

植物黄嘌呤脱氢酶参与代谢途径及其功能研究进展

徐江民, 刘之陶, 蒋丹莹, 徐雨青, 陈欣雨, 饶玉春*

浙江师范大学 生命科学学院, 浙江 金华 321004

徐江民, 刘之陶, 蒋丹莹, 徐雨青, 陈欣雨, 饶玉春. 植物黄嘌呤脱氢酶参与代谢途径及其功能研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(10): 3321-3336.

XU Jiangmin, LIU Zhitao, JIANG Danying, XU Yuqing, CHEN Xinyu, RAO Yuchun. Research advances on the metabolic pathways and functions mediated by plant xanthine dehydrogenase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(10): 3321-3336.

摘要: 黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)是一种含钼氧化还原酶, 属于钼羟化酶黄蛋白家族, 广泛存在于真核生物、细菌和古细菌中。XDH可以催化黄嘌呤和次黄嘌呤生成尿酸, 经一系列反应形成尿囊素和尿囊酸。植物中的XDH在嘌呤代谢、氮代谢、激素代谢、活性氧代谢、生物胁迫和非生物胁迫等代谢过程中发挥着重要作用。本文对植物XDH的结构特征、代谢途径、基因家族生物学功能等方面进行了综述, 总结了植物嘌呤代谢的分子机制, 并对XDH应用前景进行了展望, 为作物的生长发育和抗逆性研究提供了参考。

关键词: 植物; 黄嘌呤脱氢酶; 结构特征; 代谢途径; 生物学功能

Research advances on the metabolic pathways and functions mediated by plant xanthine dehydrogenase

XU Jiangmin, LIU Zhitao, JIANG Danying, XU Yuqing, CHEN Xinyu, RAO Yuchun*

College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China

Abstract: The xanthine dehydrogenase (XDH), a molybdenum-containing oxidoreductase belonging to the molybdenum hydroxylase flavoprotein family, has been identified in a variety of eukaryotes, bacteria, and archaea. XDH catalyzes the conversion of xanthine and hypoxanthine to uric acid, which then undergoes further reactions to form allantoin and allantoic acid. Studies have shown that XDH plays a role in various metabolic processes, including purine

资助项目: 浙江省自然科学基金重点项目(LZ23C130003); 浙江师范大学基本科研项目专项(ZZ344205020523011277); 浙江师范大学青年人才科研启动基金(YS304024932)

This work was supported by the Key Program of the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LZ23C130003), the Fundamental Research Special Foundation of Zhejiang Normal University (ZZ344205020523011277), and the Young Talent Research Initiation Foundation of Zhejiang Normal University (YS304024932).

*Corresponding author. E-mail: ryc@zjnu.cn

Received: 2024-03-25; Accepted: 2024-05-06; Published online: 2024-05-07

metabolism, nitrogen metabolism, hormone metabolism, reactive oxygen species metabolism, and responses to biotic and abiotic stresses. Here, we introduced the structural features, metabolic pathways, and biological functions of XDH. In addition, we summarized the research progress in XDH to give insights into the molecular mechanism of purine metabolism in plants and prospected the application of XDH, with the aim to facilitate future research on the growth, development, and stress resistance of crops.

Keywords: plant; xanthine dehydrogenase; structural feature; metabolic pathway; biological function

黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)为黄嘌呤还原酶,是一种胞质缀合酶,也是一类结构保守酶,属于钼羟化酶黄蛋白家族,能够催化杂环化合物(嘌呤、蝶呤和醛)的 sp^2 杂化碳原子的羟基化^[1]。牛奶中的XDH是第一个被发现并研究的黄嘌呤脱氢酶,于1939年被成功提取纯化^[2]。此后,研究人员在许多动物、植物和细菌中都发现了XDH的存在,并进行了提取纯化以及功能研究^[3]。迄今,研究人员在小麦、豆类、玉米、拟南芥、水稻等多种植物中都发现了XDH的存在,并从绿藻、豆类作物根瘤和小麦叶片中分离纯化出XDH^[4-10]。目前,随着基因组测序技术的发展,越来越多的XDH基因被发现并进行了功能分析。截至2016年,GenBank数据库中已有104 303个XDH基因序列,其中细菌XDH占绝大多数,有93.25%,而在绿色植物中仅有2%^[11-12]。XDH在植物嘌呤代谢过程中起着重要作用,它能将次黄嘌呤(hypoxanthine)氧化为黄嘌呤(xanthine),再将黄嘌呤氧化为尿酸(uric acid),是嘌呤代谢途径的关键限速酶。本文综述了植物XDH的生物合成、参与代谢途径以及在植物生长发育调控中的作用,以为研究植物嘌呤代谢的机制奠定理论基础,并为XDH的未来研究与应用提供重要参考。

1 植物中XDH的结构特征

植物中的XDH结构特征与动物中的黄嘌呤

氧化酶(xanthine oxidase, XO)结构相似,是含有2个相同亚基的同型二聚体结构,每个单体在催化反应过程中独立发挥作用,其分子量约为300 kDa^[13]。每个亚基由3个氧化还原中心结构域组成(图1A),分别包含2个不同的铁硫簇([2Fe-2S])、黄素腺嘌呤二核苷酸辅因子(flavin adenine dinucleotide, FAD)和钼辅因子(molybdenum cofactor, Moco),这些结构几乎呈线性的顺序排列^[14-15]。通过晶体结构分析发现,[2Fe-2S]介于Moco和FAD之间(图1B)^[14]。当有电子受体存在时,以钼蛋白辅因子为底物,[2Fe-2S]中心为受体和电子载体结合部位,XDH可迅速催化黄嘌呤转化为尿酸,而在有氧条件下则会停止该催化功能^[16]。在上述3个结构域中,[2Fe-2S]结构域是最保守的结构域,其次是Moco结构域,最后是FAD结构域;通过对9个代表性XDH序列进行比对发现:[2Fe-2S]结构域的相似性在32.2%–70.1%之间,一致性在22.4%–56.9%之间;Moco结构域分别在34.7%–47.6%和20.6%–47.6%之间;而FAD结构域仅在21.7%–41.3%和9.9%–41.3%之间^[11]。

2 植物中XDH的合成途径

XDH的生物合成是一个多步骤过程,需要合成聚体脱辅基蛋白,并将氧化还原中心有序结合到脱辅基蛋白中,此过程包括硫化Moco的生物合成和活性XDH的生物合成^[17]。硫化Moco

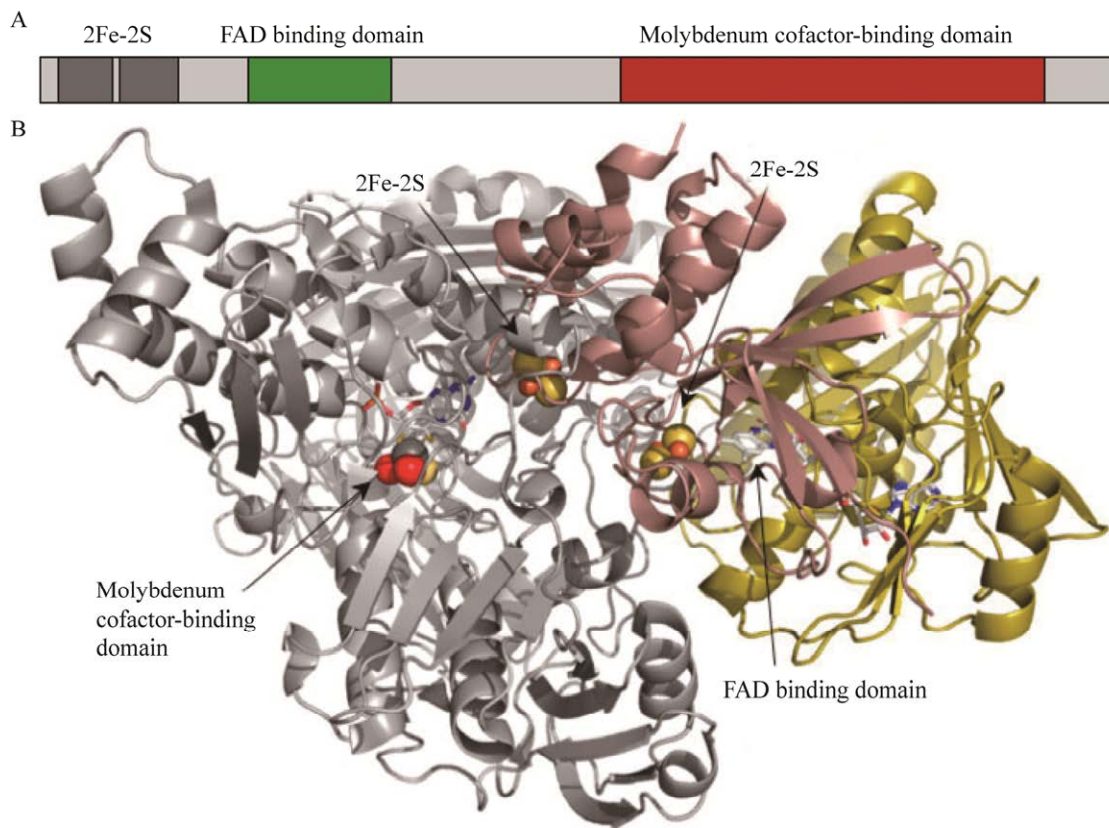


图 1 XDH 的结构特征^[13] A: XDH 的结构示意图. B: XDH 的三维结构模型

Figure 1 The structural characteristics of XDH^[13]. A: Structural diagram of XDH. B: Three-dimensional structural model of XDH.

