

AOX 途径在苹果离体叶片失水过程中的光破坏防御作用

徐秀玉^{1,2}, 程来亮¹, 金立桥², 孙 山^{1*}, 刘美君²

(1 山东省果树研究所, 山东泰安 271000; 2 山东农业大学生命科学学院, 山东泰安 271018)

摘 要:为探讨线粒体交替氧化酶呼吸途径(AOX 途径)对水分胁迫下苹果叶片光破坏的防御作用,以苹果砧木平邑甜茶离体叶片为试材,通过 AOX 抑制剂水杨基羟肟酸(SHAM)处理,同时测定苹果叶片叶绿素荧光诱导动力学曲线和 820 nm 光的吸收曲线,结合 JIP-test 分析,探讨了失水过程中 AOX 途径的光保护作用。结果表明:水分胁迫条件下,平邑甜茶叶片的 AOX 活性显著增加,SHAM 抑制 AOX 途径后,叶片发生更严重的光抑制;在失水胁迫条件下,平邑甜茶叶片 PS II 原初光化学反应的量子产额(TR_o/ABS)、PS II 捕获的电子从 Q_A 传递到 Q_B 的概率(ET_o/TR_o)下降,PS II 单位反应中心吸收的光能(ABS/RC)上升,而 PS I 的最大氧化还原活性($\Delta I/I_o$)未受影响;SHAM 抑制 AOX 途径后, TR_o/ABS 和 ET_o/TR_o 进一步下降, ABS/RC 进一步上升,同时引起了 $\Delta I/I_o$ 的下降。研究认为,水分胁迫条件下,平邑甜茶叶片 PS II 发生了光抑制,而 SHAM 处理在加重 PS II 光抑制的同时,引起了 PS I 的光抑制;叶片失水过程中,AOX 呼吸上调是平邑甜茶叶片的重要光破坏防御机制,特别是对 PS I 具有重要的保护作用。

关键词: 苹果;平邑甜茶;失水;交替呼吸途径;光破坏防御

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Role of Mitochondrial Alternative Oxidase(AOX) in Photoprotection in Apple Detached Leaf under Water Stress

XU Xiuyu^{1,2}, CHENG Lailiang¹, JIN Liqiao², SUN Shan^{1*}, LIU Meijun²

(1 Shandong Institute of Pomology, Taian, Shandong 271000, China; 2 College of Life Science, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

Abstract: The purpose of this study is to explore the role of mitochondrial alternative oxidase (AOX) in photoprotection in apple leaves under water stress. After treated with salicylhydroxamic acid (SHAM) to inhibit the AOX pathway, we studied the effects of AOX pathway on photoprotection in *Malus hupehensis* detached leaves under water stress by simultaneously analyzing chlorophyll a fluorescence transient and light absorbance at 820 nm. The results indicated that water stress induced the up-regulation of AOX activity. The inhibition of AOX pathway caused more severe photoinhibition. Under water stress, maximum quantum yield of primary PS II photochemistry (TR_o/ABS) and PS II trapped electron being transferred from Q_A to Q_B (ET_o/TR_o) decreased, average absorbed photon flux per PS II reaction center (ABS/RC) increased, while the maximum PS I redox activity ($\Delta I/I_o$) was not affected. After treated with SHAM to

收稿日期: 2016-01-25; 修改稿收到日期: 2016-04-30

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2012CM039)、泰山学者建设工程专项经费和作物生物学国家重点实验室开放基金(2012KF05)

作者简介: 徐秀玉(1988—), 女, 博士研究生, 主要从事光合作用与抗逆生理方面的研究。E-mail: xxy555111@163.com

* 通信作者: 孙 山, 博士, 研究员, 主要从事果树生理与品质资源研究。E-mail: sunshan03@163.com

inhibit the AOX pathway, ABS/RC markedly increased, TRo/ABS, ETo/TRo as well as $\Delta I/I_0$ significantly decreased. It was indicated that under water stress the inhibition of AOX pathway caused more severe photoinhibition, especially to the PS I. Generally, the results demonstrate that the AOX pathway played an important role in the photoprotection in *M. hupehensis* leaves under water stress, particularly in the photoprotection of PS I.

