# 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

孟祥龙, 张子山, 高辉远*, 杨程, 孟庆伟
山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

**摘要:** 本文以黄瓜为实验材料, 研究了不同温度下植物叶片交替氧化酶呼吸途径(AOX途径)对光破坏防御贡献的差异及其机理。结果表明, 低温不仅抑制了AOX途径的活性, 还抑制了"Malate-OAA"穿梭, 导致光合作用产生的过剩还原力NAD(P)H的消耗减少, 低温下抑制AOX途径后没有加重叶片光抑制; 而高温下AOX途径活性的上调有效消耗了通过"Malate-OAA"穿梭机制转运而来的过剩还原力, 缓解了光合电子传递链的过度还原, 并且AOX途径受抑后, 叶片光抑制显著增加。上述结果表明AOX途径在低温下对光破坏防御的贡献受到明显限制, 而在高温下AOX途径的上调增加了其对光破坏防御的贡献。
**关键词:** 黄瓜; 线粒体交替呼吸途径; 低温和高温; 光破坏防御; 水杨基羟肟酸(SHAM)

# Temperature Rise Enhances Photoprotection in Cucumber Leaves via Mitochondrial Alternative Oxidase (AOX) Pathway

MENG Xiang-Long, ZHANG Zi-Shan, GAO Hui-Yuan*, YANG Cheng, MENG Qing-Wei
*State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China*

**Abstract:** The diversity roles of mitochondrial alternative oxidase (AOX) pathway in photoprotection in cucumber leaves under low and high temperatures were studied, and the photoprotection mechanisms of the AOX pathway under different temperatures were also discussed. The results indicated that chilling not only inhibited AOX pathway activity but also inhibited the "Malate-OAA" shuttle, as a result the consuming of excess reducing equivalents via AOX pathway decreased, which limited the capability of photoprotection via AOX pathway under low temperature. While under high temperature, up-regulation of the activity of AOX pathway enhanced the consuming of the excess reducing equivalents from chloroplasts through the "Malate-OAA" shuttle, which alleviated the over-reduction of the photosynthetic electron transport chain. Above all, AOX pathway of cucumber leaves has a more important role in photoprotection under high temperature than under low temperature.
**Key words:** cucumber; mitochondrial alternative oxidase pathway; low and high temperature; photoprotection; salicylhydroxamic acid

植物叶片AOX途径作为叶绿体外的光破坏防御途径, 近年来越来越引起人们的关注。有研究表明, 强光可以诱导植物叶片AOX途径活性上调, 有效消耗通过"Malate-OAA"穿梭途径从叶绿体转运到线粒体内的过剩还原力NAD(P)H, 进而缓解强光对叶片造成的光抑制(Yoshida等2006, 2007)。另外, AOX途径还可以减缓强光下活性氧的产生, 从而减轻活性氧对PSII反应中心修复过程的抑制作用(Zhang等2011)。我们近期的研究表明, AOX途径受抑会造成PSI受体侧过还原, 进而造成光合电子传递链受阻, 影响跨类囊体膜质子梯度的产生, 进而影响紫黄质的去环氧化, 抑制了NPQ的构建(Zhang等2012a), 所以AOX途径可以通过缓解PSI受体侧的过还原, 加速NPQ的构建, 进而起到光破坏防御作用; 此外, 我们前期的研究还表明, AOX途径在强光和弱光条件下都可以起到光破坏防御作用(孟祥龙等2012)。

目前人们对于AOX途径的光破坏防御作用的研究仅仅局限于常温条件下, 而对于低温或者高温下AOX途径是否也同样具有光破坏防御作用目前尚未有人探讨。虽然有研究表明, 长期低温下生长植株的AOX蛋白含量会有所上调(Gonzàlez-

收稿 2012-10-31 修定 2012-12-14
资助 国家重点基础研究发展计划项目(2009CB118500)和高等学校博士学科点专项科研基金项目(20113702110008)。
* 通讯作者(E-mail: gaohy@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8245985)。

Meler等1999), 进而减缓低温下植物体内活性氧的产生(Dufour等2000; Gredilla等2006), 然而这些研究均未涉及低温下AOX途径对光合电子传递和光破坏防御机制的影响。虽然有研究指出高温可以导致AOX途径活性下降(Stewart等1990; Lin和Markhart 1990), 然而还有些研究表明, 在一定的温度范围内, 随着温度的增加, AOX途径活性逐渐升高(Rachmilevitch等2007; Hüve等2011), 因此对于不同的植物来讲, 高温下AOX途径活性的变化存在明显的差异, 而高温对植物AOX途径活性具有怎样的影响目前仍然存在争议。因此, 本研究主要针对低温以及高温对植物叶片AOX途径活性的影响, 探讨不同温度对AOX途径活性的影响是否会干扰其光破坏防御作用, 以及不同温度下AOX途径光破坏防御作用的机制是否存在差异。探明这些问题对于深入理解AOX途径的光破坏防御机制以及不同温度下植物叶片光破坏防御作用的多样性具有重要意义。

