyphenol oxidase in leaves: is there any significance to the chloroplastic localization? *Journal of experimental botany* 66: 3571-3579.

Calderón, A., Sevilla, F., & Jiménez, A. (2018). Redox protein thioredoxins: function under salinity, drought and extreme temperature conditions. *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*: 123-162.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology* 51: 15-25.

در سلول ممکن است به منظور تولید ROS متفاوت باشد و نقش خاصی در پیام‌رسانی داشته باشد (Hancock and Whiteman, 2016). در مقابل، RSS بر تولید، دریافت و پیام‌رسانی بیشتر ROS و RNS تأثیر گذار است (Kaur et al., 2019b) و این در حالی است که RCS در پایین دست ROS به عنوان واسطه پیام در پاسخ به انواع تنش‌ها عمل می‌کند (Biswas et al., 2019).

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز مطالعات آینده

ROS نقش دوگانه‌ای را در گیاهان ایفا می‌کند که از یک سو محصول جانبی اجتناب‌ناپذیر متابولیسم هوازی است و از سوی دیگر به عنوان نشان‌گر در شرایط تنش عمل می‌کند. آن‌ها نه تنها به عنوان عوامل آسیب در گیاهان عمل می‌کنند، بلکه اجزای مسیر پیام‌رسانی را در شرایط تنش برای جلوگیری از آسیب‌های بیشتر، فعال می‌کنند. سنتز ROS گسترده است و در مکان‌های گوناگونی تولید می‌شود. تولید بیش از حد ROS به تمام مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA آسیب وارد کرده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود. با این حال، تکامل، گیاهان را به طیف وسیع‌تری از اقدامات دفاعی مجهز کرده است که شامل تغییرات در سطوح مورفولوژیکی، متابولیسم و ژنتیکی برای سازگاری با شرایط نامطلوب محیطی است. یکی از این موارد، سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه است. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، برای کاهش اثرات مخرب ROS و ایجاد تحمل در برابر شرایط تنش‌زای محیطی با یکدیگر همکاری می‌کنند. اگرچه پیشرفت‌های قابل توجهی در سال‌های اخیر حاصل شده است، اما هنوز ابهامات و شکاف‌هایی در درک ما از تشکیل ROS و نحوه تأثیر آن‌ها بر گیاهان وجود دارد که به دلیل نیمه عمر کوتاه و ماهیت بسیار واکنش‌پذیر آن‌ها است. تکنیک‌های جدید می‌توانند ما را در پاسخ به بسیاری از سوالات در زمینه تعاملات مختلف ROS با انواع مولکول‌های پیام‌رسان، ژن‌ها و مواردی از این قبیل یاری‌رسانند. پیشرفت‌های آینده در زمینه ژنومیکس^۱، همراه با پروتئومیکس^۲ و متابولومیکس^۳، بینش دقیقی را در مورد شبکه ROS و پاسخ‌های مربوط به آن ارائه می‌دهد. شکی نیست که

- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal* 90: 856-867.
- Christou, A., Antoniou, C., Christodoulou, C., Hapeshi, E., Stavrou, I., Michael, C., Fatta-Kassinou, D., & Fotopoulos, V. (2016). Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Science of the Total Environment* 557: 652-664.
- Cleland, R. E., & Grace, S. C. (1999). Voltammetric detection of superoxide production by photosystem II. *FEBS letters* 457: 348-352.
- Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R., & Tavladoraki, P. (2006). Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in plant science* 11: 80-88.
- Considine, M. J., María Sandalio, L., & Helen Foyer, C. (2015). Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. *Annals of Botany* 116: 469-473.
- Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free radical biology and medicine* 95: 27-42.
- Datta, R., Roy, A., & Paul, S. (2023). Phytohormone signaling in osmotic stress response. In "Plant Hormones in Crop Improvement", Vol. 10, pp. 89-108. Elsevier.
- de Pinto, M. C., Locato, V., Paradiso, A., & De Gara, L. (2015). Role of redox homeostasis in thermo-tolerance under a climate change scenario. *Annals of Botany* 116: 487-496.
- Friso, G., & van Wijk, K. J. (2015). Posttranslational protein modifications in plant metabolism. *Plant physiology* 169: 1469-1487.
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Gill, R., Yadav, S., Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Mishra, P., Sabat, S. C., & Tuteja, N. (2015). Superoxide dismutase-mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. *Environmental science and pollution research* 22: 10375-10394.
- Gross, G. G. (1977). Cell wall-bound malate dehydrogenase from horseradish. *Phytochemistry* 16: 319-321.
- Guo, W., Xing, Y., Luo, X., Li, F., Ren, M., & Liang, Y. (2023). Reactive oxygen species: a crosslink between plant and human eukaryotic cell systems. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 13052.
- Hancock, J. T., & Whiteman, M. (2016). Hydrogen sulfide signaling: interactions with nitric oxide and reactive oxygen species. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1365: 5-14.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Nahar, K., Mohsin, S. M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., Hawrylak-Nowak, B., & Fujita, M. (2019). Silicon-induced antioxidant defense and methylglyoxal detoxification works coordinately in alleviating nickel toxicity in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology* 28: 261-276.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Mahmud, J., Nahar, K., Mohsin, S., Parvin, K., & Fujita, M. (2018). Interaction of sulfur with phytohormones and signaling molecules in conferring abiotic stress tolerance to plants. *Plant signaling & behavior* 13: e1477905.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S. S., Alharby, H. F., Razafindrabe, B. H., & Fujita, M. (2017). Hydrogen peroxide pretreatment mitigates cadmium-induced oxidative stress in *Brassica napus* L.: an intrinsic study on antioxidant defense and glyoxalase systems. *Frontiers in plant science* 8: 115.
- Hashem, H. A., & Khalil, R. (2023). Insight into the Interaction of Strigolactones, Abscisic Acid, and Reactive Oxygen Species Signals. In "Reactive Oxygen Species: Prospects in Plant Metabolism", pp. 179-211. Springer.
- Heyno, E., Mary, V., Schopfer, P., & Krieger-Liszka, A. (2011). Oxygen activation at the plasma membrane: relation between superoxide and hydroxyl radical production by isolated membranes. *Planta* 234: 35-45.
- Janicka, M., Reda, M., Napieraj, N., & Kabała, K. (2019). Plant abiotic stress: Function of nitric oxide and hydrogen peroxide. *Nitric oxide and hydrogen peroxide signaling in higher plants*: 201-219.
- Jeevan Kumar, S., Rajendra Prasad, S., Banerjee, R., & Thammineni, C. (2015). Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. *Annals of botany* 116: 663-668.
- Jozefczak, M., Bohler, S., Schat, H., Horemans, N., Guisez, Y., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2015). Both the concentration and redox state of glutathione and ascorbate influence the sensitivity of arabidopsis to cadmium. *Annals of botany* 116: 601-612.
- Kapoor, D., Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Prasad, R., & Singh, J. (2019). Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene* 19: 100182.
- Kaur, N., Kaur, J., Grewal, S. K., & Singh, I. (2019a). Effect of heat stress on antioxidative defense system and its amelioration by heat acclimation and salicylic acid pre-treatments in three pigeonpea genotypes. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry* 32: 106-110.
- Kaur, P., Handa, N., Verma, V., Bakshi, P., Kalia, R., Sareen, S., Nagpal, A., Vig, A. P., Mir, B. A., & Bhardwaj, R. (2019b). Cross talk among reactive oxygen, nitrogen and sulfur during