Key words: apple; *Malus hupehensis* Rehd.; water stress; mitochondrial alternative oxidase; photoprotection

随着全球变暖和环境恶化,干旱问题日益严重^[1]。干旱会引起植物叶片失水,发生光抑制,导致过剩光能的增加,严重时可引起植物光合器官的光破坏^[2-4]。在长期的进化过程中,植物进化出一系列的光破坏防御机制,从而保护光合机构免受过剩光能的伤害,以前的光破坏防御研究多集中于叶绿体内,例如环式电子传递^[5]、依赖叶黄素循环的热耗散^[6]、Mehler 反应^[7]及活性氧的酶促和非酶促清除系统等^[8],而对于叶绿体外的光破坏防御机制研究甚少。近年的研究发现,线粒体中的 AOX 途径能够有效地消耗叶绿体内的过剩还原力,从而缓解强光对叶片造成的光抑制^[9-10]。AOX 途径的光破坏防御作用已在拟南芥、小麦、黄瓜等草本植物上被实验证实^[11-13],但其在木本植物中是否仍具有重要的光破坏防御作用尚未见报道。

苹果是中国重要的落叶果树树种,大多分布在干旱、半干旱地区,其生长过程中经常遭遇干旱胁迫。有关干旱胁迫对苹果属植物的形态和生理生化指标等方面的影响已有大量报道^[14-16],而干旱胁迫下的光破坏防御机制研究相对较少。李春霞等研究发现干旱胁迫下苹果属植物热耗散增加^[17],Jia 等证实干旱环境下光呼吸、米勒反应的增加可减轻苹果叶片的光抑制^[18],但 AOX 途径对于干旱胁迫下苹果属植物光破坏防御的影响目前尚未见报道。因此,本研究选用苹果优良砧木平邑甜茶离体叶片作试材,探讨 AOX 呼吸途径的光破坏防御作用,以期苹果抗旱栽培和育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为种植于山东省果树研究所试验场的 2 年生平邑甜茶 (*Malus hupehensis*),于 2014 ~ 2015 年生长季选取长势一致的苗木,取第 3 ~ 4 片完全展开叶,用湿纱布包裹后,快速带回实验室用于试验。

1.2 试验处理

将叶片用直径 1.0 cm 的打孔器打成叶圆片,平

均分为两组,一组浸泡于清水中(CK),另一组浸泡于 2 mmol · L⁻¹ 的水杨基羟戊酸(SHAM)溶液中,黑暗处理 2 h;然后将叶圆片表面擦拭干净,漂浮在 20%PEG 溶液上,让其自然脱水;脱水处理的同时用微波硫灯(MSL1000N1,宁波)进行 1 000 μmol · m⁻² · s⁻¹ 的光照处理(光响应曲线的饱和光强)。分别在脱水处理的 0、2、4 h 时取样进行相关参数测定。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 叶片水势 将叶圆片表面擦干,放入 C-52 样品室,平衡 60 min 后,用 PSYPRO 水势仪(WESCOR,美国)进行水势测定。

1.3.2 交替呼吸速率 根据孟祥龙等^[19]的方法,利用 OXYTHERM 氧电极(Hansatech,英国),在 25 °C 条件下测定呼吸速率,反应室温度由 OXYTHERM 氧电极的控温装置自动控制。于反应杯中添加 2 mL 磷酸缓冲液(pH 6.8),加入直径 1.0 cm 的叶圆片,在黑暗中测定叶片的耗氧速率,当耗氧速率达到稳定状态后,根据 10 ~ 20 min 区间氧气浓度的下降斜率计算叶片总呼吸速率(R_{total});总呼吸速率测定后,重新在反应杯中加入 2 mL 含有 20 mmol · L⁻¹ SHAM 的磷酸缓冲液(pH 6.8),加入叶圆片,于 25 °C 条件下恒温 20 min,在黑暗中测定叶片的耗氧速率,当耗氧速率达到稳定状态后,根据 10 ~ 20 min 区间氧气浓度的下降斜率计算叶片 COX 途径呼吸速率(R_{COX})。AOX 途径呼吸速率(R_{AOX}) = $R_{total} - R_{COX}$ 。根据上述方法分别测定经过不同脱水时间处理之后的总呼吸速率、AOX 途径呼吸速率和 COX 呼吸速率。

1.3.3 瞬时荧光和 820 nm 光吸收动力学曲线

瞬时荧光和 820 nm 光反射用 MPEA-2 多功能植物效率分析仪(Hansatech,英国)测量。测定参照 Strasser 等^[20]的方法,先在 5 000 μmol · m⁻² · s⁻¹ 的饱和红光下测量瞬时荧光;然后关掉红光,在 1 000 μmol · m⁻² · s⁻¹ 的远红光下测量 820 nm 光反射。

