

细胞外 ATP 对低温下菜豆叶片光系统 II 运行及光能分配的影响

焦青松, 冯汉青, 田武英, 孙 坤, 贾凌云*

(西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070)

摘 要: 细胞外 ATP (eATP) 可作为一种重要的胞外分子调节植物的多种生理反应。该研究以菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 品种‘农普 12 号’幼苗叶片为实验材料, 研究了胞外 1.0 mmol/L ATP 溶液对低温下 (10 °C、10 h) 菜豆叶片光系统 II (PS II) 运行及光能分配的影响。结果显示: (1) 低温胁迫 (10 °C、10 h) 对菜豆叶片 PS II 的潜在最大光化学效率 (F_v/F_m) 没有产生显著性影响, 但低温胁迫却降低了叶片的实际光化学运行效率 [$Y(II)$], 同时降低了 PS II 的光化学反应能量 (P), 增加了天线热耗散能量 (D) 和非光化学反应耗散能量 (E), 使叶片胞外 ATP 水平有所下降。 (2) 叶片施加外源 ATP 可以有效缓解低温胁迫下菜豆叶片胞外 ATP 水平的下降, 同时使叶片的实际光化学效率 [$Y(II)$] 和光化学反应能量 (P) 显著上升, 也使天线热耗散能量 (D) 非光化学反应耗散能量 (E) 均显著下降。研究表明, 低温胁迫降低了菜豆叶片 PS II 的光化学运行并增加了光能的耗散, 而在低温胁迫下增加胞外 ATP 水平能够有效提高菜豆叶片光化学反应的运行效率并降低光能的耗散。

关键词: 菜豆; 细胞外 ATP; 低温胁迫; 叶绿素荧光

中图分类号: Q942.5

文献标志码: A

Effects of Extracellular ATP on Operation of Photosystem II and Allocation of Absorbed Light of Bean Leaves under Low Temperature

JIAO Qingsong, FENG Hanqing, TIAN Wuying, SUN Kun, JIA Lingyun*

(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: It has been established that extracellular ATP (eATP) is an important extracellular molecule required to regulate many physiological responses of plants. This study investigates the effects of eATP on the operation of photosystem II and the allocation of absorbed light of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves under low temperature. The results showed that although low temperature did not have significant effect on the potential maximal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), low temperature decreased the values of the effective photochemical quantum yield of PS II [$Y(II)$]. Further works showed that low temperature decreased the fraction of photochemical efficiency (P) but increased the fraction of antenna heat dissipation (D) and excess energy (E). The level of eATP decreased under low temperature. When the application of exogenous ATP alleviated the decreases of the eATP level under low temperature, the values of $Y(II)$ and P were significantly increased, while the values of D and E were decreased. These results indicate that low temperature caused a decrease in the operation of the PS II photochemistry and caused an increase in dissipation of light energy, and eATP could have function in enhancing the performance of PS II photochemistry

收稿日期: 2015-09-12; 修改稿收到日期: 2015-11-13

基金项目: 国家自然科学基金 (31260059; 30900105); 教育部科学技术研究重点项目 (211190); 甘肃省财政厅高校基本科研业务费项目

作者简介: 焦青松 (1987—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事植物生理生化研究。E-mail: jiao.0820@163.com

* 通信作者: 贾凌云, 高级实验师, 在职博士研究生, 主要从事植物生化与分子生物学研究。E-mail: lingyunjia1982@126.com

and decreasing the dissipation of light energy under the condition of low temperature.