黄瓜作为一种常见的保护地栽培品种, 在冬季大棚栽培过程中不可避免地遭受低温胁迫; 而在夏季栽培过程中, 又不可避免地遭受高温胁迫。植物叶片在遭受低温或者高温胁迫时, 叶片光抑制程度比常温条件下更为严重, 有时甚至会造成不可逆的伤害。因此研究不同温度下AOX途径对黄瓜叶片的光破坏防御作用对于黄瓜栽培具有重要的指导意义。本研究使用黄瓜作为试验材料, 探讨了不同温度对AOX途径的影响以及AOX在不同温度下对光合机构光破坏防御的贡献。

## 材料与方法

### 1 植物材料与处理

以黄瓜(*Cucumis sativus* L.) ‘津春4号’为试验材料, 采用盆栽, 每盆一株, 在温室中培养, 整个生长过程按照常规栽培管理, 培养期间昼(14 h)/夜(10 h)温度分别为26~32 ℃/22~28 ℃, 中午最大光强为600 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$左右。培养4周后, 取两叶一心的第2片充分展开叶用于试验。

分别用去离子水(对照组)和2 mmol·L$^{-1}$的水杨基羟肟酸(SHAM)溶液(处理组)在恒温(25 ℃)以及黑暗条件下预处理叶圆片3 h。然后将处理好的叶圆片转移到不同的温度(10、25和40 ℃)下照光3 h (光强600 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$), 使用RTE-211超级恒温水浴(NESLAB, USA)控制温度, 光源为LED灯(上海三澎机电有限公司, 上海)。

### 2 黄瓜叶片交替呼吸速率测定

经过不同处理后, 分别在各自处理温度下测定黄瓜叶片的交替呼吸速率, 以此来反映黄瓜叶片的AOX途径活性。根据孟祥龙等(2012)的方法, 利用OXYTHERM氧电极(Hansatech, 英国), 在各自的处理温度下测定交替呼吸呼吸速率。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), 加入半径0.5 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[$R_{total}$, μmol($O_2$)·m$^{-2}$·s$^{-1}$]。总呼吸速率测定完毕后, 重新在反应杯中加入1.4 mL磷酸缓冲液(pH 6.8)和0.6 mL浓度为100 mmol·L$^{-1}$的SHAM 溶液, 加入叶圆片, 于黑暗中测定叶片的耗氧速率[$R_{SHAM}$, μmol($O_2$)·m$^{-2}$·s$^{-1}$], AOX 途径呼吸速率为: $R_{AOX}=R_{total}-R_{SHAM}$。根据上述方法分别测定不同处理条件下叶片的交替呼吸速率。AOX途径抑制百分比(%)表示黄瓜叶圆片受到2 mmol·L$^{-1}$的SHAM抑制之后, AOX途径活性被抑制的大小所占对照组AOX途径活性大小的比例, 计算公式为$(R_{CK}-R_{SHAM})/R_{CK}$。

### 3 叶绿素荧光和快速叶绿素荧光诱导曲线的测定

采用FMS-2型便携脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测定各种处理后黄瓜叶片叶绿素荧光参数。由FMS-2提供600 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$的作用光。在处理前, 在黑暗下分别测定$H_2O$以及SHAM预处理后暗适应下的最小荧光$F_o$和最大荧光$F_m$。在各温度条件下光照3 h后, 测定叶圆片在稳定状态下的荧光($F_s$), 光适应下的最小荧光$F_o'$和最大荧光$F_m'$。利用上述测定的荧光参数计算光系统II的实际光化学效率(Maxwell和Johnson 2000): $\Phi_{PSII}=(F_m'-F_s)/F_m'$。在不同的温度条件下光照3 h后, 分别测定对照组以及SHAM处理组的$\Phi_{PSII}$, $\Delta\Phi_{PSII}$ (%)为$\Phi_{PSII}$的下降百分比, 表示黄瓜叶片经过SHAM处理后$\Phi_{PSII}$的下降值占对照组$\Phi_{PSII}$的比例, 计算公式为: $\Delta\Phi_{PSII}$(%)=$[(\Phi_{PSII})_{CK}-(\Phi_{PSII})_{SHAM}]/(\Phi_{PSII})_{CK}$。