根据 Strasser 等^[21-22]建立的 JIP-test 数据分析

方法,对获得的 OJIP 荧光诱导动力学曲线进行分析,按下列公式计算相对可变荧光的差值(ΔV_t)、单位反应中心吸收的光能(ABS/RC)、K 点的相对可变荧光(W_K)、反应中心捕获的量子产额(TR_o/ABS)、捕获能量中用于电子传递的量子产额(ET_o/TR_o)等参数:

$$\Delta V_t = \Delta[(F_t - F_o)/(F_m - F_o)];$$
$$ABS/RC = 4 \times (F_K - F_o) \times F_m / (F_J - F_o) / (F_m - F_o);$$
$$W_K = (F_K - F_o) / (F_J - F_o);$$
$$TR_o/ABS = (F_m - F_o) / F_m;$$
$$ET_o/TR_o = (F_m - F_J) / (F_m - F_o);$$

其中, $F_m = F_P$, F_o 、 F_K 、 F_J 和 F_P 分别为暗适应后 20 μs 、300 μs 、3 ms 和 30 ms 及最大瞬时荧光值。

根据 820 nm 的光吸收曲线(由 735 ± 15 nm 的远红光诱导),以 820 nm 光吸收的最大值和最小值差值的相对值($\Delta I/I_o$)作为衡量 PS I 最大氧化还原能力的指标。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理和绘图,采用 DPS 软件对不同处理的测定结果进行统计分析。采用最小差异显著法(LSD, $\alpha = 0.05$)比较不同处理之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 强光下脱水和 SHAM 处理对平邑甜茶叶片水势的影响

图 1 显示,平邑甜茶离体叶片的水势随脱水时间的延长而逐渐下降,其在脱水前、脱水 2 h 和脱水 4 h 分别约为-0.5 MPa、-0.8 MPa 和-1.5MPa,且其

间均存在显著性差异($P < 0.05$)。整个脱水处理过程中,对照组和 SHAM 处理组之间叶片水势不存在显著差异。

2.2 强光下脱水和 SHAM 处理对平邑甜茶叶片不同呼吸途径的影响

从表 1 可以看出,随着水分胁迫程度的增加,对照组平邑甜茶叶片的总呼吸和 AOX 呼吸均显著升高,与脱水前相比,脱水 2 h 时总呼吸和 AOX 呼吸分别上调了 15.1%和 41.7%,脱水 4 h 时分别上调了 29.4%和 83.7%。而同期 COX 呼吸途径的活性虽然轻微增加($P > 0.05$),但其所占总呼吸的比例不升反而显著下降。而 SHAM 处理组的平邑甜茶叶片总呼吸速率和 AOX 呼吸速率明显下降,且整个脱水过程中 SHAM 对 AOX 途径抑制效果稳定。这表明脱水过程中平邑甜茶叶片总呼吸的增加主要

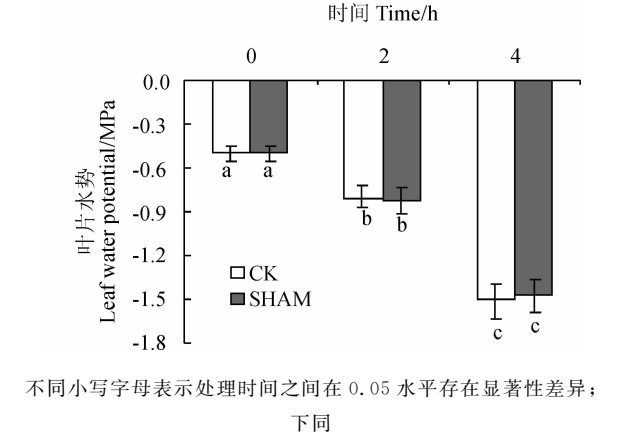


图 1 强光下脱水过程中平邑甜茶叶片水势的变化
The different normal letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same as below
Fig. 1 Changes in the water potential of *M. hupehensis* leaves during dehydration with light

表 1 SHAM 处理下脱水过程中平邑甜茶叶片总呼吸、AOX 呼吸、COX 呼吸的变化

Table 1 Changes in the total respiration, AOX respiration and COX respiration in <i>M. hupehensis</i> leaves during dehydration and SHAM application						
处理 Treatment	脱水时间 Dehydration time/h	总呼吸 Total respiration /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	AOX 呼吸 AOX respiration /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	COX 呼吸 COX respiration /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	AOX 呼吸/ 总呼吸 AOX respiration/Total respiration/ %	COX 呼吸/总呼吸 COX respiration/Total respiration/ %
CK	0	2.92±0.45c	0.78±0.13c	2.14±0.32a	27±4c	73±10a
	2	3.36±0.21b	1.11±0.08b	2.25±0.13a	33±2b	67±9b
	4	3.78±0.48a	1.45±0.13a	2.34±0.35a	38±3a	62±10b
SHAM	0	2.47±0.25b	0.32±0.05b	2.16±0.21a	13±3d	87±11a
	2	2.74±0.33a	0.43±0.03a	2.31±0.3a	16±2d	84±10a
	4	2.84±0.32a	0.49±0.05a	2.36±0.27a	17±4d	83±11a

注:不同字母表示同一处理不同脱水时间之间在 0.05 水平存在显著性差异;下同
Note: Different letters in the same treatment but different dehydration times indicate significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below.