的生物合成首先是将钼(molybdenum, Mo)通过钼插入酶 Cnx1 插入到钼蝶呤或含金属的蝶呤(molybdopterin or metal-containing pterin, MPT)中形成 Moco (图 2A), 之后伴侣蛋白 XdhC 结合等量的 Moco, 与 Moco 硫化酶 ABA3 相互作用以硫化 Moco, 同时保护硫化 Moco 免遭氧化, 并进一步将其转移至 XDH 中^[11,18-20]。其中, ABA3 基因的突变会导致植物出现脱落酸(abscisic acid, ABA)缺乏的多效性表型, 如种子休眠减少和水分损失过多, 导致叶片枯萎^[21]。研究还发现, ABA3 在胁迫反应过程中对促进花青素和尿囊素积累发挥着关键的作用^[22], 说明该基因在植物的生长发育和胁迫响应中具有重要的功能。活性 XDH 的生物合成需要经过以下反应

过程(图 2B): (1) 合成由 3 个结构域组成的脱辅基蛋白(S、M 和 L), 在异多聚体多亚基的 XDH 构型下形成异多聚体脱辅基蛋白; (2) 将 2 个[2Fe-2S]簇插入到 S 结构域中; (3) 将 1 个 FAD 分别插入到 M 结构域中; (4) 通过 L 结构域将[2Fe-2S]和 FAD 辅因子组装的脱辅基蛋白二聚化, 形成同型二聚体; (5) 在伴侣蛋白 XdhC 的帮助下将硫化 Moco 插入到 L 结构域中^[11]。三个氧化还原中心的完整性是拥有催化活性的先决条件, 其中硫化 Moco 的有效合成和插入是产生活性 XDH 的关键步骤, 其发生在与[2Fe-2S]和 FAD 辅因子组装的脱辅基蛋白二聚化形成之后、Moco 插入之前。在动物中, 活性 XDH 的生物合成途径十分清楚, 而在植物中关于 XDH

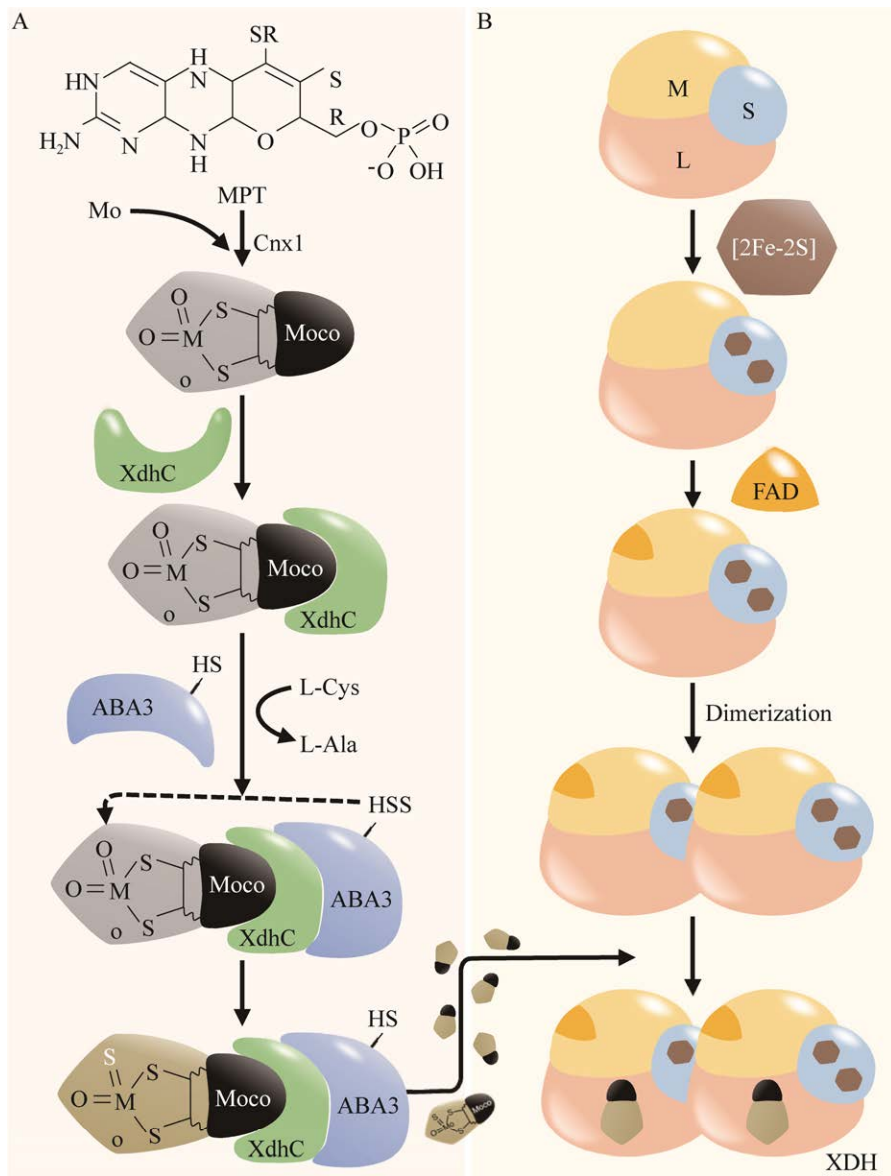


图2 植物中XDH的合成途径^[11] A: 硫化Moco的生物合成. B: 活性XDH的生物合成

Figure 2 XDH biosynthesis pathway in plants^[11]. A: Biosynthesis of sulfurated molybdenum cofactor. B: Biosynthesis of active XDH.

生物合成途径关键组分的研究却较少。因此,对植物XDH合成代谢的研究仍面临许多挑战。

3 植物中XDH的调控代谢途径

目前普遍认为植物中XDH的调控代谢通路主要在细胞质中完成,参与嘌呤核苷酸代谢途径,且在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中研

究得较为清晰。与大多数动物不同,植物能够进行全核苷酸分解代谢,XDH是其代谢途径中的关键酶,能够促进生物体内核苷酸的代谢与降解,并在植物中催化黄嘌呤和次黄嘌呤生成尿酸,最后释放环氮用于重新酰化为氨基酸^[22-24]。以拟南芥为例,其嘌呤代谢起始于细胞质中的腺苷(adenosine, AMP)和质体

中的次黄嘌呤核苷酸(inosine, IMP)、次黄嘌呤核苷(图 3A); 质体中次黄嘌呤核苷经质体核苷转运蛋白(plastid nucleoside transporter, NT)运至细胞质后, 经核苷水解酶 1/2 (nucleoside hydrolase, NSH1/NSH2)催化形成次黄嘌呤, 再经 XDH 催化成为黄嘌呤; 细胞质中的腺苷经腺苷激酶(adenosine kinase, ADK)的磷酸化修饰和腺苷脱氨酶(AMP deaminase, AMPD)的脱氨作用后转变为次黄嘌呤核苷酸, 与从质体中转运出的次黄嘌呤核苷酸一起被 IMP 脱氢酶(IMP dehydrogenase, IMPDH)催化成为黄苷酸(xanthosine monophosphate, XMP); 一部分黄苷酸在细胞质中经过一系列生化反应转变为鸟嘌呤(guanosine), 另外一部分经过 XMP 磷酸酶(XMP phosphatase, XMPP)以及 NSH1/NSH2 催化形成黄嘌呤; 黄嘌呤被 XDH 结合催化之后生成尿酸, 尿酸再经尿酸氧化酶(urate oxidase, UOX)的催化反应, 最终生成酰胺类物质(ureides), 进入胞内其他循环或运出细胞^[25-28]。此外, 在拟南芥防御反应中, *XDH1* 基因对活性氧(reactive oxygen species, ROS)的代谢起着双重作用(图 3B)。在没有病原菌侵染时, 叶肉细胞中的 *XDH1* 可以产生尿酸来清除 ROS 并保护叶绿体免受氧化损伤; 而当真菌(如白粉病菌)侵袭时, 拟南芥表皮细胞中 *XDH1* 在催化黄嘌呤转化为尿酸的同时, 催化生成大量超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)等超氧化物, 导致 ROS 暴发, 限制真菌吸器对植株的侵害^[29-30]。