采用多功能植物效率分析仪M-PEA (Hansatech, 英国)测定经过20 min暗适应后的黄瓜叶片叶

绿素a荧光诱导动力学曲线(OJIP曲线, 饱和脉冲光为5 000 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$)。将获得的OJIP曲线对O点到P点标准化, 标准化后的相对可变荧光公式为: $V_t$=($F_t$–$F_o$)/($F_m$–$F_o$)。从OJIP曲线上可以直接获得如下参数(Srivastava等1998; Strasser 1997): $F_o$, 初始荧光(20 μs); $F_J$, J点荧光(2 ms); $F_m$, 最大荧光, 即P点荧光。通过JIP-test分析OJIP曲线(Strasser和Strasser 1995)得到如下参数: 最大光化学效率$F_v/F_m$=($F_m$–$F_o$)/$F_m$; J点的相对可变荧光, 用来反映光合电子从$Q_A$向$Q_B$的传递速率, 1–$V_J$= 1–($F_J$–$F_o$)/($F_m$–$F_o$)。

为了验证SHAM溶液对黄瓜叶片的光合机构无直接伤害作用, 在黑暗常温条件下用2 mmol·L$^{-1}$的SHAM溶液以及$H_2O$分别预处理黄瓜叶片3 h后, 测定OJIP曲线。如果SHAM处理组与对照组的OJIP曲线无明显差异则表明SHAM溶液不会直接伤害黄瓜叶片光合机构。

将预处理好的叶圆片分别在不同的温度条件下光照3 h, 测定OJIP曲线。Δ$F_v/F_m$ (%)为$F_v/F_m$的下降百分比, 表示黄瓜叶片经过SHAM处理后$F_v/F_m$的下降值占对照组$F_v/F_m$的百分比, 计算公式为: Δ$F_v$/$F_m$(%)=[($F_v/F_m$)$_{CK}$–($F_v/F_m$)$_{SHAM}$]/($F_v/F_m$)$_{CK}$; Δ(1–$V_J$)(%)为1–$V_J$的下降百分比, 表示黄瓜叶片经过SHAM处理后1–$V_J$的下降值占对照组1–$V_J$的百分比, 计算公式为: Δ(1–$V_J$)(%)= [(1–$V_J$)$_{CK}$–(1–$V_J$)$_{SHAM}$]/(1–$V_J$)$_{CK}$。

**4 NADP-苹果酸脱氢酶和NAD-苹果酸脱氢酶的测定**

NADP-苹果酸脱氢酶(NADP-MDH)依据Dutilleul等(2003)的方法测定, NAD-苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)依据Millar和Leaver (2000)的方法测定。25枚处理好的叶圆片(半径0.5 cm)在3 mL预冷的Hepes-KOH提取液(包含10 mmol·L$^{-1}$氯化镁、1 mmol·L$^{-1}$ EDTA、5% PVP、10%甘油、0.05% Triton X-100)中冰浴研磨, 然后于4 ℃下14 000×$g$离心5 min, 所获上清液为酶提取液。NADP-苹果酸脱氢酶的反应液为pH 8.3的Tricine-KOH 缓冲液, 内含150 mmol·L$^{-1}$ 氯化钾、1 mmol·L$^{-1}$ EDTA、2 mmol·L$^{-1}$ 草酰乙酸和0.2 mmol·L$^{-1}$ NADPH; NAD-苹果酸脱氢酶的反应液为pH 8.0 的Bicine-KOH 缓冲液, 内含10 mmol·L$^{-1}$氯化镁、2 mmol·L$^{-1}$草酰乙酸和0.2 mmol·L$^{-1}$ NADH。在一级反应范围内, 以$A_{340nm}$吸光值在每分钟的下降值为NADP-MDH和NAD-MDH的1 个酶活单位。采用UV-2550 型分光光度计(Kyoto,日本)进行比色测定。

## 实验结果

**1 低温、高温以及SHAM处理对AOX途径活性的影响**

低温下叶片AOX途径呼吸速率明显下降, 下降到常温条件下AOX途径呼吸速率的55.7%, 而高温下叶片AOX途径呼吸速率明显上升, 达到常温条件下的155.1% (图1-A)。