是由于 AOX 呼吸途径增加导致的。

2.3 强光下脱水及 SHAM 处理对平邑甜茶叶片快速叶绿素荧光诱导曲线的影响

脱水胁迫使平邑甜茶离体叶片叶绿素荧光诱导动力学曲线发生了明显变化,即相对荧光曲线在 2 ms 处上升形成峰值,在 30 ms 处下降,但脱水 2 h 和脱水 4 h 曲线形状差异不明显(图 2, A);当 SHAM 抑制 AOX 途径后,相对荧光曲线在 2 ms 处形成的峰值明显升高,且脱水 2 h 和脱水 4 h 曲线形状出现了明显差异,即脱水胁迫越严重,2 ms 处峰值上升得越明显(图 2, B)。上述结果说明脱水胁迫下平邑甜茶离体叶片光合电子传递链传递链中电

子从 Q_A 到 Q_B 传递受阻;而 SHAM 处理抑制 AOX 途径后,加重了电子从 Q_A 到 Q_B 传递受阻情况,且随着脱水胁迫程度的增加,这种受阻情况越严重。

2.4 强光下脱水及 SHAM 处理对平邑甜茶叶片的叶绿素荧光参数的影响

为了阐明水分胁迫下, AOX 呼吸途径对平邑甜茶叶片 PS II 反应中心和光合电子传递链的影响,进一步分析了相关的叶绿素荧光参数。由图 3, A 可以看出,随着脱水程度的增加,反映 PS II 最大光化学效率的参数(TR_o/ABS)逐渐下降,而 SHAM 处理的 TR_o/ABS 进一步下降,表明失水胁迫下平邑甜茶叶片发生了光抑制,而抑制 AOX 途径后加重

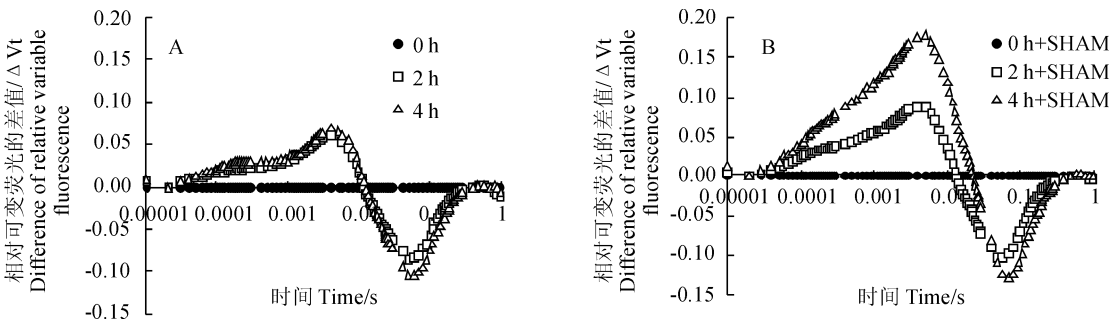


图 2 SHAM 处理下脱水过程中平邑甜茶叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的变化

Fig. 2 Changes of the fast chlorophyll a fluorescence transient in *M. hupehensis* leaves during dehydration and SHAM application