Key words: bean; extracellular ATP; low temperature; chlorophyll fluorescence

三磷酸腺苷(adenosine 5'-triphosphate, ATP)通常被认为是存在于细胞内的“能量货币”分子。而近年来的研究发现,动物和植物细胞可以将胞内的部分 ATP 释放到细胞外基质中,从而使得细胞外也存在着 ATP,即胞外 ATP(extracellular ATP, eATP)^[1]。进一步的研究表明,尽管 eATP 不能自由穿过细胞膜^[2],但是细胞膜上存在着 eATP 的受体蛋白^[1,3-4]。而另有研究发现,eATP 可作为一种信号分子通过跨膜受体蛋白的介导作用使得细胞内部产生第二信使,如细胞自由 Ca^{2+} 、活性氧和一氧化氮等^[5-7],从而诱导特定基因和蛋白质的表达^[2,8]。此外,植物许多重要的生理学反应,如细胞活力^[3]、生长发育^[9-10]、抗病反应^[11-13]和细胞程序性死亡^[14]等也受到了 eATP 的调节或影响。

光合作用是植物生长发育的基础,其初始步骤是吸收光能并将其传递到光系统 II (PS II)以驱动植物的光合作用,因而 PS II 的光化学运行是植物进行光合作用的先决条件,其效率高低直接影响着植物光合作用水平^[15]。而在自然环境中,植物光化学反应经常遭受各种外界因素影响。其中,低温就是影响植物 PS II 光化学运行和光能分配等反应最为常见的环境因素之一^[16-17]。尽管 eATP 可作为一种细胞外信号分子参与植物诸多生理学反应的调节,但目前关于 eATP 对植物 PS II 光化学运行和光能分配影响的研究较少,而在低温下 eATP 对植物光化学反应影响更是未见报道。叶绿素荧光技术是反映光合机构 PS II 运行以及光能吸收利用情况的一种灵敏技术^[18-19]。鉴于此,本试验以蚕豆幼苗为材料,利用叶绿素荧光技术研究和探讨了 eATP 在低温下对植物 PS II 光化学运行和光能分配的影响,进一步丰富对植物 eATP 的生理学角色以及对光合作用调控机理的认知。

1 材料和方法

1.1 材料培养

供试菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)品种为‘农普 12 号’,种子由广州市农业科学院提供。菜豆种子先用 2%次氯酸钠表面消毒 20 min 并用蒸馏水充分冲洗,然后置于铺有蒸馏水浸湿的多层纱布中。待种子萌发后移栽到塑料盆钵中,每盆 1 株。培养基质为营养土、蛭石、珍珠岩的混合物(比例 3:1:

1)。培养室的昼/夜温度为 25 °C/20 °C,光照强度为 $(200 \pm 5) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光周期为 12 h 光照/12 h 黑暗。每天浇水 1 次保持表层培养介质湿润,直至第 1 对真叶完全展开后进行试验处理。

1.2 材料处理

选取长势一致的菜豆幼苗作供试材料。采用去离子水配制浓度为 1.0 mmol/L 的 ATP 溶液(pH 6.7),对照组用去离子水处理。选用 1 mL 注射器吸取以上 ATP 溶液和等量的去离子水,以无针头注射法^[3]对菜豆叶片进行注射。将上述处理后的部分植株在 10 °C 下放置 10 h 以进行低温处理;另将用等量去离子水或 1.0 mmol/L ATP 溶液注射的部分植株于 25 °C 下放置 10 h 作为常温对照。低温处理组和常温组除了温度不同外其它生长条件均保持一致。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 叶绿素荧光参数 叶绿素荧光参数参照 Demmig-Adams 等^[18]的方法在培养室内使用叶绿素荧光仪 IMAGING-PAM(Walz, Germany)进行测定,空气相对湿度 50%,温度 $(23 \pm 3) ^\circ\text{C}$ 。测定前对每组供试材料均暗适应 30 min(以黑布遮挡防止外部光干扰)。首先用弱测量光测定暗适应下初始荧光(F_0),然后给一个饱和脉冲光($6000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,脉冲时间为 0.8 s),测得暗适应下最大荧光(F_m);打开光化光($500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)待荧光稳定后测得稳定荧光(F_s),再打开饱和脉冲测得光适应下最大荧光(F_m')。关闭光化学光,同时打开远红光,测量光适应下最小荧光(F_0')。每组实验重复测量 4 次。根据以上数据计算暗适应下可变荧光($F_v = F_m - F_0$)、光适应下可变荧光($F_v' = F_m' - F_0'$)、暗适应下 PS II 潜在最大光化学效率(F_v/F_m)、光适应下 PS II 实际光化学效率 $[Y(\text{II}) = (F_m' - F_s)/F_m']$ 。同时,参照 Demmig-Adams 等^[18]方法计算 PS II 吸收光能分配百分率:光化学反应的能量 $P = (F_v'/F_m') \times (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$;天线色素耗散的能量 $D = 1 - (F_v'/F_m')$;非光化学反应耗散的能量 $E = [1 - (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')] \times (F_v'/F_m')$ 。

