

渗透胁迫下 *vde* 基因缺失对拟南芥生理特性的影响

张健, 关婧雯, 陈佳昌, 李佳丽, 孙丽娜, 张宜欣, 宋兴舜*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨150040

摘要: 本实验以拟南芥野生型(WT)及 *vde* 基因缺失突变体植株(*npq1-2*)为材料, 分别研究了它们在PEG-6000模拟渗透胁迫过程中叶片的光合作用、叶绿素荧光、呼吸作用、抗氧化酶活性以及生长状况各参数的变化。研究表明, *vde* 基因缺失使拟南芥植株抽薹和开花时间提前, 渗透胁迫条件下, *vde* 基因缺失突变体较野生型萎蔫程度更高, 成活率更低, 净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、最大光化学效率(F_v/F_m)、非光化学淬灭系数(NPQ)低于野生型。呼吸作用受到抑制。而且, *vde* 基因的缺失胁迫下部分抗氧化酶(如SOD、APX和CAT)活性提高。结果初步表明, 渗透胁迫下缺失体的过剩光能不能通过热耗散的方式释放, 致使植株的活力下降。

关键词: *vde* 基因; 渗透胁迫; 拟南芥; 生理响应

Effects of *vde* Gene Deletion on Some Physiological Properties under Osmotic Stress in *Arabidopsis*

ZHANG Jian, GUAN Qian-Wen, CHEN Jia-Chang, LI Jia-Li, SUN Li-Na, ZHANG Yi-Xin, SONG Xing-Shun*

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: In the present study, *vde* gene deletion mutant of *Arabidopsis*, as well as wild-type (Columbia) materials were used to measure photosynthesis, chlorophyll fluorescence parameters (such as net photosynthetic rate, stomatal conductance, maximal photochemical efficiency, non photochemical quenching coefficient), the parameters of the respiration, antioxidant enzyme activity and growth status under PEG-6000 simulated osmotic stress. We found that the deletion of *vde* gene accelerated the bolting and flowering time. Under osmotic stress, *vde* mutant had higher wilting levels, lower survival rate compared with wild type. The net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) and non-photochemical quenching (NPQ) in mutant were lower than that in wild type. Also, its respiration was inhibited to some extents. Moreover, *vde* gene deletion mutant partially increased the activity of antioxidant enzymes (such as SOD, APX and CAT). These preliminary results indicated that the excess energy of deletions can not be released by the way of heat dissipation, resulting in a decline in plant vigor under osmotic stress.

Key words: *vde* gene; osmotic stress; *Arabidopsis*; physiological response

Demmig-Adams等(1987)在高等植物的体内首次证明叶黄素循环的存在。热耗散主要由叶黄素循环和类胡萝卜素(lutein, L)所完成。叶黄素循环是通过环氧化和脱环氧化来发挥作用的一种循环机制, 它由依赖光转化的3个组分组成: 玉米黄质(zeaxanthin, Z)、单环氧玉米黄质(antheraxanthin, A)和双环氧紫黄质(violaxanthin, V) (董高峰等1999)。通过上述三种组分之间的转换, 叶黄素循环可以把由模拟渗透胁迫导致的过剩光能以非辐射能量的方式耗散掉, 以此来保护植物免受光抑制的伤害。当植物产生过剩光能时, V在紫黄质脱环氧化酶(violaxanthin de-epoxidase, VDE)的作用下经脱环氧化作用形成A, 再进一步脱环氧化形成

Z; 与此相反, 在过剩光能减少时, Z通过玉米黄质环氧化酶(zeaxanthin epoxidase, ZEP)的作用环氧化又可以形成A, 再进一步环氧化形成V, 从而完成了热能有效传递与耗散的循环。这一循环避免了叶绿体内过剩光能的积累, 对于精细地调控叶绿体吸收光能的利用与耗散具有重要的作用。*vde* 基因是叶黄素循环的关键酶(孟斌等2008)。现在已经从多种植物中克隆到*vde* 序列, 包括莴苣、小

收稿 2015-08-05 修定 2015-10-19

资助 中央高校基本科研业务费专项资金(DL11EA019、257-2015DA02)、国家自然科学基金(31170569、J1210053)和大学生创新项目。

* 通讯作者(E-mail: sfandi@163.com; Tel: 0451-82191755)。

麦、烟草、拟南芥、水稻、菠菜、枸杞、黄瓜和生姜等(林荣呈等2002; Zhang等2003; Gao等2010; Chen和Gallie 2012; 周小龙2013; 李欣2014; Guan等 2015)。然而目前对于*vde*基因缺失及过表达突变体的表型, 以及生理指标如光合、荧光, 叶黄素组分等方面的研究仍显匮乏。