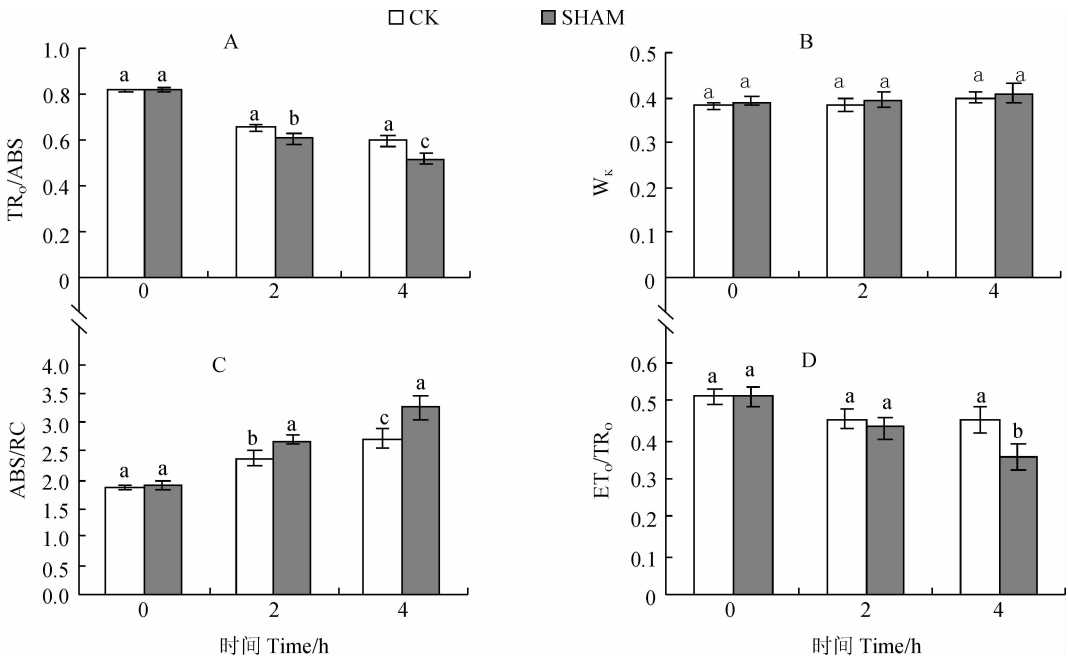


图 3 SHAM 处理下脱水过程中平邑甜茶叶片的快速叶绿素荧光参数的变化

Fig. 3 Changes of the prompt fluorescence parameters in *M. hupehensis* leaves during dehydration and SHAM application

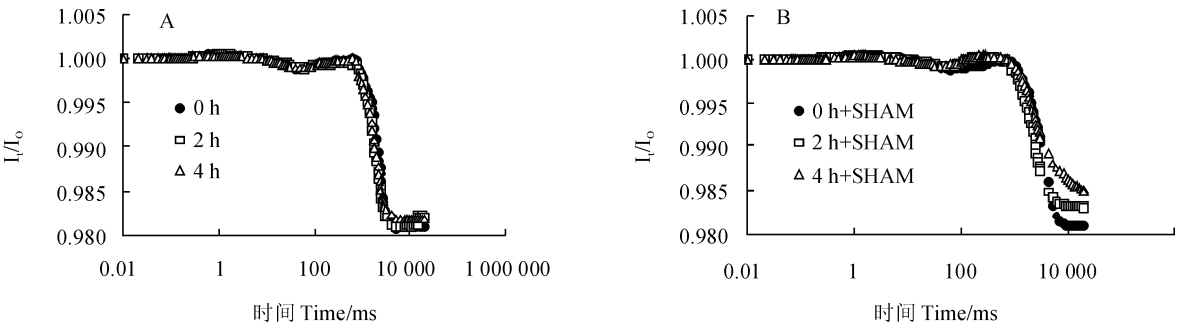


图 4 SHAM 处理下脱水过程中平邑甜茶叶片 820 nm 光反射(远红光测定)的变化
Fig. 4 Changes of kinetic curves of modulated 820 nm reflection (measured with far red light) in *M. hupehensis* leaves during dehydration and SHAM application

了失水胁迫下的光抑制程度。同时, W_K 的上升可作为叶片光合电子传递链 P680 供体侧受抑的标志, 且与放氧复合体(OEC)的受损有关^[21-22]。在脱水过程中, 脱水处理和 SHAM 处理均未使平邑甜茶叶片 W_K 出现明显差异(图 3, B), 说明脱水处理和脱水过程中抑制 AOX 途径处理对 PS II 供体侧均无明显影响。另外, 随着脱水处理时间的延长, 平邑甜茶叶片的 ABS/RC 显著升高, 而其 ET_o/TR_o 显著下降; 而 SHAM 处理进一步加剧了叶片 ABS/RC 升高和 ET_o/TR_o 下降的幅度, 且大多达到显著水平。这表明脱水过程中抑制 AOX 途径后进一步降低了 PS II 的光能吸收、转换和两个光系统之间的电子传递。