4 植物 XDH 基因家族功能的研究进展

XDH 是调控嘌呤代谢的关键酶, 近年来, 研究人员已对拟南芥、菜豆和水稻等多种植物 XDH 的鉴定、克隆和功能进行了研究, 其调控机理涉

及活性氧代谢、氮代谢、激素代谢、衰老进程和生物/非生物胁迫等多项生物学反应(图 4)。

4.1 植物 XDH 在氮代谢中的作用

在逆境胁迫下, 植物通常加快体内物质的循环利用以增强对环境的适应能力。嘌呤代谢作为氮代谢的重要组成部分, 经 XDH 催化后会生成尿囊素、尿囊酸等酰胺类物质。酰胺类物质具有较高的氮/碳比, 易于在植物体内转运, 是植物体内储存和转运氮的主要形式。这类低耗型氮/碳比的化合物对帮助植物在逆境胁迫下生存具有重要意义^[10]。

嘌呤分解代谢在植物氮代谢中的核心作用主要体现在豆类中的固氮作用。豆科植物根瘤的共生固氮作用能将固定的 N 元素掺入嘌呤核苷酸中转化为酰胺, 并作为其主要的氮素运输形式^[31]。XDH 因为其反应产物尿酸是酰胺的前体, 在初级氮代谢中起着关键作用。在根瘤中, 从头合成得到的酰胺类物质能输出到达地上组织, 并经充分的代谢作用, 为植物发育提供稳定的氮源^[28]。Fujihara 等^[32]发现, 植物衰老和种子发芽时会积累大量尿酸, 大豆根瘤固氮也主要是以酰胺类物质的形式运输到植株各个部位。而在菜豆中, Coletto 等^[33]也发现 XDH 在根瘤中的活性会受到一氧化氮的抑制, 但在一定程度上又被其自身反应产生的高水平尿酸所保护。热带豆科植物以酰胺类化合物(尿囊素和尿囊酸盐)的形式将固定氮从根瘤长距离输送到地上部, Voß 等^[34]通过对菜豆中 *XMPP*、*GSDA*、*NSH1*、*NSH2* 和 *XDH* 的 CRISPR 敲除突变体进行代谢分析, 证明根瘤嘌呤的生物合成涉及这些酶的参与。在大豆中, 通过 CRISPR/Cas9 分别编辑 *GmUOX* 和 *GmXDH* 后, 敲除大豆突变体都表现出缺氮失绿、根瘤早期衰老和固氮酶活性降低等症状, 说明这 2 个基因在氮代谢过程中具有重要的作用^[35]。

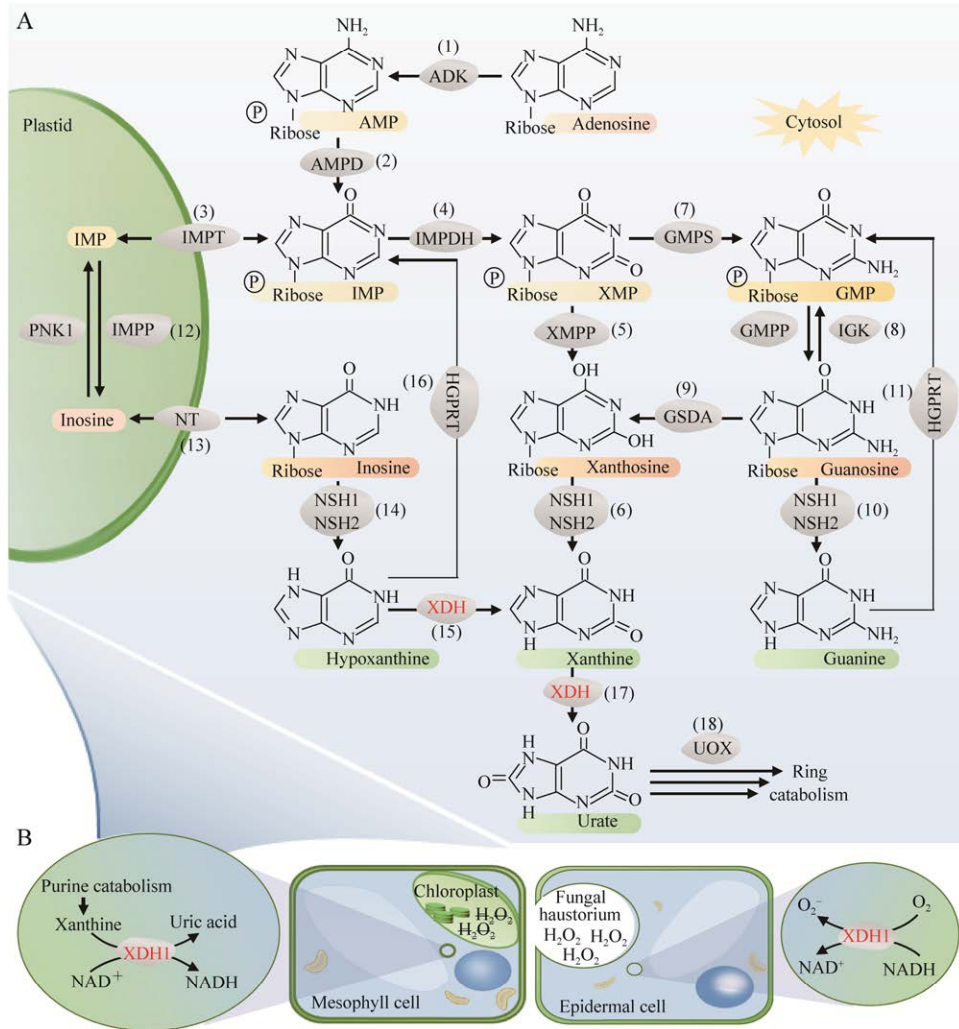


图 3 拟南芥中 XDH 参与代谢通路模式图^[25-28]

A: 拟南芥中 XDH 参与的代谢途径. (1) ADK: 腺苷激酶; (2) AMPD: 磷酸腺苷酸脱氨酶; (3) IMPT: 假定的质体次黄嘌呤核苷酸转运蛋白; (4) IMPDH: 次黄嘌呤核苷酸脱氢酶; (5) XMPP: 黄苷酸磷酸酶; (6, 10, 14) NSH1/NSH2: 核苷水解酶 1/核苷水解酶 2; (7) GMPS: 磷酸鸟苷酸合成酶; (8) IGK: 肌苷鸟苷激酶; GMPP: 磷酸鸟苷酸磷酸酶; (9) GSDA: 鸟苷脱氨酶; (11, 16) HGPRT: 次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶; (12) IMPP: 假定的质体次黄嘌呤核苷酸磷酸酶; PNK1: 质体核苷激酶 1; (13) NT: 假定的质体核苷转运蛋白; (15, 17) XDH: 黄嘌呤脱氢酶; (18) UOX: 尿酸氧化酶. **B:** 拟南芥中 XDH1 在叶肉细胞和表皮细胞中相反作用的工作模型

Figure 3 The pathway pattern of *Arabidopsis thaliana* XDH involvement in metabolic pathways^[25-28]. **A:** The metabolic pathways involved in XDH in *A. thaliana*. (1) ADK: Adenosine kinase; (2) AMPD: AMP deaminase; (3) IMPT: Putative plastid IMP transporter; (4) IMPDH: IMP dehydrogenase; (5) XMPP: XMP phosphatase; (6, 10, 14) NSH1/NSH2: Nucleoside hydrolase 1/2; (7) GMPS: GMP synthetase; (8) IGK: Inosine guanosine kinase; GMPP: GMP phosphatase; (9) GSDA: Guanosine deaminase; (11, 16) HGPRT: Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase; (12) IMPP: Putative plastid IMP phosphatase; PNK1: Plastid nucleoside kinase 1; (13) NT: Putative plastid nucleoside transporter; (15, 17) XDH: Xanthine dehydrogenase; (18) UOX: Urate oxidase (uricase). **B:** A working model for the opposing roles of XDH1 in epidermal and mesophyll cells.