SHAM是线粒体AOX途径专一性抑制剂, 被广泛应用于研究植物细胞或完整组织的线粒体与叶绿体之间的关系(Yoshida等2006, 2007; Bartoli等

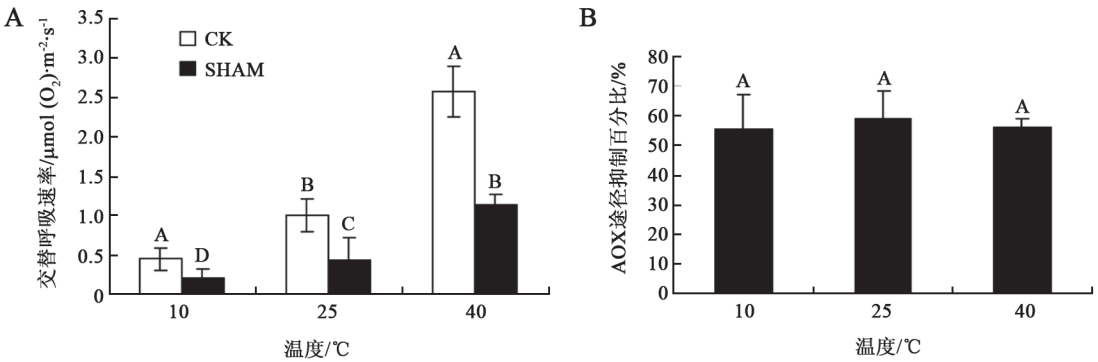


图1 低温和高温对黄瓜叶片交替呼吸速率的影响(A)以及SHAM在不同温度下对AOX途径呼吸速率的抑制作用(占对照的百分比) (B)

Fig.1 The effects of chilling and high temperature on the rate of AOX respiration in cucumber leaves (A) and the inhibition of AOX respiration rate by SHAM under different temperatures (B)

CK: 对照; SHAM: SHAM 处理。每次实验都进行了5次重复, 不同的大写字母表示不同的处理之间存在极显著性差异($P$<0.01)。

2005; Dinakar等2010)。为了证明本研究所使用的2 mmol·L$^{-1}$的SHAM溶液对AOX抑制程度不受实验温度的影响, 我们研究了不同温度下2 mmol·L$^{-1}$ SHAM对AOX的抑制作用。由图1-A可以看出, 虽然随着温度的升高, AOX途呼吸速率升高, 但是2 mmol·L$^{-1}$ SHAM对AOX的抑制也增加, 结果表明, 2 mmol·L$^{-1}$的SHAM在不同温度下对AOX的抑制的百分数是相同的(图1-B)。因此本实验所使用的2 mmol·L$^{-1}$的SHAM是可以用于研究不同温度下对AOX的抑制作用的。

**2 不同温度下AOX途径受抑对黄瓜叶片NADH-苹果酸脱氢酶以及NADPH-苹果酸脱氢酶活性的影响**

依赖于NAD的苹果酸脱氢酶以及依赖于NADP的苹果酸脱氢酶是将叶绿体内过剩还原力通过“Malate-OAA”穿梭途径转运到线粒体内的两个关键酶(Heineke等1991; Scheibe 2004), 其活性可以反映“Malate-OAA”穿梭途径的活性(Yoshida等2006; 2007)。由图2可知, 与常温相比, 低温下NAD-MDH以及NADP-MDH活性均明显下降, 而高温下NAD-MDH以及NADP-MDH活性均无显著变化; 与对照组($H_2O$处理组)相比, 低温下SHAM处理后NAD-MDH以及NADP-MDH活性均没有明显变化, 而常温以及高温下SHAM处理组的NAD-MDH以及NADP-MDH活性则显著下降。这一结果表明, 低温明显抑制了“Malate-OAA”穿梭途径; 而常温以及高温下AOX能够正常进行, 所以当用SHAM抑制AOX途径后, 就会导致常温以及高温下叶片 “Malate-OAA”穿梭途径的反馈抑制。

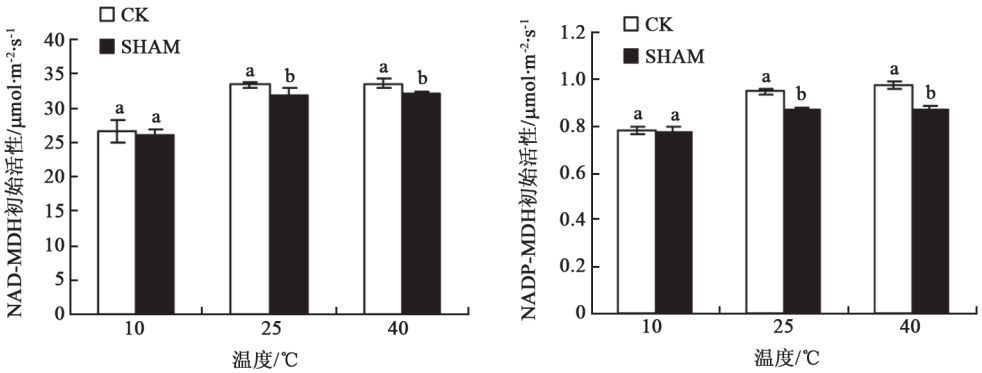


图2 不同的温度条件下2 mmol·L$^{-1}$的SHAM处理后黄瓜叶片后NAD-MDH以及NADP-MDH的初始活性

Fig.2 The NADP-MDH and NAD-MDH initial activities in cucumber leaves treated with 0 (control) or 2 mmol·L$^{-1}$ SHAM under different temperatures