2.5 强光下脱水及 SHAM 处理对平邑甜茶叶片 PS I 活性的影响

单纯的水分胁迫并未使远红光诱导的 820 nm 光吸收曲线的形状发生明显变化(图 4, A); 而用 SHAM 抑制 AOX 途径后, 随着水分胁迫程度的增加, 820 nm 光吸收曲线的振幅逐渐变小(图 4, B)。同时, $\Delta I/I_o$ 反映了 PS I 反应中心 P700 的最大氧化还原能力, 表示 PS I 的活性^[23]。由图 5 可知, 随着脱水时间的延长, 对照组平邑甜茶叶片 PS I 的活性没有显著影响; 在正常水分条件下(0 h), AOX 途径受抑对平邑甜茶叶片 PS I 的活性也没有显著影响, 但在水分胁迫下, 抑制 AOX 呼吸显著降低了 PS I 的活性, 且时间越长抑制程度越严重。以上结果说明平邑甜茶叶片 PS I 在强光及脱水胁迫下未发生光抑制, 而其在 SHAM 抑制 AOX 途径后和脱水胁迫下却发生光抑制, 且脱水胁迫时间越长, PS I 光抑制越严重。

3 讨论

本研究结果表明, 强光下平邑甜茶叶片线粒体

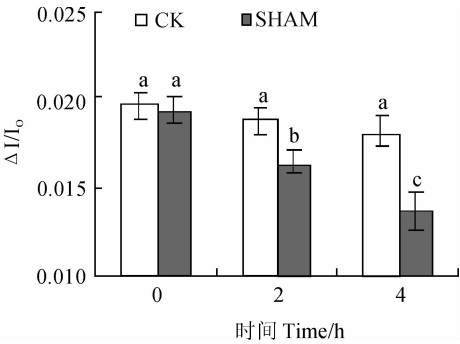


图 5 SHAM 处理下失水胁迫下平邑甜茶叶片 PS I 最大氧化还原能力($\Delta I/I_o$)的变化

Fig. 5 Changes of the maximum PS I redox activity ($\Delta I/I_o$) of *M. hupehensis* leaves during dehydration and SHAM application

中 AOX 的活性随着脱水胁迫程度的增加而明显上升; 当抑制 AOX 途径后, 进一步加重了平邑甜茶叶片脱水过程中的光抑制, 说明脱水胁迫下, 线粒体中 AOX 途径在平邑甜茶的光破坏防御中起着重要的作用。已有研究发现, 低温、高温、干旱、病原菌感染等逆境胁迫会诱导植物 AOX 活性的上调^[12, 24-26], 推测这可能是由于逆境胁迫下呼吸链复合物过度还原将导致活性氧的产生, 植物可通过激活 AOX 途径来维持电子传递能力, 降低氧化损伤^[27]。但以上对逆境下 AOX 的研究大都集中在拟南芥、小麦、豌豆等草本植物, 木本植物中并未探究。本实验首次在本木植物中证明了干旱胁迫下 AOX 活性上升这一点。

以往关于干旱下 AOX 途径的研究大部分是将 AOX 途径作为一条纯粹的呼吸电子传递链, 关注的焦点多放在代谢、产热、抗病以及活性氧的产生和消耗方面^[28-30], 但对 AOX 途径的光破坏防御作用极少研究。虽然 Carlos 等研究了干旱下 AOX 途径能保护光合电子传递^[12], 但该研究并未探究干旱下

AOX 途径对光合系统具体的保护位点。我们知道,光合作用电子传递是由 PS I 和 PS II 协调作用共同完成的,无论是 PS I 还是 PS II 受到伤害,都会导致光合能力的下降。为了探讨干旱下 AOX 途径对光合电子传递具体的保护位点,我们接下来分析了荧光参数。

叶绿素荧光诱导动力学曲线中 K 点的出现是 PS II 供体侧放氧复合体(OEC)受伤害的一个标志^[31];PSII 捕获能量中用于电子传递的量子产额(ETo/TRo),与 PQ 库氧化还原的比例有关^[32]。本研究中,脱水及 SHAM 处理均未引起 W_k 发生明显变化,说明水分胁迫和 SHAM 处理对平邑甜茶叶片 PS II 供体侧没有明显影响。但 SHAM 处理后再进一步增加了叶片脱水过程中 ABS/RC 的上升,说明 AOX 途径受抑后进一步加剧了 PS II 反应中心的失活,即 AOX 途径对失水过程中的 PS II 反应中心具