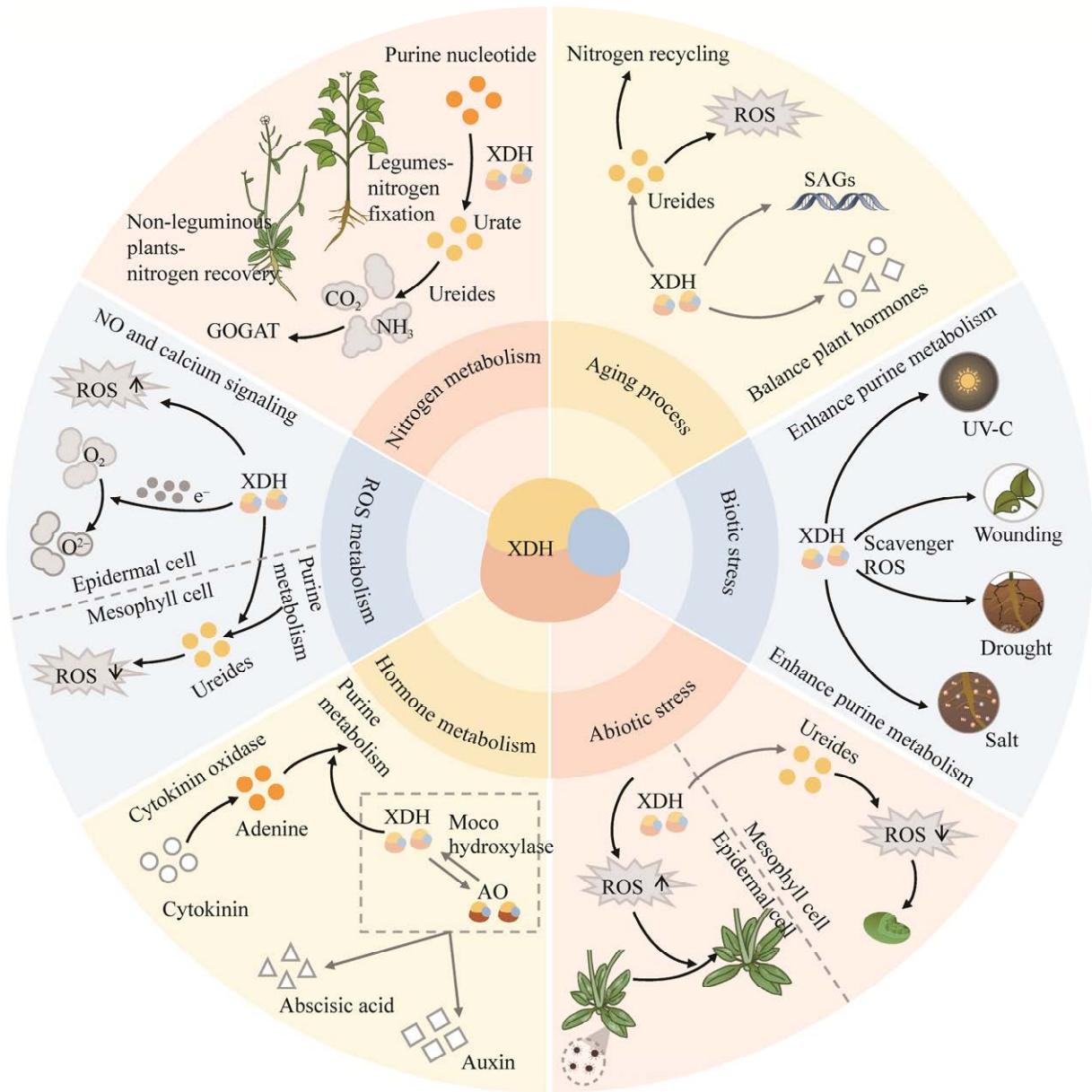


图 4 XDH 参与的植物生物学反应

Figure 4 XDH protein are involved in many aspects of plant biology.

而在非豆类植物中，嘌呤代谢物作为植物生长中的持续氮源和氮素再利用的重要内源通道，黄嘌呤被其转化为活性分解代谢物，有效地完成了氮再活化，保证了植物的正常生长^[36]。研究表明，当不存在氨或硝酸盐时，衣藻能够通过有活性的 XDH 酶来利用黄嘌呤和次黄嘌呤作为额外的氮源^[37-38]。Brychkova 等^[39]发现，

酰脲具有氮的有效储存库和细胞保护剂的双重功能；在暗胁迫下，拟南芥野生型植株叶片中酰脲类物质含量上升，而 XDH1 基因干扰株系中则没有酰脲类物质的积累，且叶片严重受损，这证明长期黑暗条件诱导的胁迫改变了 XDH 上下游嘌呤分解代谢相关基因的转录水平。同时 XDH1 的缺失不仅使植物的嘌呤分解代谢受

到损害,而且也会加快叶绿素、可溶性蛋白的降解和细胞死亡的速度。此外, Yi 等^[40]在大白菜缺氮生长条件下,观察到其子叶中嘌呤分解代谢相关基因的表达被诱导,与在正常培养基上生长的幼苗相比,在生长培养基中添加别嘌呤醇(一种黄嘌呤脱氢酶抑制剂)生长的幼苗表现出子叶叶绿素降解减少和鲜重降低的表型,表明在缺氮条件下,黄嘌呤可能在子叶的嘌呤分解代谢和叶绿素降解中起激活剂的作用。在同样的缺氮条件下,水稻中编码脲渗透酶(ureide permease, UPS1)的基因 *OsUPS1* 过表达可以通过增强黄嘌呤衍生的分解代谢产物尿囊素向植物组织中转运来改善植物生长,说明当氮受到限制时,植物可以利用尿囊素来支持其正常生长^[41]。

4.2 植物 XDH 在 ROS 代谢中的作用

植物在正常生长过程中可以依靠自身的 ROS 消除系统(酶系统和还原性物质)将代谢产生的自由基转化成 H_2O_2 或 O_2 , 维持植物体内自由基的“产生”和“消除”的平衡^[42-43]。但当受到严重胁迫时,植物体内自由基含量增加,ROS 消除系统活性下降,高浓度的 ROS 积累则会扰乱植物细胞内氧化还原稳态,对脂质、蛋白质和核酸等大分子造成不可逆的氧化损害,进而导致植物细胞死亡^[43-44]。在正常和胁迫条件下,植物 XDH 对植物的氧化还原反应有显著贡献,贡献率在 30%–60%之间,主要是将电子从黄嘌呤通过 Moco 催化中心转移到 O_2 上,或是经由 FAD 结构域从 NADH 转移到 O_2 上来增加超氧化物的产生^[24,39,45-46]。

XDH 对植物防御反应中的 ROS 代谢有两条相反的调控路径,其存在一定的空间特异性。一方面, XDH 可以通过 NO 和钙信号等途径增加植物体内的 ROS 含量。同时, XDH 也是产生 ROS 的原料之一,可利用氧分子作为电子受体,电子经过传递最终产生超氧阴离子^[29-30]。研究表

明,拟南芥突变体 *AtXDH1* 仅编码黄嘌呤脱氢酶(XDH),而不能经半胱氨酸残基的氧化转换成黄嘌呤氧化酶(XO),在 NADH 氧化酶存在的条件下,突变体中的 XDH 能够进行催化反应,显著增加超氧阴离子等 ROS 成分的含量^[8]。此外,在菜豆中也发现了 PvXDH 蛋白能够在体外以次黄嘌呤或 NADH 为底物、 O_2 为唯一电子受体产生 O_2^{2-} ^[33];这表明除了参与嘌呤分解代谢外, XDH 还可能参与响应各种需要 ROS 调控的胁迫过程。

另一方面,不少研究指出嘌呤代谢的下游产物,即酰胺类物质,是一种有效的 ROS 清除剂^[39,47-48]。植物通过增加尿囊素和尿囊酸含量,有效抵偿 ROS 伤害并减少幼苗死亡^[49]。Brychkova 等^[39]研究证实,植物通过 ROS 积累将加快启动叶绿素降解途径,而酰胺类物质则起到了保护叶绿素不被降解、使叶片免受 ROS 伤害的功效。Ma 等^[30]在拟南芥防御应答反应的研究中发现,植物表皮细胞中的 XDH 有助于 ROS 的产生,而叶肉细胞中的 XDH 则可催化生成酰胺类物质,有效清除过量的 ROS,减少叶绿体的氧化损伤。本课题组前期研究发现,在水稻中, XDH 缺失突变体 *es11* 中由于尿囊素和尿囊酸的积累导致 ROS 的过量积累,进而影响了植株的光合作用能力和叶绿体的发育^[47]。