本课题组近年来以在我国北方干旱及沙漠地区培育优良抗旱性矮生树种为目的, 开展了干旱下矮生灌木欧李叶黄素循环响应机制与调控的研究。初步研究发现叶黄素循环的启动及VDE酶的活性在欧李抗旱中起到重要作用(Song等2011; 尹曠鹏等2011), 本试验研究继续以拟南芥为材料测定*vde*基因缺失下各生理指标变化及其与胁迫的关系, 为后续利用反向遗传学策略研究深入解析欧李*vde*基因的功能奠定基础。

材料与方法

1 植物材料与处理

本实验以培养架中培育的拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)哥伦比亚野生型(Col.)以及*vde*基因缺失体*npq1-2*作为实验材料。突变体种子购自美国Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC)。

使用次氯酸钠溶液对拟南芥种子进行消毒处理, 散播至MS固体培养基中, 封口后放入4 °C冰箱内避光春化2~3 d。光照培养2周后, 将幼苗移栽于蛭石介质中继续培养, 并将装有培养介质的容器浸入MS培养液中。培养条件: 光周期16 h/8 h, 培养架光强100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

将拟南芥分为以下两种处理: (1)对照组: 拟南芥幼苗在MS培养液中正常培养。(2)渗透胁迫处理组: 使用5%的聚乙二醇(PEG-6000)溶液进行干旱环境模拟处理, 每天向培养液中施加一次, 连续处理0、1和2 d (0 d材料为第一次施加前取样)。

2 测定项目与测定方法

2.1 拟南芥生长状况分析

在每天上午9点对不同品种及处理的拟南芥幼苗生长状况进行拍照比对, 分析渗透胁迫及正常状况下拟南芥野生型与*vde*缺失体植株生长状况的区别。

2.2 拟南芥叶片DAB染色分析

称取100 mg DAB·4HCl (存放于-20 °C冰箱),

加入少量磷酸缓冲溶液(pH 7.0), 待药品充分溶解, 加入10 μL TritonX-100 (0.01 %), 最后用磷酸缓冲溶液(pH 7.0)定容至100 mL。

然后根据张秋玉(2012)的方法进行DAB染色。

2.3 拟南芥叶片光合作用参数的测定

采用LCpro+型光合仪测定各处理组功能叶的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)以及胞间二氧化碳浓度(C_i)等。重复3次, 结果取平均值。

2.4 拟南芥叶片叶绿素荧光参数的测定

采用FMS2脉冲式荧光仪, 植物材料暗适应半小时后, 测定各功能叶片的PSII最大光化学效率(F_v/F_m)、非光化学淬灭(NPQ)等。重复3次, 结果取平均值。

2.5 拟南芥叶片呼吸作用参数的测定

根据Atkin等(2002)的方法稍加改动: 将新鲜叶片剪成1 mm×1 mm小块, 迅速加入反应室中, 对呼吸速率进行测定。在未添加任何呼吸抑制剂时, 测得总呼吸速率; 向反应室中加入50 μL SHAM缓冲液(200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 使其终浓度达到5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 用以抑制交替(alternative)途径呼吸速率(Alt); 向反应室中加入100 μL KCN溶液(200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 使其终浓度达到10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 用以抑制细胞色素途径呼吸(Cyt)。

2.6 拟南芥抗氧化酶活性的测定

粗酶液的提取: 称取0.2 g不同处理及品种的拟南芥叶片样品置于研钵中, 分3次加入3 mL预冷的PBS缓冲液(50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.8)以及少量的石英砂, 置于冰浴中研磨。待研磨充分后, 将匀浆移至离心管中, 配平后使用高速冷冻离心机4 °C 15 000×g 离心20 min。取上清液, 冰上放置。上清液即为抗氧化酶粗提液。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽过氧化物酶(GR)的活性根据孙孟超(2013)的方法测定。

实验结果

1 拟南芥缺失*vde*基因在渗透条件下的生长状况

Rissler和Pogson (2001)已经报道过突变体在叶黄素生物合成途径中干扰了很多阶段的完成。如图1所示, 在渗透处理时, WT和*npq1-2*两种幼苗