1.3.2 相对电导率 电导率用 DDS-11A 型电导仪测定,参照宋良图等^[20]描述的方法进行。将叶片在去离子水中浸泡 30 min 后第 1 次测得电导率记为

R_1 ,然后沸水浴 30 min 冷却至室温第 2 次测得电导率记为 R_2 ,相对电导率 $R=R_1/R_2$ 。每组实验重复测量 3 次。

1.3.3 胞外 ATP 水平 胞外 ATP 水平采用荧光素酶发光法测量:荧光素与 ATP 在荧光素酶的催化作用下产生反应,发光强度与 ATP 浓度呈正比。将荧光素和荧光素酶的混合物 (Sigma-Aldrich, USA) 配制饱和溶液,用无针头注射法注射到各组不同处理的叶片中;以灭活的荧光素和荧光素酶混合物的注射作为对照,参照 Chivasa 等^[11]描述的方法检测 ATP 依赖的光释放强度,每组实验重复测量 4 次。将对照叶片的光释放强度设为 1.0,并相应计算其他处理组的胞外 ATP 水平。

1.4 数据分析

数据用 Origin 9.0 统计软件计算出平均值和标准偏差($n-1$),进行显著性检验并绘图。

2 结果与分析

2.1 低温和 ATP 处理后菜豆叶片电导率和光系统 II 运行的变化

相对电导率是表征低温对植物影响的重要指标。菜豆幼苗叶片在短时低温处理(10 °C, 10 h)后相对电导率较之常温对照显著上升了大约 50%,说明该低温处理已经对菜豆叶片造成了明显胁迫伤害(图 1, A)。为了研究低温下菜豆叶片相对电导率的变化是否受到了细胞外 ATP 的影响或调节。我们用 1.0 mmol/L ATP 溶液分别对常温或低温下的叶片进行了处理。与常温对照相比,施加 ATP 并未对常温下菜豆幼苗叶片相对电导率造成显著性影响,但能够明显缓解低温所导致的叶片相对电导率的上升(图 1, A)。表明了外源 ATP 能够明显减轻低温对叶片所造成的胁迫伤害。

同时,PS II 潜在最大光化学效率(F_v/F_m)反映了植物叶绿体 PS II 潜在最大光合作用能力^[21-22]。与常温对照和去离子水对照相比,单独的低温处理和 ATP 处理均未对菜豆幼苗叶片 F_v/F_m 产生显著性影响;而较之低温处理的叶片,在低温下外加 1.0 mmol/L ATP 可以使得菜豆叶片的 PS II 潜在最大光化学效率(F_v/F_m)略有上升,但影响不显著(图 1, B)。

另外, $Y(II)$ 反映了光下 PS II 的实际光化学运行效率。由图 1, C 可知,低温导致了叶片 $Y(II)$ 的下降,并与对照(常温下的叶片)相比显著降低了 13.79%,说明低温引起了叶片 PS II 光化学运行效率的降低。与常温对照相比,施加 ATP 并未对常