有一定的保护作用;而 SHAM 处理后 ETo/TRo 的下降又说明 AOX 受抑后降低了水分胁迫下 PS II 与 PS I 之间电子传递。

PS I 受体侧的电子传递,除了受 PS II 活性和受体侧电子传递体的影响外,同时也受 PS I 活性的影响^[33]。PS I 光抑制的典型指标是其最大氧化还原能力($\Delta I/I_o$)的下降^[31]。本研究中, $\Delta I/I_o$ 在水分胁迫下并无明显变化,而用 SHAM 抑制 AOX 途径后, $\Delta I/I_o$ 显著下降,说明 AOX 途径对脱水叶片的 PS I 具有重要的保护作用。

综上所述,线粒体中 AOX 活性的主动上调,在水分胁迫下平邑甜茶叶片的光破坏防御中发挥着重要的作用,特别是对 PS I 具有重要的保护作用。至于干旱胁迫下 AOX 途径在苹果属植物中具体的光破坏防御机制,我们将进一步研究。

参考文献:

[1] ALLEN C D, MACALADY A K, CHENCHOUNI H, *et al.* A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests [J]. *Forest Ecology and Management*, 2010, **259**(4):660-684.

[2] CHAVES M M. Effects of water deficits on carbon assimilation [J]. *J. Exp. Bot.*, 1991, **42**:1-16.

[3] QUICK W P, CHAVES M M, WENDLER R, *et al.* The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions [J]. *Plant Cell Environ.*, 1992, **15**:25-35.

[4] LONG S P, HUMPHRIES S, FALKOWSKI P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1994, **45**:633-662.

[5] TAKAHASHI S, MILWARD S E, FAN D Y, *et al.* How does cyclic electron flow alleviate photoinhibition in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2009, **149**:1 560-1 567.

[6] JAHNS P, LATOWSKI D, STRZALKA K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: The role of antenna proteins and membrane lipids [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, **1787**:3-14.

[7] FRANCK F, HOUYOUX P A. The Mehler reaction in chlamydomons during photosynthetic induction and steady-state photosynthesis in wild-type and in a mitochondrial mutant [J]. *Photosynthesis*, 2008, **5**:581-584.

[8] DINAKAR C, ABHAYPRATAP V, YEARLA S R, *et al.* Importance of ROS and antioxidant system during the beneficial interactions of mitochondrial metabolism with photosynthetic carbon assimilation [J]. *Planta*, 2010, **231**:461-474.

[9] YASHIDA K, TERASHIMA I, NOGUCHI K. Distinct roles of the cytochromo pathway and alternative oxidase in leaf photosynthesis [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2006, **47**(1):22-31.

[10] YASHIDA K, TERASHIMA I, NOGUCHI K. Up-regulation of mitochondrial alternative oxidase concomitant with chloroplast over-reduction by excess light [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2007, **48**(4):606~614.

[11] NOGUCHI K, YASHIDA K. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves [J]. *Mitochondrion*, 2008, **8**:87-99.

[12] BARTOLI C G, GOMEZ F, GERGOFF G. Up-regulation of the mitochondrial alternative oxidase pathway enhances photosynthetic electron transport under drought conditions[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **415**:1 269-1 276.

[13] 孟祥龙,张子山,高辉远,等.温度上升提高了黄瓜叶片线粒体交替氧化酶呼吸途径对光破坏防御作用的贡献[J]. *植物生理学报*, 2013, **49**(1):63-69.

MENG X L,ZHANG Z S,GAO H Y,*et al.* Temperature rise enhances photoprotection in cucumber leaves via mitochondrial alternative oxidase(AOX) pathway[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, **49**(1):63-69.

[14] 王顺才,邹养军,马锋旺.干旱胁迫对3种苹果属植物叶片解剖结构、微形态特征及叶绿体超微结构的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2014, **32**(3): 15-23.