CK: 对照; SHAM: SHAM 处理。每次实验都进行了5次重复, 不同小写字母表示在相同的温度以及光照条件下SHAM处理组与对照组之间存在显著性差异($P$<0.05)。

**3 不同温度下抑制AOX途径对黄瓜叶片OJIP曲线的影响**

低温下, 与对照组相比, SHAM处理后, 叶片OJIP曲线无明显变化, 而在常温下以及高温条件下, SHAM处理后叶片OJIP曲线中J点显著上升, 并且随着温度的增加, SHAM处理后J点的上升程度逐渐增大(图3)。结合JIP-test分析, 我们发现, 低温下, AOX受抑后, 1–$V_J$无明显变化(图4-C), 而在常温以及高温条件下SHAM处理后叶片1–$V_J$显著降低, 并且随着温度的增加, AOX受抑后1–$V_J$的下降程度也逐渐增大(图4-D)。另外, 在常温黑暗条件下, SHAM处理后并没有影响黄瓜叶片的OJIP曲线, 这表明, SHAM溶液不会直接影响黄瓜叶片的光合机构的功能。

上述结果表明, 低温下抑制AOX途径对光合电子传递链没有影响, 而在常温及高温条件下, AOX途径受抑后, 光合电子传递链中电子从$Q_A$到$Q_B$的传递速率明显受抑, 并且随着温度的增加, 其抑制程度逐渐加重。

**4 低温以及高温条件下抑制AOX途径后对光抑制的影响**

低温下SHAM处理后, 叶片$F_v/F_m$与对照组相比无明显变化, 而在常温以及高温条件下SHAM处理后, $F_v/F_m$明显低于对照组, 并且随着温度的增加

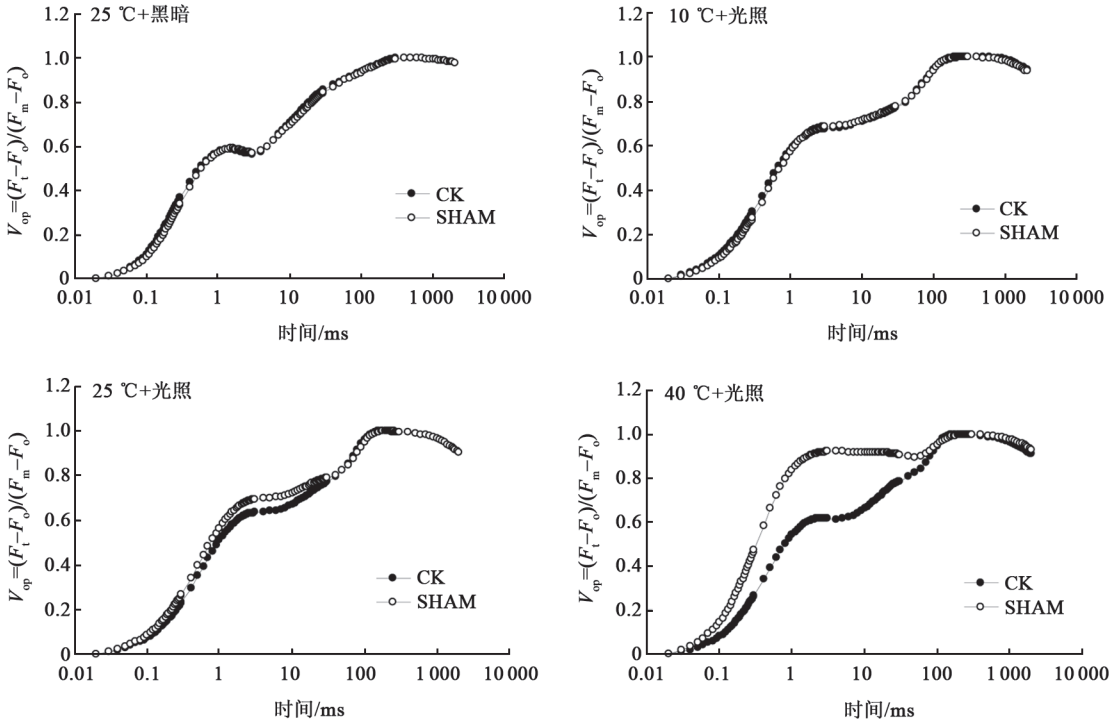


图3 光照以及不同温度和条件下2 mmol·L$^{-1}$的SHAM处理对黄瓜叶片叶绿素a荧光诱导动力学曲线(OJIP曲线)的影响

Fig.3 The changes in the OJIP transients in cucumber leaves treated with 0 (control) or 2 mmol·L$^{-1}$ SHAM under 600 μmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$ light intensity and different temperatures