温下菜豆幼苗叶片的 $Y(II)$ 造成显著性影响,然而却使低温下叶片 $Y(II)$ 显著性上升(与单独低温处理的叶片相比上升约 29.6%),明显缓解了低温所导致的 $Y(II)$ 的下降(图 1, C)。表明外源 ATP 能够明显提高低温下菜豆幼苗叶片 PS II 的实际光化学运行效率。

2.2 低温和 ATP 处理后菜豆叶片光能分配的变化

植物将吸收光能分配为三部分:一部分为用于光化学反应的能量(P);第二部分为通过天线色素耗散的能量(D);第三部分为通过非光化学反应耗散的能量(E)^[18]。本研究结果(图 2)显示,在低温处理后,菜豆叶片吸收的光能用于光化学反应的能量(P)减少(与对照相比降低了 36.59%);而用于天线色素耗散的能量(D)和非光化学反应耗散的能量

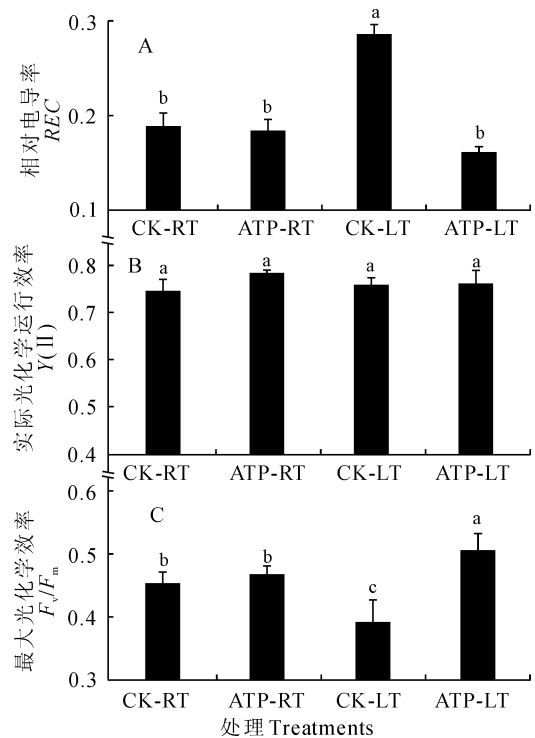


图 1 不同处理对菜豆叶片相对电导率、PS II 潜在最大光化学效率和实际光化学运行效率的影响
CK-RT 和 ATP-RT 分别代表常温下去离子水和 ATP 溶液处理的叶片,而 CK-LT 和 ATP-LT 分别代表低温下去离子水和 ATP 溶液处理的叶片(平均值±标准偏差, $n=4$)。图中不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异;下同
Fig. 1 The effects of different treatments on the relative electric conductivity, F_v/F_m and $Y(II)$ in bean leaves
CK-RT and ATP-RT stand for the leaves treated with water or ATP under 25 °C, while CK-LT and ATP-LT stand for the leaves treated with water and ATP at low temperature(10 °C) (mean±SD, $n=4$); Different letters showed significant difference among treatments at 0.05 level; the same as below