植株的生长状况相似, 但*npq1-2*幼苗比WT幼苗抽薹时间提前, 叶片更薄, 且分支及茎生叶数目多于野生型(两者数目均约为野生型的2倍, 图1-A和B)。

2 拟南芥缺失*vde*基因在渗透胁迫下叶片活性氧水平的变化

细胞中, H_2O_2 在过氧化物酶等氧化酶作用下, 释放氧, 氧化二氨基联苯胺(DAB), 产生棕褐色沉淀。根据此反应, 可以定性检测在组织特异部位

过氧化物酶的活性。通过使用5% PEG-6000溶液处理渗透条件后, 两种拟南芥叶片的DAB染色结果如图2所示。图片表明, 随着渗透胁迫的加重, 两种拟南芥叶片染色程度均明显加深, 野生型拟南芥叶片的染色程度深于突变体*npq1-2*叶片的染色程度。说明渗透的条件下, 拟南芥野生型与拟南芥*vde*基因缺失体叶片中活性氧水平都显著增加, 但拟南芥*vde*基因缺失体叶片中的活性氧水平要低于野生型叶片中的活性氧水平。

3 拟南芥缺失*vde*基因在渗透胁迫下的光合作用

图3显示的是外施PEG溶液处理0、1和2 d后WT及*vde*基因缺失突变体植株的光合及荧光指标的变化。在未受渗透胁迫下, 两者 P_n 值无显著差异, 但随着时间的延长, 拟南芥突变体与野生型植

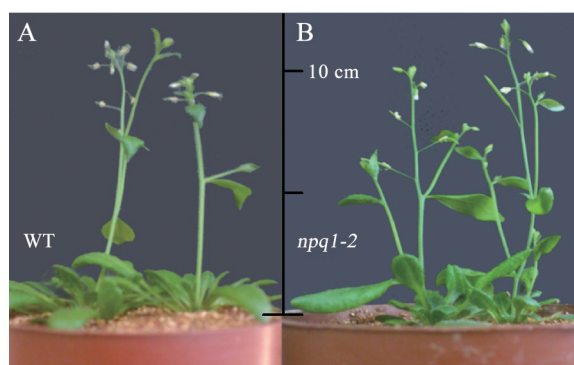


图1 拟南芥野生型(WT)及*vde*基因缺失突变体的生长状况比较

Fig.1 Comparisons of growth situation between *vde* mutants and wild type (WT) in *Arabidopsis*

图A和B均为两种拟南芥抽薹情况和生长情况。

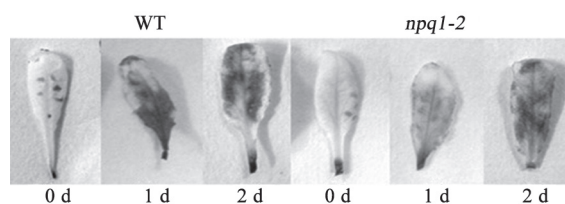


图2 渗透胁迫下拟南芥*vde*缺失突变体叶片ROS的变化
Fig.2 Changes on ROS levels of *vde* mutant in *Arabidopsis* under osmotic stress