4.3 植物 XDH 在激素代谢中的作用

XDH 对于调控植物激素的动态平衡有着重要作用,其不仅参与细胞分裂素(cytokinin, CTK)的代谢产物氧化分解过程^[31,50-52],还可能通过自身活性变化或代谢产物来调控脱落酸(abscisic acid, ABA)与生长素(auxin, IAA)的合成及响应的信号通路^[47,53-54]。

研究发现,在细胞分裂素氧化酶(cytokinin oxidase)的催化下, CTK 能生成代谢产物腺嘌呤及其衍生物,经 XDH 的催化参与到嘌呤代谢中^[31,49-50]。与此同时, XDH 还影响着植物

激素稳态并由此调控‘哈斯’鳄梨的果实大小发育^[54]。另外，与 XDH 同属钼辅因子羟化酶的醛缩酶(aldehyde oxidase, AO)是催化 ABA 合成的关键酶，两者在氨基酸序列上具有很高的相似性，并且 ABA 的生物合成过程中也需要 MoCo^[18,55]。研究认为，XDH 可能同样通过 Moco 库大小的变化和“硫化-去硫化”形式的转换，参与调控 ABA 和 IAA 的间接合成^[54]。还有研究表明，ABA 能够介导 XDH 的诱导合成。Hesberg 等^[8]利用 Moco 硫解酶基因 *aba3* 突变的拟南芥植株，将突变体暴露于相同的干旱胁迫下，发现不论是否经过 ABA 预处理，突变体由于丧失了通过硫化激活 XDH 和 AO 的能力，都无法响应胁迫；但在仅 ABA 处理的野生型植株叶片中，XDH 活性略有增加；这表明 XDH 的表达和活性是直接受到 ABA 的调控，而并非干旱胁迫本身。本研究团队^[47]在前期鉴定到的 XDH 失活突变体 *es11* 中发现，*ESL1* 的突变会影响 ABA 代谢相关基因的 mRNA 表达水平，进而改变了内源 ABA 的含量，导致 *es11* 突变体对 ABA 的敏感度显著上升。

另外，XDH 的代谢产物尿囊素也被认为能够激活 ABA 信号途径。Takagi 等^[56]研究发现，尿囊素能够激活敲除尿囊素酶基因的拟南芥突变体 *aln* 的 ABA 合成，从而刺激胁迫相关基因的表达，增强幼苗对非生物胁迫的耐受性。此外，在植物体内，ABA 途径与茉莉酸(jasmonic acid, JA)途径关系密切，在多种逆境胁迫下往往需要 2 条信号途径发挥协同作用来抵御逆境^[57]。Takagi 等^[56]发现，尿囊素可以通过产生 ABA 激活 MYC2 调控的 JA 信号通路。另有研究也同样表明，高水平的尿囊素能够激活诱导 ABA 和 JA 途径^[22]。

4.4 植物 XDH 在衰老进程中的作用

植物在受到衰老胁迫时，XDH 会催化尿囊

素和尿囊酸等酰胺类物质的产生，加快植物体内资源的循环利用来增强环境适应力。拟南芥中含有 2 个 XDH 基因，其中 *AtXDH1* 的表达受发育和各类胁迫条件的调控，*AtXDH2* 则处于组成型低表达水平^[8]。Nakagawa 等^[58]研究发现，拟南芥 *AtXDH1/AtXDH2* 的 RNAi 沉默将导致植株产生生长迟缓、育性缺陷和早衰等表型，而通过补充外源尿酸或其分解代谢产物能有效缓解上述缺陷表型，这充分表明了酰胺类物质等嘌呤分解代谢物对植物发育来说是必需的。Brychkova 等^[39]也通过 T-DNA 插入和构建 RNAi 干扰株系，对获得的 XDH 表达量较低的株系进行暗处理诱导衰老，发现酰胺类物质确实具有延缓叶片衰老的作用。后续研究发现，*Atxdh1* 的老叶中缺乏再活化的嘌呤来降解氮，导致出现早衰症状，这是低硝酸盐植物老叶中叶绿体蛋白降解较多的结果^[59]。此外也有研究表明，水稻 *OsXDH* 过表达株系中积累了大量的尿囊素和尿囊酸，促进了氮素的转运和积累，进而可以延缓水稻的衰老进程^[60]。在 *OsXDH* 的突变体 *es11* 中，其尿囊素和尿囊酸含量均显著低于野生型，导致突变体可能无法产生足够的嘌呤代谢产物，进而导致了植株产生叶片早衰的表型^[47]。

XDH 还参与水稻叶片活性氧代谢的调控，通过改变 XDH 活性可以调控尿素相关物质的合成，积累尿囊素和尿囊酸，减少自由基对蛋白质、膜脂质以及 DNA 的损伤，从而提高植株抗氧化能力，有效延缓水稻叶片衰老进程^[30]。Han 等^[60]发现，在水稻成熟期，*OsXDH* 干扰株系的 O_2^{2-} 、 H_2O_2 和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量显著高于野生型，而过表达株系的相关指标水平则较低。此外，Brychkova 等^[39]也发现，通过在叶面施加尿囊素，可以降低拟南芥叶片中 O_2^{2-} 和 H_2O_2 的含量，促进叶绿素生成，缓解衰老胁迫。

XDH 活性的变化还影响衰老相关基因 (senescence-associated genes, SAGs) 的表达, 从而间接地调控水稻的衰老进程。Han 等^[60]发现, *ACD1*、*OsWRKY23* 和 *XERO1* 等与调控衰老进程相关基因的表达量, 在 *OsXDH* 干扰株系的衰老胁迫后期大幅度增加, 与野生型和过表达株系相比差异显著; 最终与野生型相比, 干扰株系的衰老加快, 而过表达株系的衰老进程减缓。Brychkova 等^[39]在拟南芥的研究中也同样发现, *AtXDH1* 会下调与植株衰老和叶绿素降解相关基因的表达, 再次证明了 XDH 的活性在延缓植物的早衰症状中起着重要作用。

4.5 植物 XDH 在非生物胁迫中的作用

虽然 XDH 在许多生物体中被认为是一种“内务酶(housekeeping enzyme)”, 但它通过调节激素水平和在自身代谢产物的作用下, 也广泛参与了植物对外界多种非生物胁迫的响应。例如在拟南芥中, 干旱、低温、盐碱和黑暗延长等诸多逆境条件都会诱导 *AtXDH1* 的表达^[8,39,45,61]。此外, 拟南芥中的 XDH1 敲除突变体 *Atxdh1* 对创伤或 UV-C 胁迫更敏感, 还发现经 UV-C 处理后尿囊素水平在幼叶中最高, 而在创伤植物中, 尿囊素水平在这些幼叶中含量最低, 且主要是在受伤的中间叶中积累^[62]。

植物激素是植物对抗外界逆境环境的重要调节因子。如 ABA 等植物激素能在逆境胁迫下, 通过对逆境信号的转导, 启动植物体内的应激反应, 参与调控植物的代谢水平, 从而缓解逆境胁迫对植物的伤害, 提高植物的抗逆性^[63]。Hesberg 等^[8]发现, 在拟南芥中上调 *AtXDH1* 的表达, 可增强其酶活性以调节 ABA 的表达, 响应干旱胁迫。而通过对拟南芥尿囊素降解缺陷突变体的研究也发现, 突变体表现出了更高水平的干旱和渗透耐受性, 这种耐受性的增强很可能是由于尿囊素的积累能够激活 ABA 合成机

制, 从而发挥出对逆境胁迫的调节作用^[61]。You 等^[64]合成了来自葡萄的 *XDH* 基因, 并在拟南芥中过表达, 后续研究表明, *VvXDH* 通过增加尿囊素的积累和激活 ABA 信号通路, 增强了转基因拟南芥对 ROS 的清除, 在盐胁迫响应中发挥重要作用。在水稻中, MoCo 相关基因 *OsCNX6* 的过表达可以显著增强 MoCo 依赖性酶的活性, 通过调节 ABA 生物合成来增强植株对渗透和盐胁迫的耐受性^[65]。