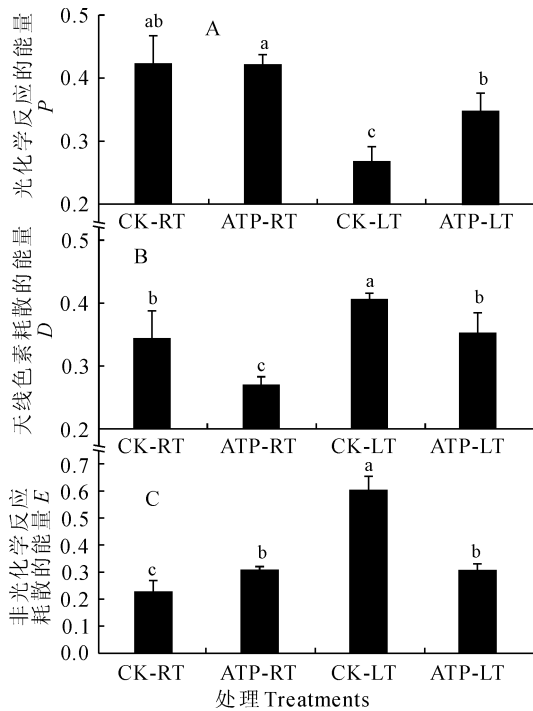


图2 不同处理对菜豆叶片用于光化学反应的能量、通过天线色素耗散的能量和非光化学反应耗散的能量影响

Fig. 2 The effects of different treatments on P , D and E in bean leaves

(E)则上升,并以 E 在低温下的上升更加明显。在常温条件下,施加 1.0 mmol/L ATP 未对叶片 P 值产生显著性影响,但导致了其 D 值的显著性下降和 E 值的显著性上升。在低温条件下,外加 1.0 mmol/L ATP 也改变了叶片光能的分配比例。与单独低温处理的叶片相比,外源 ATP 使得低温下叶片 P 显著增加了 29.6%,而使得 D 和 E 分别显著下降了 12.9%和 49.4%(图 2)。以上结果表明低温胁迫下菜豆叶片用于光化学反应的光能比例显著降低,而使得更多的光能被耗散掉;外源 ATP 能够明显提高低温下植物叶片用于光化学反应的光能比例,同时有效减少光能的耗散量。

2.3 低温和 ATP 处理后菜豆叶片细胞外 ATP 相对水平的变化

为了进一步明确低温下菜豆叶片光系统 II 运行及光能分配的变化是否受到了细胞外 ATP 的影响或调节,试验利用荧光素酶技术检测了低温和 ATP 处理后菜豆叶片细胞外 ATP 相对水平的变化。结果(图 3)显示,在常温条件下,对叶片施加 1.0 mmol/L ATP 溶液使得细胞外 ATP 水平有所上升,但未达到显著性差异;在低温处理条件下,菜豆叶片细胞外 ATP 的水平比常温下显著性降低,而

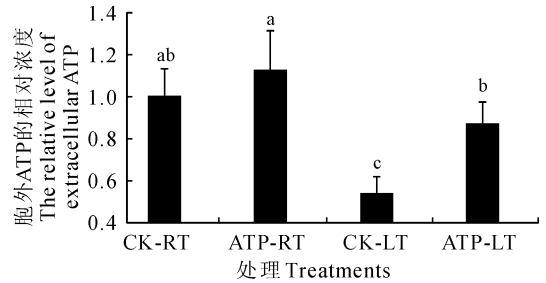


图3 不同处理对菜豆叶片用于细胞外 ATP 相对水平的影响

Fig. 3 The effects of different treatments on eATP in bean leaves

外源 1.0 mmol/L ATP 的加入使得低温下细胞外 ATP 水平的降低得到了有效缓解,并回到了与常温对照相当水平。可见,低温显著降低菜豆叶片细胞外 ATP 水平,施用外源 ATP 能调节低温下细胞外 ATP 水平恢复至常温状态。

3 讨论

有研究表明,低温胁迫可以通过降低 PS II 的容量或抑制 PS II 在光下的运行效率而抑制叶片的光化学反应^[23-27]。本研究观察表明,在 10 °C 下 10 h 低温处理后,菜豆叶片 PS II 的 F_v/F_m 并没有发生明显变化,但叶片的 $Y(II)$ 值显著性下降。这一观察表明,这一短期的轻度低温胁迫虽然未改变 PS II 的容量,但抑制了 PS II 在光下的运行。而光能分配比例的测量则说明了低温使得菜豆叶片投入于光化学反应的能量降低,而将更多的能量以非光化学反应耗散掉。