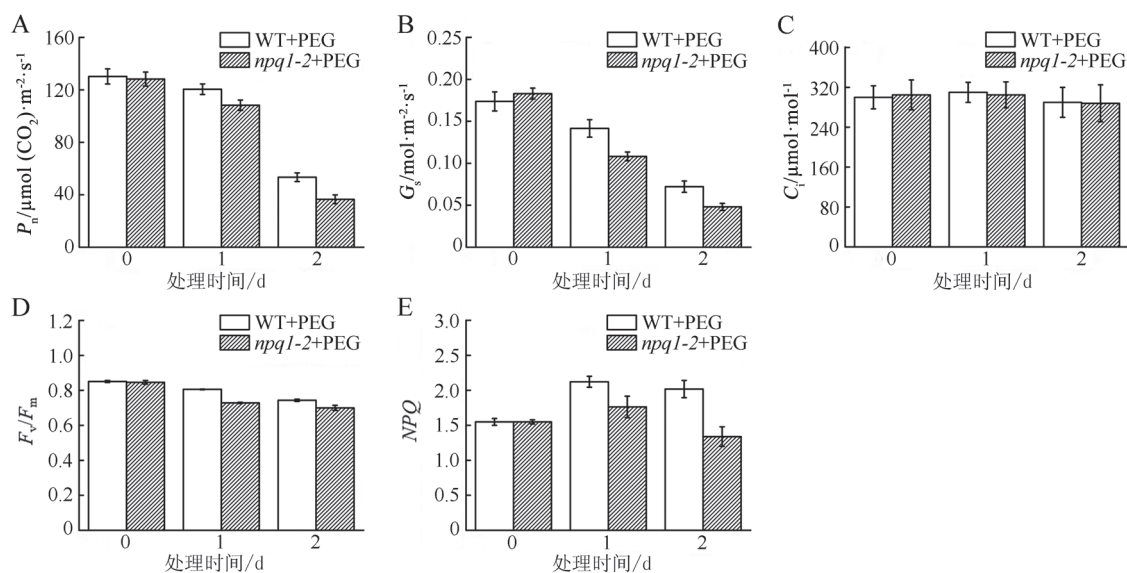


图3 渗透胁迫下拟南芥*vde*缺失突变体光合(P_n 、 C_s 和 C_i)及荧光(F_v/F_m 和 NPQ)指标的变化

Fig.3 Changes on photosynthesis (P_n , C_s and C_i) and fluorescence (F_v/F_m and NPQ)

of *vde* mutants in *Arabidopsis* under osmotic stress

株净光合速率均呈下降趋势, 相同条件的PEG处理情况下, 突变体植株的下降程度要高于野生型, 且随着渗透时间的延长, 下降的越明显, 处理2 d后野生型与突变体分别下降了59.02%和71.78% (图3-A)。说明, 突变体植株明显减慢了光合启动, 且效率降低。在未受渗透胁迫下, 两者 G_s 值无显著差异, 与光合启动趋势相类似, G_s 的启动表现为野生型更快, 气孔导度更大的特点。随着时间的延长, 野生型和突变体植株的 G_s 均呈下降的趋势, 并随着渗透处理时间的增加而持续降低。在未受渗透胁迫时, 拟南芥WT植株的气孔导度(G_s)低于突变体植株的气孔导度。在处理2 d时, 野生型与突变体拟南芥的气孔导度分别下降为初始的58.45%和75.07% (图3-B)。但是, 胁迫下拟南芥野生型与突变体植株的 C_i 值相似且变化不显著(图3-C)。在未受渗透胁迫下, 两者 F_v/F_m 值无显著差异, 但随着时间的延长, 无论是WT还是突变体植株, F_v/F_m 均表现为明显的降低, 但是, 突变体植株的下降程度要高于野生型植株, 2 d渗透处理下, 野生型和突变体植株的 F_v/F_m 分别下降0.86%和1.87% (图3-D), 表明突变体植株对渗透胁迫更敏感。在渗透胁迫下叶片光合作用发生了光抑制现象, 损伤PSII潜在活性中心, 抑制光合作用原初反应过程, 最大光化学效率明显降低, 这种抑制作用在突变体中更显著。

图3-E显示的是外施PEG溶液处理0、1和2 d后WT及 vde 基因缺失突变体植株的 NPQ 的变化, 在未受渗透胁迫下, 两者 NPQ 值无显著差异, 外施PEG溶液处理下, 突变体与野生型拟南芥 NPQ 均呈上升趋势, 突变体与野生型拟南芥相比, NPQ 的值始终低于野生型且差异越来越显著, 1 d和2 d处理下, 突变体 NPQ 的值分别比野生型的减少16.94%

和33.66%。说明热耗散在不断增加, 突变体植株由于突变作用热耗散的增加量严重受阻。

4 拟南芥缺失 vde 基因在渗透胁迫下的呼吸作用

图4所示为外施PEG溶液处理0、1和2 d后WT及 vde 基因缺失突变体植株的呼吸速率的变化。其中, 未受渗透影响时, 野生型拟南芥与突变体拟南芥植株的总光合速率没有明显的区别, 随着渗透时间的延长, 野生型拟南芥呈现不断上升的趋势, 在2 d后总呼吸速率约上升2倍。突变体拟南芥植株总呼吸速率呈现先下降后上升趋势, 1 d处理后总呼吸速率下降17.29% (图4-A)。

与总呼吸速率变化趋势相似, 未受渗透胁迫时, 野生型拟南与突变体植株的细胞色素途径呼吸速率无明显差别, 随着渗透时间的延长, 野生型植株细胞色素途径呼吸速率呈现明显上升趋势, 2 d处理后细胞色素呼吸速率达到2倍以上, 而处理2天内, 突变体植株细胞色素途径呼吸速率变化不显著(图4-B)。野生型拟南芥的交替途径呼吸速率始终高于突变体植株, 在未受渗透胁迫时, 野生型拟南芥与突变体植株的交替途径呼吸速率无显著差异, 随着渗透时间的延长, 野生型拟南芥的交替途径呼吸速率始终高于突变体植株呈先上升后下降的趋势, 1 d处理后, 明显上升49.43% (图4-C)。突变体植株呈缓慢下降趋势, 这种变化趋势可能与呼吸相关酶的活性有关。