- abiotic stress in plants. *Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: production, metabolism, signaling and defense mechanisms*: 857-871.
- Kawaguchi, R., Suriyasak, C., Matsumoto, R., Sawada, Y., Sakai, Y., Hamaoka, N., Sasaki, K., Yamane, K., Kato, Y., & Bailly, C. (2023). Regulation of reactive oxygen species and phytohormones in osmotic stress tolerance during seed germination in indica rice. *Frontiers in Plant Science* 14: 1186960.
- Kim, M. J., Ciani, S., & Schachtman, D. P. (2010). A peroxidase contributes to ROS production during Arabidopsis root response to potassium deficiency. *Molecular plant* 3: 420-427.
- Kwak, J. M., Mori, I. C., Pei, Z.-M., Leonhardt, N., Torres, M. A., Dangl, J. L., Bloom, R. E., Bodde, S., Jones, J. D., & Schroeder, J. I. (2003). NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis. *The EMBO journal* 22: 2623-2633.
- Lane, B. G. (2002). Oxalate, germins, and higher-plant pathogens. *IUBMB life* 53: 67-75.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K.-J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants* 8: 94.
- Liebthal, M., Maynard, D., & Dietz, K.-J. (2018). Peroxiredoxins and redox signaling in plants. *Antioxidants & redox signaling* 28: 609-624.
- Martinez, C., Montillet, J., Bresson, E., Agnel, J., Dai, G., Daniel, J.-F., Geiger, J.-P., & Nicole, M. (1998). Apoplastic peroxidase generates superoxide anions in cells of cotton cotyledons undergoing the hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* race 18. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 1038-1047.
- Meitha, K., Konnerup, D., Colmer, T. D., Considine, J. A., Foyer, C. H., & Considine, M. J. (2015). Spatio-temporal relief from hypoxia and production of reactive oxygen species during bud burst in grapevine (*Vitis vinifera*). *Annals of botany* 116: 703-711.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science* 7: 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science* 9: 490-498.
- Morscher, F., Kranner, I., Arc, E., Bailly, C., & Roach, T. (2015). Glutathione redox state, tocochromanols, fatty acids, antioxidant enzymes and protein carbonylation in sunflower seed embryos associated with after-ripening and ageing. *Annals of Botany* 116: 669-678.
- Naz, H., Akram, N. A., & Ashraf, M. (2016). Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. *Pak J Bot* 48: 877-883.
- Naniou-Obeidat, I., Madesis, P., Kissoudis, C., Voulgari, G., Chronopoulou, E., Tsiftaris, A., & Labrou, N. E. (2017). Plant glutathione transferase-mediated stress tolerance: functions and biotechnological applications. *Plant cell reports* 36: 791-805.
- Noctor, G., De Paepe, R., & Foyer, C. H. (2007). Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. *Trends in plant science* 12: 125-134.
- Noctor, G., Reichheld, J.-P., & Foyer, C. H. (2018). ROS-related redox regulation and signaling in plants. In "Seminar in cell & developmental biology", Vol. 80: pp. 3-12. Elsevier.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., & Foyer, C. H. (2002). Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* 89: 841-850.
- Ortiz-Espín, A., Locato, V., Camejo, D., Schiermeyer, A., De Gara, L., Sevilla, F., & Jiménez, A. (2015). Over-expression of Trx o 1 increases the viability of tobacco BY-2 cells under H₂O₂ treatment. *Annals of Botany* 116: 571-582.
- Ozgun, R., Uzilday, B., Sekmen, A. H., & Turkan, I. (2015). The effects of induced production of reactive oxygen species in organelles on endoplasmic reticulum stress and on the unfolded protein response in Arabidopsis. *Annals of Botany* 116: 541-553.
- Palma, J. M., Sevilla, F., Jiménez, A., del Río, L. A., Corpas, F. J., Alvarez de Morales, P., & Camejo, D. M. (2015). Physiology of pepper fruit and the metabolism of antioxidants: chloroplasts, mitochondria and peroxisomes. *Annals of botany* 116: 627-636.
- Pandey, S., Fartyal, D., Agarwal, A., Shukla, T., James, D., Kaul, T., Negi, Y. K., Arora, S., & Reddy, M. K. (2017). Abiotic stress tolerance in plants: myriad roles of ascorbate peroxidase. *Frontiers in plant science* 8: 581.
- Pell, E. J., & Steffen, K. L. (1991). Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism. In