每次实验都进行了10次重复。

(图4-A), SHAM处理后叶片$F_v/F_m$的下降比例也逐渐增大(图4-B), 说明在高温条件下, AOX途径受抑后显著加重了叶片光抑制。

在相同的光强下$\Phi_{PSII}$的大小与光合电子传递速率直接相关。低温和高温都不同程度的造成了叶片$\Phi_{PSII}$的下降, 而低温下叶片$\Phi_{PSII}$的下降更为明显。低温下, SHAM处理后, 叶片$\Phi_{PSII}$与对照组相比无明显差异, 而在常温以及高温条件下, 经过SHAM处理后, 叶片$\Phi_{PSII}$明显下降(图4-E), 并且随着温度的增加SHAM处理后叶片$\Phi_{PSII}$的下降程度也逐渐增大(图4-F), 说明在高温条件下, AOX途径受抑后显著抑制了光合电子传递。

上述结果表明, 低温下, 抑制AOX途径没有加重叶片的光抑制也没有显著抑制叶片的光合电子传递, 而在常温以及高温条件下AOX途径受抑后, 叶片光抑制明显加重, 并且随着温度的增加AOX途径受抑对光抑制的影响也逐渐增大。这表明低温下叶片AOX途径没有起到显著的光破坏防御作用, 而高温下叶片AOX途径可以起到更明显的光破坏防御作用。

## 讨　论

本研究表明, 在低温条件下黄瓜叶片AOX途径活性受到明显抑制, 而随着温度的增加, AOX途径活性逐渐增加。AOX途径在不同温度下活性的差异不可避免地影响到不同温度下AOX途径对黄瓜叶片的光破坏防御作用。

与常温下相比, 低温下黄瓜叶片的$F_v/F_m$, $1-V_J$和$\Phi_{PSII}$均明显下降, 这表明低温下叶片光抑制情况明显加重。而经过SHAM处理后, 低温下黄瓜叶片OJIP曲线、$F_v/F_m$、$1-V_J$和$\Phi_{PSII}$均没有明显变化(图3和图4), 这表明低温下AOX途径受抑后, 并没有导致$Q_A$到$Q_B$的电子传递进一步受阻, 并且对光合电子传递链也并没有造成进一步的伤害。常温强光条件下, 叶绿体内过剩还原力通过“Malate-OAA”穿梭途径从叶绿体内转运到线粒体内, 而AOX途径的上调可以有效消耗这部分过剩的还原力, 进而促进了叶绿体内过剩还原力的输出, 缓解光抑制(Yoshida等2006, 2007; Zhang等2011, 2012b)。然而低温却明显抑制了AOX途径活性(图1), 这不可