还有研究发现, 植物中 XDH 催化的中间产物尿囊素会通过 ROS 代谢或增强氮素转运来参与逆境调控^[30,36,66]。酰胺类物质作为 XDH 催化产生的中间代谢产物, 是植物体内氮素转运的主要形式之一, 有助于减少植物体内物质运输过程中碳水化合物等的能量消耗, 帮助植株对抗非生物因素下的逆境胁迫^[67]。韩瑞才等^[68]研究发现, 在 *OsXDH* 超表达转基因水稻株系中, XDH 酶活性及尿囊素、尿囊酸的含量在受高温胁迫后均明显提高, H_2O_2 及 MDA 的含量则显著低于野生型。与嘌呤代谢的下游产物能有效清除活性氧的功能共同证实了 XDH 通过调控酰胺类物质的合成, 来补偿自身的抗氧化能力并提高抗氧化酶系统的活性, 从而增强水稻苗期耐受高温胁迫的能力。研究人员还发现, XDH 干扰株系由于缺失嘌呤代谢产物, 对暗胁迫的敏感性增强, 而通过喷施外源尿囊素能提高水稻幼苗对暗胁迫的耐受性; 由此推测在暗胁迫处理时, 水稻可调控自身 XDH 酶活性来增加嘌呤代谢产物如酰胺类物质等的积累, 以此清除体内活性氧, 减轻暗胁迫带来的损伤^[39,69]。近期有研究表明, 尿囊素能通过协同激活 ABA 和油菜素内酯的生物合成来提高拟南芥和水稻的耐盐性^[70]。而通过对水稻施加外源尿囊素的转录组和代谢组进行分析, 还发现外源尿囊素通过增加具有抗氧化活性的内源性尿囊素含量、增加

ROS 清除能力以及维持钠和钾稳态,提高了水稻耐盐性^[71]。在茶树中,有研究发现 *CsXDH1* 表达量与光强相关,其可能通过 XDH 增强嘌呤代谢以适应强光胁迫^[72]。此外, Watanabe 等^[61]利用拟南芥 *XDH* 基因干扰株系进行研究,证实了酰胺类物质在抗干旱胁迫过程中起着重要作用。在小麦中,尿囊素还可以显著调节植株对铬的吸收和分布,降低金属铬对植物毒性作用的程度^[73]。以上研究表明,酰胺类物质包括尿囊素和尿囊酸在植物的非生物胁迫响应中发挥着积极的作用,这为植物抗逆境胁迫提供了新的见解和应用思路。

4.6 植物 XDH 在生物胁迫中的作用

XDH 还通过调节细胞内 ROS 水平,参与植物与病原菌的互作,在超敏反应中发挥作用^[74]。在拟南芥防御反应的研究中发现,在感染白粉病真菌后,植株叶片会局部上调嘌呤分解代谢的水平;在拟南芥 XDH 的突变体 *xdh1* 中,由于 XDH 活性降低,接种白粉病真菌后表现出感病症状,而正常植株在表皮细胞中的 XDH1 帮助下产生 ROS,能够限制真菌的感染面积^[29-30]。

因此, XDH1 的活性对于植物抵御白粉菌的侵染十分重要^[29-30]。

5 总结和展望

黄嘌呤脱氢酶作为一种典型而复杂的含钼黄素酶,广泛分布于生物的三域系统中,它不仅是参与细菌及高等生物体嘌呤代谢的主要酶,也是迄今在生物化学和酶学方面研究最广泛的酶之一,其生化和结构特性已被研究确定。多项研究表明, XDH 在植物中的活性与氮同化、激素代谢、病原菌防御、衰老及活性氧产生等广泛的生理过程密切相关,有助于维持植物体的正常生长和发育,因此, XDH 在改善作物的生长发育和抗逆性方面具有较大的应用潜力(表 1)。此外, XDH 在生理学、临床、环境和工业等领域也引起广泛关注,在药物代谢、核苷类似物的合成、临床诊断和生物修复中展现出巨大的应用前景^[73]。

尽管 XDH 在不同种植物中的同源性相对较高,但目前只在少数植物中挖掘到 *XDHs* 基因并进行了生理机制研究,并且迄今为止也尚

表 1 植物中的 *XDHs* 基因

Table 1 *XDH* genes in plants

Gene name	Species	Function	References
<i>OsXDH/ESL1/OsSAC3</i>	<i>Oryza sativa</i>	Delaying leaf senescence and enhancing resistance to adversity stresses	[47,60,75]
<i>AtXDH1</i> 、 <i>AtXDH2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Essential for normal growth and development, delays aging, and plays an important role in enhancing stress tolerance	[30,58]
<i>CsXDH1</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Enhance purine metabolism to adapt to strong light, and positively regulate caffeine catabolism under sustained strong light	[72]
<i>PvXDH</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	In epidermal cells, ROS is produced to accelerate the process of hypersensitive response, but in mesophyll cells, it can function as a dehydrogenase, producing strong free radicals and scavenging uric acid	[33]
<i>VvXDH</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Enhancement of ROS scavenging and abiotic stress tolerance by increasing allantoin accumulation and activation of the ABA signaling pathway	[64]
<i>BvXDH</i>	<i>Beta vulgaris</i>	Involved in regulating the response to salinity stress, associated with allantoin formation	[71]

未发现 XDH 功能丧失的天然高等植物突变体, 这导致 XDH 活性对植物多项生理功能的真正贡献以及其精确的生理调控作用仍不明晰。目前, XDH 在拟南芥中的调控通路和生物学功能得到了较为清晰的解析, 本课题组发现水稻中的 OsXDH 在水稻生长发育和逆境胁迫中发挥重要作用^[47], 但其调控机制还有待深入研究, 并且关于其他高等植物中 XDH 的研究仍相对滞后, 还存在很多尚未解决的问题。因此, XDH 未来研究可从以下 3 个方面展开: (1) 通过将转录组学、代谢组学、蛋白质组学等相结合, 揭示 XDH 调控的代谢通路, 挖掘并鉴定其上下游调控因子和靶标基因, 解析分子调控网络; (2) 挖掘不同作物中 XDH 突变体, 深入研究这些突变体在植物的生长发育和抗逆性方面的作用; (3) 运用基因过表达、基因编辑以及 RNA 干扰等分子生物学技术手段, 培育优良抗逆作物新品种, 保障粮食的安全生产和农业的可持续发展。

REFERENCES

[1] WOOLFOLK CA, DOWNARD JS. Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase specificity types among bacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 1977, 130(3): 1175-1191.

[2] CORRAN HS, DEWAN JG, GORDON AH, GREEN DE. Xanthine oxidase and milk flavoprotein: with an addendum by J. St L. Philpot[J]. *The Biochemical Journal*, 1939, 33(10): 1694-1708.

[3] HARRISON R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 33(6): 774-797.

[4] MONTALBINI P. Purification and some properties of xanthine dehydrogenase from wheat leaves[J]. *Plant Science*, 1998, 134(1): 89-102.

[5] MONTALBINI P. Xanthine dehydrogenase from leaves of leguminous plants: purification, characterization and properties of the enzyme[J]. *Journal of Plant Physiology*,

2000, 156(1): 3-16.

- [6] KATALIN BN, OMAROV RT, ERDEI L, HERMAN LS. Distribution of the Mo-enzymes aldehyde oxidase, xanthine dehydrogenase and nitrate reductase in maize (*Zea mays* L.) nodal roots as affected by nitrogen and salinity[J]. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, 2000, 155(1): 49-58.
- [7] ZDUNEK-ZASTOCKA E, LIPS HS. Is xanthine dehydrogenase involved in response of pea plants (*Pisum sativum* L.) to salinity or ammonium treatment?[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2003, 25(4): 395-401.
- [8] HESBERG C, HÄNSCH R, MENDEL RR, BITTNER F. Tandem orientation of duplicated xanthine dehydrogenase genes from *Arabidopsis thaliana*: differential gene expression and enzyme activities[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(14): 13547-13554.
- [9] 孙学成, 胡承孝. 高等植物含钼酶与钼营养[J]. *植物生理学通讯*, 2005, 41(3): 395-399.
- SUN XC, HU CX. Molybdoenzymes and molybdenum nutrition in higher plants[J]. *Plant Physiology Communications*, 2005, 41(3): 395-399 (in Chinese).
- [10] 吴自明, 谭雪明, 韩瑞才, 陈慧珍, 石庆华, 潘晓华. 高等植物黄嘌呤脱氢酶的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(21): 159-163.
- WU ZM, TAN XM, HAN RC, CHEN HZ, SHI QH, PAN XH. Advances of studies on xanthine dehydrogenase in higher plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(21): 159-163 (in Chinese).
- [11] WANG CH, ZHANG C, XING XH. Xanthine dehydrogenase: an old enzyme with new knowledge and prospects[J]. *Bioengineered*, 2016, 7(6): 395-405.
- [12] 陈晓楠. 耐辐射异常球菌黄嘌呤脱氢酶基因在氧化胁迫反应中的作用[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2020.
- CHEN XN. Role of xanthine dehydrogenase gene in oxidative stress response of *Deinococcus radiodurans* R1[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020 (in Chinese).
- [13] HILLE R. Xanthine oxidase—a personal history[J]. *Molecules*, 2023, 28(4): 1921.
- [14] ENROTH C, EGER BT, OKAMOTO K, NISHINO T, NISHINO T, PAI EF. Crystal structures of bovine milk

- xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(20): 10723-10728.
- [15] MENDEL RR, HÄNSCH R. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(375): 1689-1698.
- [16] WANG CH, ZHANG C, XING XH. Metabolic engineering of *Escherichia coli* cell factory for highly active xanthine dehydrogenase production[J]. Bioresource Technology, 2017, 245(Pt B): 1782-1789.
- [17] LEIMKUHNER S, HODSON R, GEORGE GN, RAJAGOPALAN KV. Recombinant *Rhodobacter capsulatus* xanthine dehydrogenase, a useful model system for the characterization of protein variants leading to xanthinuria I in humans[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(23): 20802-20811.
- [18] SCHWARZ G, MENDEL RR. Molybdenum cofactor biosynthesis and molybdenum enzymes[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 623-647.
- [19] PORCH TG, TSEUNG CW, SCHMELZ EA, SETTLES AM. The maize *Viviparous10/Viviparous13* locus encodes the *Cnx1* gene required for molybdenum cofactor biosynthesis[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2006, 45(2): 250-263.
- [20] SUZUKI M, SETTLES AM, TSEUNG CW, LI QB, LATSHAW S, WU S, PORCH TG, SCHMELZ EA, JAMES MG, McCARTY DR. The maize *viviparous15* locus encodes the molybdopterin synthase small subunit[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2006, 45(2): 264-274.
- [21] SCHWARTZ SH, LEON-KLOOSTERZIEL KM, KOORNNEEF M, ZEEVAART J. Biochemical characterization of the *aba2* and *aba3* mutants in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Physiology, 1997, 114(1): 161-166.
- [22] WATANABE S, MATSUMOTO M, HAKOMORI Y, TAKAGI H, SHIMADA H, SAKAMOTO A. The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism[J]. Plant, Cell & Environment, 2014, 37(4): 1022-1036.
- [23] ZRENNER R, RIEGLER H, MARQUARD CR, LANGE PR, GESERICK C, BARTOSZ CE, CHEN CT, SLOCUM RD. A functional analysis of the pyrimidine catabolic pathway in *Arabidopsis*[J]. The New Phytologist, 2009, 183(1): 117-132.
- [24] WERNER AK, WITTE CP. The biochemistry of nitrogen mobilization: purine ring catabolism[J]. Trends in Plant Science, 2011, 16(7): 381-387.
- [25] BACCOLINI C, WITTE CP. AMP and GMP catabolism in *Arabidopsis* converge on xanthosine, which is degraded by a nucleoside hydrolase hetero complex[J]. The Plant Cell, 2019, 31(3): 734-751.
- [26] CHEN XG, KIM SH, RHEE S, WITTE CP. A plastid nucleoside kinase is involved in inosine salvage and control of purine nucleotide biosynthesis[J]. The Plant Cell, 2023, 35(1): 510-528.
- [27] YIN YL, KATAHIRA R, ASHIHARA H. Metabolism of purine nucleosides and bases in suspension-cultured *Arabidopsis thaliana* cells[J]. European Chemical Bulletin, 2014, 3(9): 925-934.
- [28] ZRENNER R, STITT M, SONNEWALD U, BOLDT R. Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 805-836.
- [29] HOFMANN NR. Opposing functions for plant xanthine dehydrogenase in response to powdery mildew infection: production and scavenging of reactive oxygen species[J]. The Plant Cell, 2016, 28(5): 1001.
- [30] MA XF, WANG WM, BITTNER F, SCHMIDT N, BERKEY R, ZHANG LL, KING H, ZHANG Y, FENG JY, WEN YQ, TAN LQ, LI Y, ZHANG Q, DENG ZN, XIONG XY, XIAO SY. Dual and opposing roles of xanthine dehydrogenase in defense-associated reactive oxygen species metabolism in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2016, 28(5): 1108-1126.
- [31] SMITH PMC, ATKINS CA. Purine biosynthesis. Big in cell division, even bigger in nitrogen assimilation[J]. Plant Physiology, 2002, 128(3): 793-802.
- [32] FUJIHARA S, YAMAGUCHI M. Effects of allopurinol [4-hydroxypyrazolo(3,4-d)pyrimidine] on the metabolism of allantoin in soybean plants[J]. Plant Physiology, 1978, 62(1): 134-138.
- [33] COLETO I, PINEDA M, ALAMILLO JM. Molecular and biochemical analysis of XDH from *Phaseolus vulgaris*

- suggest that uric acid protects the enzyme against the inhibitory effects of nitric oxide in nodules[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 143: 364-374.
- [34] VOß L, HEINEMANN KJ, HERDE M, MEDINA-ESCOBAR N, WITTE CP. Enzymes and cellular interplay required for flux of fixed nitrogen to ureides in bean nodules[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5331.
- [35] NGUYEN CX, DOHNALKOVA A, HANCOCK CN, KIRK KR, STACEY G, STACEY MG. Critical role for uricase and xanthine dehydrogenase in soybean nitrogen fixation and nodule development[J]. *The Plant Genome*, 2023, 16(2): e20171.
- [36] TAKAGI H, WATANABE S, TANAKA S, MATSUURA T, MORI IC, HIRAYAMA T, SHIMADA H, SAKAMOTO A. Disruption of ureide degradation affects plant growth and development during and after transition from vegetative to reproductive stages[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 287.
- [37] PINEDA M, CARDENAS J. Transport and assimilation of purines in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Scientia Marina*, 1996, 60: 195-201.
- [38] SCHMOLLINGER S, MÜHLHAUS T, BOYLE NR, BLABY IK, CASERO D, METTLER T, MOSELEY JL, KROPAT J, SOMMER F, STRENKERT D, HEMME D, PELLEGRINI M, GROSSMAN AR, STITT M, SCHRODA M, MERCHANT SS. Nitrogen-sparing mechanisms in *Chlamydomonas* affect the transcriptome, the proteome, and photosynthetic metabolism[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(4): 1410-1435.
- [39] BRYCHKOVA G, FLUHR R, SAGI M. Formation of xanthine and the use of purine metabolites as a nitrogen source in *Arabidopsis* plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2008, 3(11): 999-1001.
- [40] YI SY, LEE M, JEEVAN RAMENENI J, LU L, KAUR C, LIM YP. Xanthine-derived metabolites enhance chlorophyll degradation in cotyledons and seedling growth during nitrogen deficient condition in *Brassica rapa*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2021, 16(6): 1913309.
- [41] REDILLAS MCFR, BANG SW, LEE DK, KIM YS, JUNG H, CHUNG PJ, SUH JW, KIM JK. Allantoin accumulation through overexpression of *ureide permease1* improves rice growth under limited nitrogen conditions[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(7): 1289-1301.
- [42] MITTLER R, VANDERAUWERA S, GOLLERY M, van BREUSEGEM F. Reactive oxygen gene network of plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(10): 490-498.
- [43] MITTLER R, ZANDALINAS SI, FICHMAN Y, van BREUSEGEM F. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, 23(10): 663-679.
- [44] 周恒, 谢彦杰. 植物氧化胁迫信号应答的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(11): 36-43.
- ZHOU H, XIE YJ. Recent progress in oxidative stress signaling and response in plants[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(11): 36-43 (in Chinese).
- [45] YESBERGENOVA Z, YANG GH, ORON E, SOFFER D, FLUHR R, SAGI M. The plant Mo-hydroxylases aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase have distinct reactive oxygen species signatures and are induced by drought and abscisic acid[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2005, 42(6): 862-876.
- [46] ZAREPOUR M, KASPARI K, STAGGE S, RETHMEIER R, MENDEL RR, BITTNER F. Xanthine dehydrogenase AtXDH1 from *Arabidopsis thaliana* is a potent producer of superoxide anions *via* its NADH oxidase activity[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 72(3): 301-310.
- [47] XU JM, PAN CY, LIN H, YE HF, WANG S, LU T, CHEN QY, YANG KR, LU M, QIAN Q, REN DY, RAO YC. A rice xanthine dehydrogenase gene regulates leaf senescence and response to abiotic stresses[J]. *The Crop Journal*, 2022, 10(2): 310-322.
- [48] GUS'KOV EP, PROKOF'EV VN, KLETSKII ME, KORNIENKO IV, GAPURENKO OA, OLEKHNOVICH LP, CHISTYAKOV VA, SHESTOPALOV AV, SAZYKINA MA, MARKEEV AV, SHKURAT TP, MALKHOS'YAN SR, ZHDANOV YA. Allantoin as a vitamin[J]. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2004, 398(1): 320-324.
- [49] 王鑫. 甜菜组培体系优化及 *BvXDH* 基因载体构建[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2022.
- WANG X. Optimization of sugar beet tissue culture