WANG S C. ZOU Y J. MA F W. Influence of drought stress

- on leaf anatomical structure and micro-morphology traits and chloroplast ultrastructure of three *Malus* species[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2014, **32**(3): 15-23.
- [15] BRAY E A. Molecular response to water deficit[J]. *Plant Physiology*, 1993, **103**: 1 035-1 040
- [16] 马春花, 李明军, 李翠英, 等. 不同抗性苹果砧木叶片抗坏血酸代谢对干旱胁迫的响应[J]. 西北植物学报, 2001, **31**(8): 1 596-1 602.
- MA C H, LI M J, LI C Y, *et al.* Response of ascorbic acid metabolism in apple root stocks leaves under drought stress[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* 2001, **31**(8): 1 596-1 602.
- [17] 李春霞, 曹 慧. 干旱对苹果属植物叶绿素荧光参数的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, **36**(31): 13 536-13 538
- LI C X, CAO H. Effects of drought on chlorophyll fluorescence parameters of *Malus* plant[J]. *Journal of Anhui Agri. Sci.*, 2008, **36**(31): 13 536-13 538.
- [18] JIA H S, HAN Y Q, LI D Q. Photoinhibition and active oxygen species production in detached apple leaves during dehydration[J]. *Photosynthetica*, 2003, **41**(1): 151-156.
- [19] 孟祥龙, 张立涛, 张子山, 等. 杂交酸模叶片线粒体交替氧化酶呼吸途径在光破坏防御中的作用[J]. 应用生态学报, 2012, **23**(7): 1 803-1 808.
- MENG X L, ZHANG L T, ZHANG Z S, *et al.* Role of mitochondrial alternative oxidase(AOX) pathway in photoprotection in *Rumex* K-1 leaves[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, **23**(7): 1 803-1 808.
- [20] STRASSER R J, TSIMILLI-MICHAEL M, QIANG S, *et al.* Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820 nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, 1797: 1 313-1 326.
- [21] STRASSER R J, SRIVATAVA A, TSIMILLI-MICHAEL M. The Fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic sample[M]// YUNUS M, PATHRE U, MOHANTY P. Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation. Taylor&Francis, Bristol: Plenum Press, 2000: 445-483.
- [22] STRASSER R J, TSIMILLI-MICHAEL M, SRIVATAVA A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. [M]// PAPA-GEORGIOU G, GOVINDJEE. Advances in Photosynthesis and Respiration. Netherlands: KAP Press, 2004, 1-47.
- [23] SCHELLER H V, HALDRUP A. Photoinhibition of photosystem I [J]. *Planta*, 2005, 221: 5-8.
- [24] GONZALEZ-MELER M A, RIBAS-CARBO M, GILES L, *et al.* The effect of growth and measurement temperature on the activity of the alternative respiratory pathway[J]. *Plant Physiol.*, 1999, **120**(3): 765-772.
- [25] RACHMILEVITCH S, XU Y, GONZALEZ-MELER M A, *et al.* Cytochrome and alternative pathway activity in roots of thermal and non-thermal *Agrostis* species in response to high soil temperature[J]. *Physiol Plantarum*, 2007, **129**(1): 163-174.
- [26] VANLERBERGHE G C, MCINTOSH L. Alternative oxidase: from gene to function[J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, 1997, 48: 703~734.
- [27] WANGER A M. A role for active oxygen species as second messengers in the induction of alternative oxidase gene expression in *Petunia hybrida* cells[J]. *FEBS Lett*, 1995, 368: 339~342.
- [28] MAXWELL DP, WANG Y, MCINTOSH L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96: 8 271-8 276.
- [29] ROBSON CA, VANLERBERGHE G C. Transgenic plant cells lacking mitochondrial alternative oxidase have increased susceptibility to mitochondria-dependent and -independent pathways of programmed cell death[J]. *Plant Physiology*, 2002, 129: 1 908-1 920.
- [30] SONG X S, WANG Y J, MAO W H, *et al.* Effects of cucumber mosaic virus infection on electron transport and antioxidant system in chloroplasts and mitochondria of cucumber and tomato leaves[J]. *Physiologia Plantarum*, 2009, 135: 246-257.
- [31] 李鹏民, 高辉远, STRASSER R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理学与分子生物学学报, 2005, **31**(6): 559-566.
- LI P M, GAO H Y, STRASSER R J. Application of the chlorophyll fluorescence induction dynamics in photosynthesis study [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, **31**(6): 559-566.
- [32] 张 葭, 陈昌盛, 李鹏民, 等. 利用快速荧光、延迟荧光和 820 nm 光反射同步测量技术探讨干旱对平邑甜茶叶片光合机构的伤害机制[J]. 植物生理学报, 2013, **49**(6): 551-560.
- ZHANG D, CHEN C S, LI P M, *et al.* Effects of drought on the photosynthetic apparatus in *Malus hupehensis* leaves explored by simultaneous measurement of prompt fluorescence, delayed fluorescence and modulated light reflection at 820 nm [J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, **49**(6): 551-560.
- [33] 孙 山, 王少敏, 王家喜, 等. 黑暗脱水对‘金太阳’杏离体叶片 PS I 和 PS II 功能的影响[J]. 园艺学报, 2008, **35**(1): 1-6.
- SUN S, WANG S M, WANG J X, *et al.* Effects of dehydration in the dark on functions of PS I and PS II in apricot (*Prunus armeniaca* L. ‘Jin Taiyang’) leaves[J]. *Acta Horticulturae Sinica*. 2008, **35**(1): 1-6.

(编辑: 裴阿卫)