以前的研究多从细胞内部的生理学变化来阐明低温下 PS II 运行以及光能分配比例变化的原因。如众多的研究发现,低温导致了活性氧的上升,增加的活性氧使得 PS II 中的功能蛋白受到了氧化损伤,从而导致了叶片 PS II 运行效率以及用于光化学反应的光能比例下降^[28-29]。而是否低温下 PS II 运行以及光能分配比例变化也和细胞外生理学事件有关则未见报道。基于此,本研究探讨了细胞外 ATP 对低温下菜豆叶片光系统 II 运行及光能分配的影响。观察表明,菜豆叶片细胞外 ATP 的水平在低温下有所下降。植物的胞外 ATP 来自于细胞质。呼吸作用是细胞质 ATP 的主要来源(光合电子传递也产生大量的 ATP,但光合电子传递产生的 ATP 一般只用于叶绿体内部,较少向细胞质输送;而胞外 ATP 来自于细胞质),而低温能够降低植物呼吸底物的供应^[30]。故而猜测低温是通过降低细

胞内 ATP 的产生而降低了细胞外 ATP 的水平。

通过测量常温下外源施加 ATP 对菜豆叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、 $Y(II)$ 、 P 、 D 以及 E 影响(图 1、2),发现 ATP 在常温下不会改变 PS II 的容量和 PS II 在光下的正常运行,但可以改变光能的耗散方式,使得更多的光能通过非光化学反应耗散。作者最近的研究发现对植物细胞施加 ATP 可以刺激线粒体呼吸的活性,而线粒体呼吸活性的上升已经被证明是一种重要的非光化学反应的光能耗散机制^[31-33]。故而推测在常温下对叶片施加 ATP 是通过刺激线粒体呼吸的活性而改变光能的耗散方式。

通过进一步测量外源 ATP 对低温下菜豆叶片细胞外 ATP 水平、光系统 II 运行及光能分配的影响,发现低温下胞外 ATP 的回升可以提高低温下菜豆叶片的实际光化学效率和叶片用于光化学反应的光能比例,并同时减少两种形式的非光化学光能耗散,而使得植物将更多的光能用于光化学。Chivasa 等^[2]的研究表明,植物细胞外 ATP 水平下降导致了烟草叶片中 PS II 相关蛋白表达水平的下降。因此,外源 ATP 的加入很可能是通过缓解低温下

细胞外 ATP 水平的降低而缓解了 PS II 相关蛋白表达水平的下降,从而提高了低温下菜豆叶片的实际光化学效率和叶片用于光化学反应的光能比例,并同时减少两种形式的光能耗散。以上的观察结果提示,低温下植物叶片 eATP 的变化可能是调节菜豆幼苗光化学反应和光能耗散方式的重要机制之一。

由于 ATP 具有较高的极性,其不可能自由穿过细胞膜而进入细胞内部^[33],但是,已有研究揭示外源 ATP 能够导致植物细胞中 Ca^{2+} 含量的上升^[6,34]。同时,也有研究发现,内囊体中可以通过接受 Ca^{2+} 而促进光合电子传递链的形成^[35-36]。因此,细胞外 ATP 很可能是通过 Ca^{2+} 而影响了 PS II 的光化学反应。其具体机制有待于进一步研究确认。

如何缓解低温胁迫对植物的伤害一直是人们亟待解决的问题。利用外源物质进行处理是目前提高植物对逆境耐性的简便、有效、可行的方法之一^[37]。鉴于本研究所观察到的外源 ATP 对植物在低温下光化学的提升作用,外源 ATP 或其类似物有可能为利用外源化学物质提高植物耐寒性提供一定的参考和借鉴。

参考文献:

- [1] CHOI J, TANAKA K, CAO Y, *et al.* Identification of a plant receptor for extracellular ATP[J]. *Science*, 2014, **343**(6 168): 290—294.
- [2] CHIVASA S, SIMON W J, MURPHY A M, *et al.* The effects of extracellular adenosine 5'-triphosphate on the tobacco proteome[J]. *Proteomics*, 2010, **10**(2): 235—244.
- [3] CHIVASA S, NDIRIMBA B K, SIMON W J, *et al.* Extracellular ATP functions as an endogenous external metabolite regulating plant cell viability[J]. *The Plant Cell Online*, 2005, **17**(11): 3 019—3 034.
- [4] SONG C J, STEINEBRUNNER I, WANG X, *et al.* Extracellular ATP induces the accumulation of superoxide via NADPH oxidases in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2006, **140**(4): 1 222—1 232.
- [5] DEMIDCHIK V, NICHOLS C, OLIYNYK M, *et al.* Is ATP a signaling agent in plants? [J]. *Plant Physiology*, 2003, **133**(2): 456—461.
- [6] DEMIDCHIK V, SHANG Z, SHIN R, *et al.* Plant extracellular ATP signalling by plasma membrane NADPH oxidase and Ca^{2+} channels [J]. *The Plant Journal*, 2009, **58**(6): 903—913.
- [7] FORESI N P, LAXALT A M, TONÓN C V, *et al.* Extracellular ATP induces nitric oxide production in tomato cell suspensions[J]. *Plant Physiology*, 2007, **145**(3): 589—592.
- [8] SUN J, ZHANG C, ZHANG X, *et al.* Extracellular ATP signaling and homeostasis in plant cells[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, **7**(5): 566—569.
- [9] WOLF C, HENNIG M, ROMANOVICZ D, *et al.* Developmental defects and seedling lethality in apyrase AtAPY1 and AtAPY2 double knockout mutants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, **64**(6): 657—672.
- [10] WU J, STEINEBRUNNER I, SUN Y, *et al.* Apyrases (nucleoside triphosphate-diphosphohydrolases) play a key role in growth control in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2007, **144**(2): 961—975.
- [11] CHIVASA S, MURPHY A M, HAMILTON J M, *et al.* Extracellular ATP is a regulator of pathogen defence in plants[J]. *The Plant Journal*, 2009, **60**(3): 436—448.
- [12] RIEWE D, GROSMAN L, FERNIE A R, *et al.* The potato-specific apyrase is apoplastically localized and has influence on gene expression, growth, and development[J]. *Plant Physiology*, 2008, **147**(3): 1 092—1 109.
- [13] CLARK G, TORRES J, FINLAYSON S, *et al.* Apyrase (nucleoside triphosphate-diphosphohydrolase) and extracellular nucleotides regulate cotton fiber elongation in cultured ovules[J]. *Plant Physiology*, 2010, **152**(2): 1 073—1 083.