5 拟南芥缺失 vde 基因在渗透胁迫下的抗氧化酶活性

图5所示为外施PEG溶液处理0、1和2 d后WT及 vde 基因缺失突变体植株叶片中抗氧化酶活性的变化。在渗透胁迫2 d时间内, 拟南芥野生型叶片中SOD的活性始终无明显差异。而突变体植株在

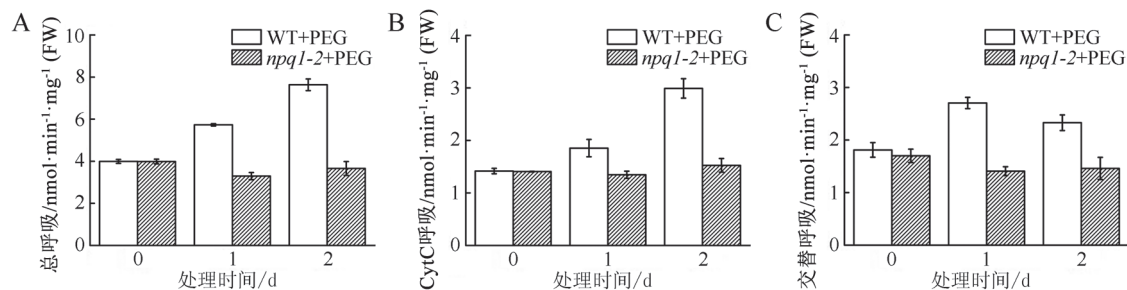


图4 渗透胁迫下拟南芥 vde 缺失突变体呼吸速率参数变化

Fig.4 Changes on respiration parameters of vde mutants in *Arabidopsis* under osmotic stress

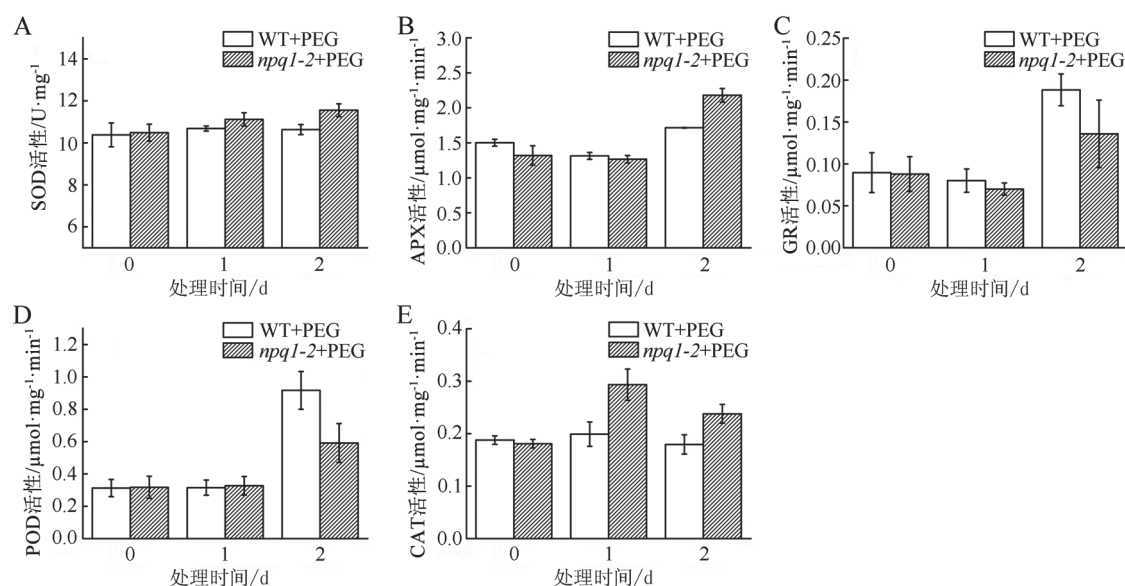


图5 渗透胁迫下拟南芥*vde*缺失突变体抗氧化酶(SOD、APX、GR、POD和CAT)活性的变化
Fig.5 Changes on activity of antioxidant enzymes (SOD, APX, GR, POD and CAT) of *vde* mutants in *Arabidopsis* under osmotic stress