- "Penn State Symposium in Plant Physiology 1991: Pennsylvania State University". ill.
- Petrov, V., Hille, J., Mueller-Roeber, B., & Gechev, T. S. (2015). ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Frontiers in plant science* 6: 69.
- Pu, X., Lv, X., Tan, T., Fu, F., Qin, G., & Lin, H. (2015). Roles of mitochondrial energy dissipation systems in plant development and acclimation to stress. *Annals of Botany* 116: 583-600.
- Rai, G. K., Mushtaq, M., Bhat, B. A., Kumar, R. R., Singh, M., & Rai, P. K. (2022). Reactive oxygen species: friend or foe. In "Thermotolerance in Crop Plants", pp. 129-162. Springer.
- Rasmusson, A. G., Geisler, D. A., & Møller, I. M. (2008). The multiplicity of dehydrogenases in the electron transport chain of plant mitochondria. *Mitochondrion* 8: 47-60.
- Saed-Moucheshi, A., Razi, H., Dadkhodaie, A., Ghodsi, M., & Dastfal, M. (2019). Association of biochemical traits with grain yield in triticale genotypes under normal irrigation and drought stress conditions. *Australian Journal of Crop Science* 13: 272.
- Serrano, I., Romero-Puertas, M. C., Sandalio, L. M., & Olmedilla, A. (2015). The role of reactive oxygen species and nitric oxide in programmed cell death associated with self-incompatibility. *Journal of experimental botany* 66: 2869-2876.
- Sevilla, F., Jiménez, A., & Lázaro, J. (2015). What do the plant mitochondrial antioxidant and redox systems have to say under salinity, drought, and extreme temperature? *Reactive oxygen species and oxidative damage in plants under stress*: 23-55.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany* 2012: 170-187.
- Sonmez, M. C., Ozgur, R., & Uzilday, B. (2023). Reactive oxygen species: connecting eustress, hormesis, and allostasis in plants. *Plant Stress*: 146-164.
- Terzi, R., Kadioglu, A., Kalaycioglu, E., & Saglam, A. (2014). Hydrogen peroxide pretreatment induces osmotic stress tolerance by influencing osmolyte and abscisic acid levels in maize leaves. *Journal of Plant Interactions* 9: 559-565.
- Tiong, S. H., Looi, C. Y., Hazni, H., Arya, A., Paydar, M., Wong, W. F., Cheah, S.-C., Mustafa, M. R., & Awang, K. (2013). Antidiabetic and antioxidant properties of alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Molecules* 18: 9770-9784.
- Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology* 552: 335-344.
- Vavilala, S. L., Gawde, K. K., Sinha, M., & D'Souza, J. S. (2015). Programmed cell death is induced by hydrogen peroxide but not by excessive ionic stress of sodium chloride in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *European Journal of Phycology* 50: 422-438.
- Vishwakarma, A., Tetali, S. D., Selinski, J., Scheibe, R., & Padmasree, K. (2015). Importance of the alternative oxidase (AOX) pathway in regulating cellular redox and ROS homeostasis to optimize photosynthesis during restriction of the cytochrome oxidase pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of botany* 116: 555-569.
- Vranova, V., Rejsek, K., Skene, K. R., & Formanek, P. (2011). Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. *Plant and Soil* 342: 31-48.
- Xiaochuang, C., Chunquan, Z., Chu, Z., Junhua, Z., Lianfeng, Z., Lianghuan, W., Qingxu, M., & Qianyu, J. (2018). Nitric oxide synthase-mediated early nitric oxide-burst alleviates drought-induced oxidative damage in ammonium supplied-rice roots. *bioRxiv*: 383323.
- Yan, M., Li, M., Ding, Z., Qiao, F., & Jiang, X. (2023). Plant Hormone Signals Mediate Melatonin Synthesis to Enhance Osmotic Stress Tolerance in Watermelon Cells. *Horticulturae* 9: 927.