- system and *BvXDH* gene vector construction[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [50] WASTERNAK C. Metabolism of pyrimidines and purines[M]//Nucleic Acids and Proteins in Plants II. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1982: 263-301.
- [51] NGUYEN J. Plant xanthine dehydrogenase: its distribution, properties and function[J]. *Physiologie Vegetale*, 1986(24): 263-281.
- [52] TAYLOR NJ, COWAN AK. Xanthine dehydrogenase and aldehyde oxidase impact plant hormone homeostasis and affect fruit size in 'Hass' avocado[J]. *Journal of Plant Research*, 2004, 117(2): 121-130.
- [53] SEKIMOTO H, SEO M, DOHMAE N, TAKIO K, KAMIYA Y, KOSHIBA T. Cloning and molecular characterization of plant aldehyde oxidase[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(24): 15280-15285.
- [54] TAYLOR N, COWAN K. Plant hormone homeostasis and the control of avocado fruit size[J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, 35(3): 247-255.
- [55] ORI N, ESHED Y, PINTO P, PARAN I, ZAMIR D, FLUHR R. TAO1, a representative of the molybdenum cofactor containing hydroxylases from tomato[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(2): 1019-1025.
- [56] TAKAGI H, ISHIGA Y, WATANABE S, KONISHI T, EGUSA M, AKIYOSHI N, MATSUURA T, MORI IC, HIRAYAMA T, KAMINAKA H, SHIMADA H, SAKAMOTO A. Allantoin, a stress-related purine metabolite, can activate jasmonate signaling in a MYC2-regulated and abscisic acid-dependent manner[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(8): 2519-2532.
- [57] 梅英文. 外源尿囊素对水稻孕穗期低温胁迫根系生长和碳氮代谢的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2023.
- MEI YW. Effects of exogenous allantoin on root growth and carbon and nitrogen metabolism of rice under low temperature stress at booting stage[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [58] NAKAGAWA A, SAKAMOTO S, TAKAHASHI M, MORIKAWA H, SAKAMOTO A. The RNAi-mediated silencing of xanthine dehydrogenase impairs growth and fertility and accelerates leaf senescence in transgenic *Arabidopsis* plants[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, 48(10): 1484-1495.
- [59] SOLTABAYEVA A, SRIVASTAVA S, KURMANBAYEVA A, BEKTUROVA A, FLUHR R, SAGI M. Early senescence in older leaves of low nitrate-grown *Atxhd1* uncovers a role for purine catabolism in N supply[J]. *Plant Physiology*, 2018, 178(3): 1027-1044.
- [60] HAN RC, HE XF, PAN XH, SHI QH, WU ZM. Enhancing xanthine dehydrogenase activity is an effective way to delay leaf senescence and increase rice yield[J]. *Rice*, 2020, 13(1): 16.
- [61] WATANABE S, NAKAGAWA A, IZUMI S, SHIMADA H, SAKAMOTO A. RNA interference-mediated suppression of xanthine dehydrogenase reveals the role of purine metabolism in drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. *FEBS Letters*, 2010, 584(6): 1181-1186.
- [62] SOLTABAYEVA A, BEKTUROVA A, KURMANBAYEVA A, OSHANOVA D, NURBEKOVA Z, SRIVASTAVA S, STANDING D, SAGI M. Ureides are accumulated similarly in response to UV-C irradiation and wounding in *Arabidopsis* leaves but are remobilized differently during recovery[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(3): 1016-1032.
- [63] 吴巧玉, 何天久. 外源脱落酸对低温胁迫下马铃薯野生材料生理特性的影响[J]. *东北农业科学*, 2023, 48(5): 88-91.
- WU QY, HE TJ. Effects of exogenous abscisic acid on physiological characteristics of potato wild materials under low temperature stress[J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2023, 48(5): 88-91 (in Chinese).
- [64] YOU SH, ZHU B, WANG FB, HAN HJ, SUN M, ZHU HW, PENG RH, YAO QH. A *Vitis vinifera* xanthine dehydrogenase gene, *VvXDH*, enhances salinity tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2017, 11(3): 147-160.
- [65] LIU X, WANG J, YU Y, KONG LN, LIU YM, LIU ZQ, LI HY, WEI PW, LIU ML, ZHOU H, BU QY, FANG J. Identification and characterization of the rice pre-harvest sprouting mutants involved in molybdenum cofactor biosynthesis[J]. *The New Phytologist*, 2019, 222(1): 275-285.

- [66] 张一名, 褚卓栋, 冯雪, 孙艳香, 龚艳红. 尿囊素在植物抗逆应答中的作用[J]. 植物生理学报, 2017, 53(7): 1131-1138.
ZHANG YM, CHU ZD, FENG X, SUN YX, GONG YH. Roles of allantoin in plant defense responses[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(7): 1131-1138 (in Chinese).
- [67] KAUR R, CHANDRA J, VARGHESE B, KESHAVKANT S. Allantoin: a potential compound for the mitigation of adverse effects of abiotic stresses in plants[J]. Plants, 2023, 12(17): 3059.
- [68] 韩瑞才, 苏如奇, 万建林, 龙启樟, 曾勇军, 潘晓华, 石庆华, 吴自明. 高温胁迫下黄嘌呤脱氢酶基因超表达对水稻幼苗的保护作用[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(4): 365-373.
HAN RC, SU RQ, WAN JL, LONG QZ, ZENG YJ, PAN XH, SHI QH, WU ZM. Protective roles of over-expression of *OsXDH* in rice seedlings under high temperature stress[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2018, 32(4): 365-373 (in Chinese).
- [69] 韩瑞才, 武志峰, 唐双勤, 潘晓华, 石庆华, 王根发, 吴自明. 水稻黄嘌呤脱氢酶基因 *OsXDH* 克隆及表达分析[J]. 南方农业学报, 2017, 48(12): 2113-2121.
HAN RC, WU ZF, TANG SQ, PAN XH, SHI QH, WANG GF, WU ZM. Cloning and expression analysis for xanthine dehydrogenase gene *OsXDH* in rice[J]. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(12): 2113-2121 (in Chinese).
- [70] CHOWRASIA S, NISHAD J, MAHATO R, KIRAN K, RAJKUMARI N, PANDA AK, RAWAL HC, BARMAN M, MONDAL TK. Allantoin improves salinity tolerance in *Arabidopsis* and rice through synergid activation of abscisic acid and brassinosteroid biosynthesis[J]. Plant Molecular Biology, 2023, 112(3): 143-160.
- [71] WANG CH, ZHANG R, SUN Y, WEN Y, LIU XL, XING XH. Combinatorial co-expression of xanthine dehydrogenase and chaperone XdhC from *Acinetobacter baumannii* and *Rhodobacter capsulatus* and their applications in decreasing purine content in food[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(4): 1343-1350.
- [72] TANG QH, LIU KY, YUE C, LUO LY, ZENG L, WU ZJ. *CsXDH1* gene promotes caffeine catabolism induced by continuous strong light in tea plant[J]. Horticulture Research, 2023, 10(6): uhad090.
- [73] ALAM R, RASHEED R, ASHRAF MA, HUSSAIN I, ALI S. Allantoin alleviates chromium phytotoxic effects on wheat by regulating osmolyte accumulation, secondary metabolism, ROS homeostasis and nutrient acquisition[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 458: 131920.
- [74] MONTALBINI P. Inhibition of hypersensitive response by allopurinol applied to the host in the incompatible relationship between *Phaseolus vulgaris* and *Uromyces phaseoli*[J]. Journal of Phytopathology, 1992, 134(3): 218-228.
- [75] XIE ZY, ZHAO BB, ZHANG MX, SANG XC, ZHAO FM, FENG P, HE GH, ZHU XY. Mutation of *OsSAC3*, encoding the xanthine dehydrogenase, caused early senescence in rice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(19): 11053.

(本文责编 郝丽芳)