渗透胁迫1 d后SOD活性无明显变化,但在2 d后,SOD活性上升10.27%,在相同的处理时间内,拟南芥野生型叶片中SOD活性始终低于*npq1-2*突变体(图5-A);在渗透胁迫下1 d后,WT和*npq1-2*突变体中APX活性无明显变化,但在胁迫2 d后,APX的活性均出现显著上升,其中突变体APX活性波动相对WT而言上升幅度更大,达到65.20%(图5-B);对于GR,两种拟南芥的GR活性变化极为相似,总体呈先下降后上升的趋势(图5-C);1 d渗透处理下,POD活性在两种拟南芥中均无明显变化,但2 d模拟干旱处理后,WT的POD活性上升3倍以上,而突变体植株也出现显著提高,约为86.17%(图5-D);对于CAT,突变体植株中CAT活性在渗透处理1 d时达到最大值,上升62.33%,随后开始下降。在渗透胁迫期间,WT中CAT活性无显著变化且始终低于*npq1-2*突变体(图5-E)。

讨 论

光能是植物进行光合作用的能量基础,但是当其超过光合机构所利用的量时,植物光合能力将下降,从而产生光合作用的光抑制(许大全1992)。Pastenes和Horton (1996)、Escoubas等(1995)以及Sukenik等(1987)提出一种提高光能利

用率,减少过剩光能的途径,即植物通过提高光合作用能力,调整捕光天线大小,提高电子传递和碳同化能力,提高二磷酸核酮糖羧化酶的含量和活性等方式。目前存在一种被认为是光保护的主要途径的作用,即依赖于叶黄素循环的非光化学耗散作用,而作为该循环的关键酶基因*vde*的表达量自然会引引起作用强度的改变,通过我们的实验研究,更加证实了该基因参与的循环在植物体中的重要作用。但*vde*突变体的分支及茎生叶数目更多(图1-A和B)的原因有待于后续的进一步研究。我们在观察中发现野生型幼苗叶片相对于突变体*npq1-2*幼苗叶片受损程度更轻,表明*vde*基因突变体对模拟渗透的响应更为显著,而且*npq1-2*的成活率更低,表明缺失体生活力下降。DAB染色结果(图2)说明在渗透胁迫下,拟南芥*vde*基因缺失突变体叶片中的过氧化物酶的活性要低于野生型叶片中的过氧化物酶的活性。

在渗透胁迫下,气孔作为植物体与外界进行气体交换的通道,气孔关闭是导致光合速率下降的主要因素(Niinemets等2005)。调节气孔导度是植物对于渗透胁迫最直接最迅速的响应。本实验模拟渗透条件测定了野生型和*npq1-2*突变体的气孔导度变化,结果显示,与光合启动趋势相类似,G_s

的启动表现为野生型更快,气孔导度更大的特点。在植株受到渗透胁迫时,植物生理活动受损,气孔趋于关闭以减少水分散失,植物的光合作用受到抑制(图3-B)。然而,我们观察 C_i 的值并未因渗透胁迫的加深而变化,并且突变体植株始终与WT植株相似(图3-C)。这说明,在光合启动过程中,气孔导度的减少并没有引起 CO_2 供应的不足,为此,我们推测, G_s 的变化并非导致光合启动快慢的原因,这与张西斌(2012)的研究结果一致。本实验研究结果表明在同等胁迫条件下,野生型拟南芥气孔导度都高于 vde 基因缺失突变体(图3-B)。这可能是由于 vde 的基因缺失阻遏了拟南芥的热耗散过程。此外,拟南芥 vde 缺失体对渗透胁迫的应答相较于野生型更为迟缓,光合作用受抑制的程度更高。

本研究中,拟南芥初期渗透处理时 NPQ 的值显著升高(图3-E),说明植物正在以一种热耗散的方式散失掉无法利用的过剩光能,而此方式就可理解为光保护机制(Havaux和Tardy 1996),它可以在水分胁迫下避免光抑制现象。我们前期以欧李为材料测定干旱下叶黄素循环各组分的含量,发现叶黄素循环的启动(即脱环氧化状态升高)与 NPQ 呈显著正相关,而前者的启动对胁迫有一定的缓解作用(Song等2011),这也与Gao等(2010)的结果一致。然而随着渗透时间的延长,及胁迫程度的加重,植物体内开始积累过量的活性氧等物质,这些物质会破坏植物细胞组织及膜透性,导致热耗散能力下降, NPQ 下降。在热耗散能力受到抑制的情况下,经受渗透胁迫的拟南芥突变体PSII反应中心活性受抑制程度要高于野生型,所以突变体 $npq1-2$ 的值要低于野生型拟南芥,说明VDE基因的缺失限制了依赖于叶黄素循环的光的热耗散作用。PSII中最大光化学效率(F_v/F_m)的减少是光抑制的一个重要特征之一(Gao等2010)。野生型和突变体 F_v/F_m 在渗透处理下均减小(图3-D),PSII的光抑制在突变体植株中要比野生型植株中更严重,这与净光合速率的改变是相关的, P_n 在模拟渗透胁迫下明显的减少,并且突变体的减少量要明显多于野生型(图3-A),表明突变体植株与野生型植株相比在渗透条件下PSII更易受到损伤。