- [14] SUN J, ZHANG C L, DENG S R, *et al.* An ATP signalling pathway in plant cells: extracellular ATP triggers programmed cell death in *Populus euphratica* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2012, **35**(5): 893–916.
- [15] WIRTZ K W. Non-uniform scaling in phytoplankton growth rate due to intracellular light and CO₂ decline [J]. *Journal of Plankton Research*, 2011, **33**(9): 1 325–1 341.
- [16] HE J (何 洁), LIU H X (刘鸿先), WANG Y R (王以柔), *et al.* Low temperature and photosynthesis of plants [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 1986, **22**(2): 1–6 (in Chinese).
- [17] WU X X (吴雪霞), YANG X CH (杨晓春), ZHU Z W (朱宗文), *et al.* Effects of exogenous 6-BA on photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics and the allocation of absorbed light in eggplant seedlings under low temperature stress [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学报), 2013, **49**(11): 1 181–1 188 (in Chinese).
- [18] DEMMIG-ADAMS B, ADAMS III W W, BARKER D H. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation [J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, **98**(2): 253–264.
- [19] SCHREIBER U, BILGER W, NEUBAUER C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis [M]. Springer Berlin Heidelberg, 1995: 49–70.
- [20] SONG L T (宋良图), SONG G L (宋国良), TAO H ZH (陶汉之). The primary study on cold tolerance of *Brassica napus* cultivars by measuring the electrical conductivity [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 1991, **1**: 46–51 (in Chinese).
- [21] FUKUSHIMA E, ARATA Y, ENDO T, *et al.* Improved salt tolerance of transgenic tobacco expressing apoplastic yeast-derived invertase [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, **42**(2): 245–249.
- [22] PERCIVAL G C, SHERIFFS C N. Identification of drought-tolerant woody perennials using chlorophyll fluorescence [J]. *Journal of Arboriculture*, 2002, **28**(5): 215–223.
- [23] ZHOU J (周 建), YANG L F (杨立峰), HAO F G (郝峰鸽), *et al.* Photosynthesis and chlorophyll-fluorescence of *Magnolia grandiflora* seedlings under low temperature stress [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2009, **29**(1): 136–142 (in Chinese).
- [24] GROOM Q J, BAKER N R. Analysis of light-induced depressions of photosynthesis in leaves of a wheat crop during the winter [J]. *Plant Physiology*, 1992, **100**: 1 217–1 223.
- [25] ANDREWS JR, FRYER MJ, BAKER NR. Characterization of chilling effects on photosynthetic performance of maize crops during early season growth using chlorophyll fluorescence [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, **46**: 1 195–1 203.
- [26] GRAY G R, CAUVIN L P, SARHAN F, *et al.* Cold acclimation and freezing tolerance. A complex interaction of light and temperature [J]. *Plant Physiology*, 1997, **114**: 467–474.
- [27] FRACHEBOUD Y, LEIPNER J. The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature and drought stress [M]. Springer US, 2003: 125–150.
- [28] KAWARAZAKI T, KIMURA S, IIZUKA A, *et al.* A low temperature-inducible protein AtSRC2 enhances the ROS-producing activity of NADPH oxidase AtRbohF [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2013, **1833**(12): 2 775–2 780.
- [29] TYSTJÄRVI E. Photoinhibition of photosystem II [J]. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2012, **300**: 243–303.
- [30] BARTHEL M, CIERAAD E, ZAKHAROVA A, *et al.* Sudden cold temperature delays plant carbon transport and shifts allocation from growth to respiratory demand [J]. *Biogeosciences*, 2014, **11**: 1 425–1 433.
- [31] YOSHIDA K, TERASHIMA I, NOGUCHI K, *et al.* Distinct roles of the cytochrome pathway and alternative oxidase in leaf photosynthesis [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2006, **47**: 22–31.
- [32] YOSHIDA K, TERASHIMA I, NOGUCHI K, *et al.* Up-regulation of mitochondrial alternative oxidase concomitant with chloroplast overreduction by excess light [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2007, **48**: 606–614.
- [33] TANAKA K, GILROY S, JONES A M, *et al.* Extracellular ATP signaling in plants [J]. *Trends in Cell Biology*, 2010, **20**(10): 601–608.
- [34] TANAKA K, SWANSON S J, GILROY S, *et al.* Extracellular nucleotides elicit cytosolic free calcium oscillations in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2010, **154**(2): 705–719.
- [35] WANG W H, CHEN J, LIU T W, *et al.* Regulation of the calcium-sensing receptor in both stomatal movement and photosynthetic electron transport is crucial for water use efficiency and drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, **65**(1): 223–234.
- [36] PETROUTSOS D, BUSCH A, JAN? EN I, *et al.* The chloroplast calcium sensor CAS is required for photoacclimation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *The Plant Cell*, 2011, **23**(8): 2 950–2 963.
- [37] LU X M (陆晓民), SUN J (孙 锦), GUO SH R (郭世荣), *et al.* Effects of exogenous 24-epibrassinolide on the leaf photosynthetic characteristics and polyamines content of cucumber seedlings under hypoxia stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(1): 140–146 (in Chinese).