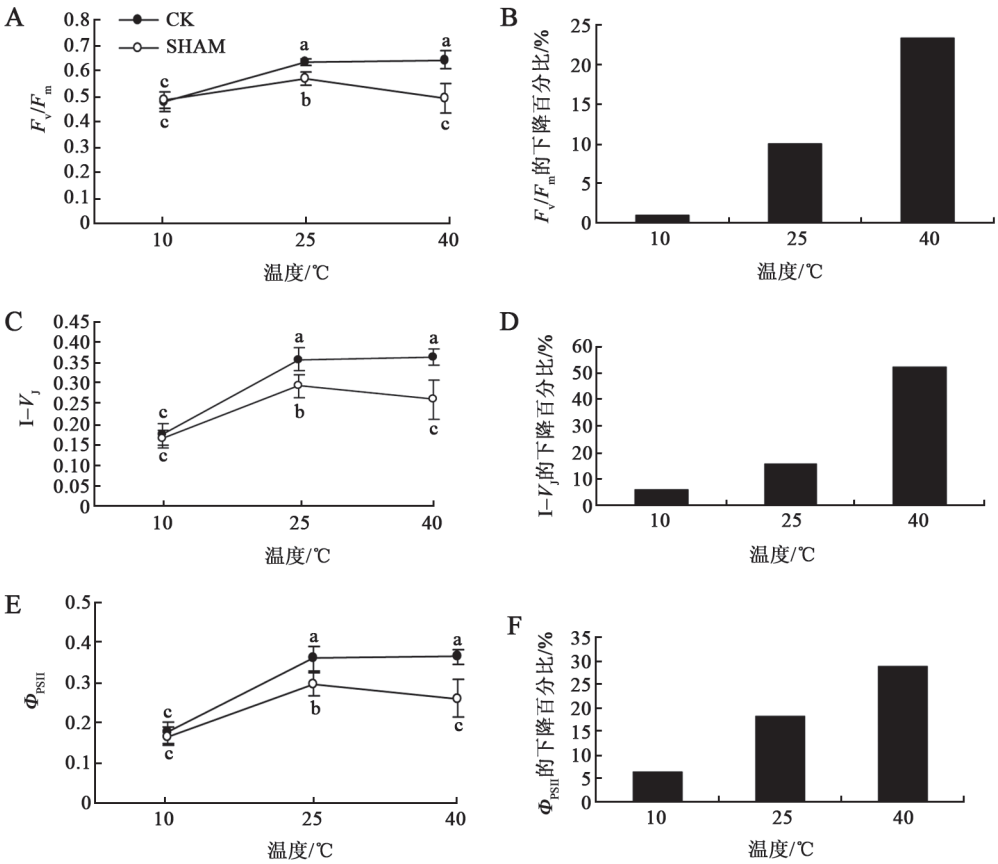


图4 低温和高温条件下SHAM对黄瓜叶片的$F_v/F_m$ (A、B)、$1-V_J$ (C、D)以及$\Phi_{PSII}$ (E、F)的影响

Fig.4 The changes in the $F_v/F_m$ (A, B), $1-V_J$ (C, D) and $\Phi_{PSII}$ (E, F) in cucumber leaves treated with 0 or 2 mmol·L$^{-1}$ SHAM under different temperature

图B、D、F分别表示SHAM处理后, 黄瓜叶片的$F_v/F_m$ (B)、$1-V_J$ (D)以及$\Phi_{PSII}$ (F)的减小比例下降百分比, ●-示对照组, ○-表示SHAM处理组。每次实验都进行了5次重复。

避免的造成了线粒体内还原力的过量积累, 进而反馈影响“Malate-OAA”穿梭过程, 低温下“Malate-OAA”途径的关键酶NAD-MDH以及NADP-MDH活性的下降(图2)证实了这一结论。低温对“Malate-OAA”穿梭过程的抑制作用将不可避免地造成叶绿体内还原力NAD(P)H的过量积累, 进而加剧光抑制。因此, 低温下叶片AOX途径对光破坏防御的贡献受到明显限制, 而这主要是由于低温下较低的AOX途径活性和较低的“Malate-OAA”穿梭活性造成的。

常温以及高温下抑制AOX途径后, OJIP曲线中J点明显升高, 并且随着温度的增加, 升高的幅度逐渐增大(图3), 结合JIP-test分析表明, 常温以及高温条件下AOX途径受抑后, $1-V_J$显著下降, 这表明常温以及高温条件下, AOX途径受抑后造成$Q_A$到$Q_B$的电子传递受阻, 并且随着温度的增加受阻情况也逐渐加剧, 而$Q_A$到$Q_B$的电子传递受阻将不可避免地导致光合电子传递速率下降, 高温以及常温条件下AOX途径受抑后$\Phi_{PSII}$明显下降的结果证实了这一结论(图4)。因此, 常温以及高温条件下AOX途径受抑后$F_v/F_m$显著减小, 并且随着温度的增加, 下降程度逐渐增大, 这表明常温以及高温条件下AOX途径具有明显的光破坏防御作用, 而且高温条件下比常温下AOX途径的光破坏防御作用更显著。这一结果与高温下较高的AOX途径活性相一致。高温下AOX途径活性的上调有效消耗了通过“Malate-OAA”穿梭转运来的过剩还原力, 在常温和高温条件下, AOX途径受抑后, 黄瓜叶片NAD-MDH以及NADP-MDH的活性明显下降的事实表明, AOX途径受抑后, 线粒体内的过剩还原力

消耗的减少反馈抑制了“Malate-OAA”穿梭途径, 造成叶绿体内还原力的输出受阻, 造成光抑制加重。因此, AOX途径在高温下具有更明显的光破坏防御作用。

虽然在高温以及常温条件下, AOX途径受抑后NAD-MDH与NADP-MDH的活性都显著性下降, 但是其下降幅度与AOX途径受抑制程度并不一致, 这可能是因为光照条件下“Malate-OAA”穿梭途径不是唯一参与转运叶绿体内过剩还原力的途径, 可能还存在其他的途径参与输出叶绿体内的NAD(P)H进入线粒体这一过程。但是本实验的结果尚无法阐明这个问题, 还需要进一步的研究。

本研究证明2 mmol·$L^{-1}$的SHAM溶液对黑暗条件下黄瓜叶片的OJIP曲线无影响(图3), 这表明SHAM溶液不会直接伤害植物叶片光合结构, 因此本次实验中SHAM溶液对叶片的影响均取决于对叶片线粒体AOX途径的抑制作用。

综上所述, 由于低温下AOX途径活性和“Malate-OAA”穿梭途径均明显下降, 因此黄瓜叶片AOX途径在低温下对光破坏防御的贡献受到明显限制; 而高温下, 植物叶片AOX途径活性的上调有效消耗了通过“Malate-OAA”穿梭转运的过剩还原力NAD(P)H, 因此高温下AOX途径活性的上调显著提高了AOX途径对光破坏防御的贡献。