我们发现,拟南芥渗透胁迫下野生型植株的

呼吸应答要强于突变体植株,这可能是由于野生型拟南芥植株的气孔导度高于 vde 基因缺失体植株的原因(图3-B),胁迫期间,野生型拟南芥三种呼吸速率都在不断增加(图4),这种变化趋势可能与呼吸相关酶的活性有关。这与肖宜安(2005)研究中先上升后下降的趋势略有不符,原因可能是我们的渗透胁迫时间延续的处理时间较短,所以没有表现出后半部分的减弱过程。

在渗透胁迫中,活性氧清除相关酶的活性必定起到了重要的作用(Apel和Hirt 2004; Asada 2006; 蒋明敏等2012; 沈晓艳等2014; 杨小飞和郭房庆2014),本研究中,PEG导致的渗透至2 d时,多数突变体抗氧化酶活性(SOD、APX和CAT)高于野生型植株(图5),表明在叶黄素循环受阻后,植株启动抗氧化系统以清除过剩光能引进的光氧化,进而降低体内活性氧的水平,这与研究中突变体中活性氧水平较低的结果(图2)相一致。值得一提的是,本研究中胁迫下 P_n 下降的同时(图3-A),部分氧化酶活性表现为升高的趋势(图5),这与我们的处理间隔时间,处理浓度等有关。而且,POD与GR活性下降,推测SOD、APX和CAT活性的升高不足以弥补后者活性的降低,引起ROS水平增加(图2)。较高浓度的ROS直接抑制 CO_2 的固定,导致较低的 P_n 水平(Yamazaki等2003)。类似的结果在棉花(Meloni等2003)、芥菜(Khan等2009)、黑麦草(Hu等2012)、竺麻(Huang等2015)中也有报道。

综上所述,正常条件下, $npq1-2$ 突变体相较于野生型具有更低的气孔导度和净光合速率,其非光化学淬灭系数 NPQ 、PSII反应中心活性、呼吸作用强度均低于野生型,主要的抗氧化酶活性略高或接近于野生型。在渗透胁迫条件下,相比于野生型,拟南芥 vde 基因缺失突变体对模拟渗透的响应具有一定程度的延迟与弱化,对胁迫的耐受性更低。

参考文献

- 董高峰,陈贻竹,蒋跃明(1999). 植物叶黄素循环与非辐射能量耗散. 植物生理学通讯, 35 (2): 141~144
- 蒋明敏,徐晟,夏冰,彭峰,汪仁(2012). 干旱胁迫下外源氯化钙、水杨酸和一氧化氮对石蒜抗旱性的影响. 植物生理学报, 48 (9): 909~916
- 李欣(2014). 黄瓜紫黄质脱环氧化酶($CsVDE$)基因及其启动子克隆和功能分析[学位论文]. 北京: 中国农业大学

- 林荣呈, 李良璧, 匡延云(2002). 水稻紫黄质脱环氧化酶基因的克隆、体外表达及酶促反应. 科学通报, 47 (6): 449-451
- 孟斌(2008). 小麦叶黄素循环关键酶基因的表达与功能分析[学位论文]. 山东泰安: 山东农业大学
- 沈晓艳, 宋晓峰, 王增兰, 蒋春云, 张慧(2014). 植物逆境驯化作用的生理与分子机制研究进展. 植物生理学报, 50 (1): 12-18
- 孙孟超(2013). 盐和干旱胁迫下欧李的生理响应及转录组分析[学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学
- 肖宜安(2005). 濒危植物长柄双花木繁殖生态学与光合适应性研究[学位论文]. 重庆: 西南师范大学
- 许大全(1992). 植物光合作用的光抑制. 植物生理学通讯, 28 (4): 237-243
- 杨小飞, 郭房庆(2014). 高温逆境下植物叶片衰老机理研究进展. 植物生理学报, 50 (9): 1285-1292
- 尹曠鹏, 刘雪梅, 商志伟, 任静, 宋兴舜(2011). 不同干旱胁迫下欧李光合及叶绿体荧光参数的响应. 植物生理学报, 47 (5): 452-458
- 张秋玉(2012). 盐胁迫下番茄玉米黄质环氧化酶基因与光保护关系的研究[学位论文]. 山东泰安: 山东农业大学
- 张西斌(2012). *LeVDE*基因过表达番茄的光合启动和对盐胁迫的响应[学位论文]. 山东泰安: 山东农业大学
- 周小龙(2013). 普通烟草紫黄质脱环氧化酶基因的克隆和功能分析[学位论文]. 郑州: 郑州大学
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55: 373-399
- Asada K (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol*, 141: 391-396
- Atkin OK, Zhang Q, Wiskich JT (2002). Effect of temperature on rates of alternative and cytochrome pathway respiration and their relationship with the redox poise of the quinone pool. *Plant Physiol*, 128: 212-222
- Chen Z, Gallie DR (2012). Violaxanthin de-epoxidase is rate-limiting for non-photochemical quenching under subsaturating light or during chilling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Bioch*, 58: 66-82
- Demmig-Adams B, Winter K, Kruger A, Czygan FC (1987). Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophylls cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiol*, 84: 218-224
- Escoubas JM., Lomas M, Laroche J, Falkowski PG (1995). Light intensity regulation of *cab* genetranscription is signaled by the redox state of plastoquinone pool. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 10237-10241
- Gao S, Han H, Feng HL, Zhao SJ, Meng QW (2010). Overexpression and suppression of violaxanthin de-epoxidase affects the sensitivity of photosystem II photoinhibition to high light and chilling stress in transgenic tobacco. *J Interg Plant Biol*, 52 (3): 332-339
- Guan CF, Ji J, Zhang XQ, Li XZ, Jin C, Guan WZ, Wang G (2015). Positive feedback regulation of a *Lycium chinense*-derived *VDE* gene by drought-induced endogenous ABA, and over-expression of this *VDE* gene improve drought-induced photo-damage in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol*, 175: 26-36
- Havaux M, Tardy F (1996). Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystemII *in vivo*: possible involvement of xanthophylls-cycle pigment. *Planta*, 198: 324-333
- Hu LX, Li HY, Pang HC, Fu J (2012). Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. *J Plant Physiol*, 169: 146-156
- Huang CJ, Wei G, Jie YC, Xu JJ, Zhao SY, Whang LC, Anjum SA (2015). Responses of gas exchange, chlorophyll synthesis and ROS-scavenging systems to salinity stress in two ramie (*Boehmeria nivea* L.) cultivars. *Photosynthetica*, 53 (3): 455-463
- Khan NA, Nazar R, Anjum NA (2009). Growth, photosynthesis and antioxidant metabolism in mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in ATP-sulfurylase activity under salinity stress. *Sci Horti*, 122: 455-460
- Meloni DA, Oliva MA, Martinez CA, Cambraia J (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ Exp Bot*, 49: 69-76
- Niinemetts U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T (2005). Leaf internal diffusion conductance limits photosynthesis more strongly in older leaves of Mediterranean evergreen broad-leaved species. *Plant Cell Environ*, 28: 1552-1566
- Pastenes C, Horton P (1996). Effect of high temperature on photosynthesis in beans. *Plant Physiol*, 112: 1245-1251
- Rissler HM, Pogson BJ (2001). Antisense inhibition of the beta-carotene hydroxylase enzyme in *Arabidopsis* and the implications for carotenoid accumulation, photoprotection and antenna assembly. *Photosynth Res*, 67: 127-137
- Song XS, Shang ZW, Yin ZP, Ren J, Sun MC, Ma XL (2011). Mechanism of xanthophylls-cycle-mediated photoprotection in *Cerasus humilis* seedlings under water and subsequent recovery. *Photosynthetica*, 49 (4): 523-530
- Sukenik A, Wyman KD, Bennett J, Falkowski PG (1987). A novel mechanism for regulating the excitation of photosystem II in a green alga. *Nature*, 327: 704-707
- Yamazaki J, Ohashi A, Hashimoto Y, Negishi E, Kumagai S, Kubo T, Oikawa T, Maruta E, Kamimura Y (2003). Effects of high light and low temperature during harsh winter on needle photodamage of *Abies mariesii* growing at the forest limit on Mt. Norikura in Central Japan. *Plant Sci*, 165: 257-264
- Zhang JJ, Ying J, Chang SH, Li B, Li ZS (2003). Cloning and expression analysis of violaxanthin de-epoxidase (VDE) cDNA in wheat. *Acta Bot Sin*, 45 (8): 981-985