## 参考文献


孟祥龙, 张立涛, 张子山, 高辉远, 孟庆伟(2012). 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. 应用生态学报, 23 (7): 1803~1808

Bartoli CG, Gomez F, Gergoff G, Guiamét JJ, Puntarulo S (2005). Up-regulation of the mitochondrial alternative oxidase pathway enhances photosynthetic electron transport under drought conditions. J Exp Bot, 56 (415): 1269~1276

Dinakar C, Raghavendra AS, Padmasree K (2010). Importance of AOX pathway in optimizing photosynthesis under high light stress: role of pyruvate and malate in activating AOX. Physiol Plant, 139 (1): 13~26

Dufour E, Boulay J, Rincheval V, Sainsard-Chanet A (2000). A causal link between respiration and senescence in *Podospora anserina*. Proc Natl Acad Sci USA, 97 (8): 4138~4143

Dutilleul C, Driscoll S, Cornic G, Paepe RD, Foyer CH, Noctor G (2003). Functional mitochondrial complex I is required by tobacco leaves for optimal photosynthetic performance in photorespiratory conditions and during transients. Plant Physiol, 131 (1): 264~275

Gonzàlez-Meler MA, Ribas-Carbo M, Giles L, Siedow JN (1999). The effect of growth and measurement temperature on the activity of the alternative respiratory pathway. Plant Physiol, 120 (3): 765~772

Gredilla R, Grief J, Osiewacz HD (2006). Mitochondrial free radical generation and lifespan control in the fungal aging model *Podospora anserina*. Exp Gerontol, 41 (4): 439~447

Heineke D, Riens B, Grosse H, Hoferichter P, Peter U, Flügge U, Heldt HW (1991). Redox transfer across the inner chloroplast envelope membrane. Plant Physiol, 95 (4): 1131~1137

Hüve K, Bichele I, Rasulov B, Niinemets Ü (2011). When it is too hot for photosynthesis: heat-induced instability of photosynthesis in relation to respiratory burst, cell permeability changes and $H_2O_2$ formation. Plant Cell Environ, 34 (1): 113~126

Lin TY, Markhart AH (1990). Temperature effects on mitochondrial respiratinon in *Phaseolus acutifolius* A. gray and *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiol, 94 (1): 54~58

Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. J Exp Bot, 51 (345): 659~668

Millar AH, Leaver CJ (2000). The cytotoxic lipid peroxidationproduct, 4-hydroxy-2-nonenal, specifically inhibits decarboxylating dehydrogenases in the matrix of plant mitochondria. FEBS Letters, 481 (2): 117~121

Rachmilevitch S, Xu Y, Gonzalez-Meler MA, Huang B, Lambers H (2007). Cytochrome and alternative pathway activity in roots of thermal and non-thermal *Agrostis* species in response to high soil temperature. Physiol Plant, 129 (1): 163~174

Scheibe R (2004). Malate valves to balance cellular energy supply. Physiol Plantarum, 120 (1): 21~26

Srivastava A, Jüttner F, Strasser RJ (1998). Action of the allelochemical, fischerellin A, on photosystem II. Biochim Biophys Acta, 1364 (3): 326~336

Stewart CR, Martin BA, Reding L, Cerwick S (1990). Seedling growth, mitochondrial characteristics, and alternative respiratory capacity of corn genotypes differing in cold tolerance. Plant Physiol, 92 (3): 761~766

Strasser BJ (1997). Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. Photosynth Res, 52 (2): 147~155

Strasser BJ, Strasser RJ (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. In: Mathis P (eds). Photosynthesis, From Light To Biosphere. 2nd ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 977~980

Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2006). Distinct roles of the cytochrome pathway and alternative oxidase in leaf photosynthesis. Plant Cell Physiol, 47 (1): 22~31

Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2007). Up-regulation of mitochondrial alternative oxidase concomitant with chloroplast overreduction by excess light. Plant Cell Physiol, 48 (4): 606~614

Zhang LT, Gao HY, Zhang ZS, Xue ZC, Meng QW (2012a). Multiple effects of inhibition of mitochondrial AOX pathway on photosynthetic machinery in *Rumex* K-1 leaves. Biol Plant, 56 (2): 365~368

Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Meng XL, Yang C, Liu JG, Meng QW (2012b). The mitochondrial alternative oxidase pathway protects the photosynthetic apparatus against photodamage in *Rumex* K-1 leaves. Plant Biol, 12: 40

Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Xue ZC, Yang C, Meng XL, Meng QW (2011). Mitochondrial alternative oxidase pathway protects plants against photoinhibition by alleviating inhibition of the repair of photodamaged PSII through preventing formation of reactive oxygen species in *Rumex* K-1 leaves. Physiol Plant, 143 (4): 396~407