



烟草叶片中呼吸电子传递途径在缓解叶绿体PSII光抑制中的作用

罗蛟, 李玉婷, 张子山*, 车兴凯, 梁英, 李月楠, 李滢, 赵世杰, 高辉远

山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018

摘要 前期研究发现线粒体交替氧化酶(AOX)呼吸途径对叶绿体光系统II (PSII)的光抑制有明显的缓解作用。线粒体内另一条呼吸途径——细胞色素氧化酶(COX)呼吸途径是否也具有光保护作用尚不清楚。该文通过荧光快速诱导动力学和荧光淬灭分析, 解析了烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片中COX途径对PSII光保护的贡献及其与AOX途径的关系。结果表明, 强光处理后PSII活性在所有叶片中均下降。AOX途径受抑明显加速了叶片PSII活性的下降。而当COX途径受抑后, 叶片PSII活性的下降与水处理的对照叶片无明显差异。当AOX途径与COX途径同时受抑时, 叶片PSII活性的下降比单独抑制AOX途径时更严重。此外, 呼吸电子传递受抑均导致叶片非光化学淬灭(NPQ)增加, AOX途径受抑导致的NPQ上调比COX途径受抑时更明显, AOX和COX途径同时受抑时NPQ的增幅最大。上述结果表明, 烟草叶片中COX途径和AOX途径均参与PSII的光保护。当COX途径受抑时, 其光保护功能可以被AOX途径和NPQ补偿, 而AOX途径的光保护作用不能被COX途径和NPQ完全补偿。

关键词 交替氧化呼吸途径, 细胞色素呼吸途径, 非光化学淬灭, 光保护, PSII光抑制

罗蛟, 李玉婷, 张子山, 车兴凯, 梁英, 李月楠, 李滢, 赵世杰, 高辉远 (2020). 烟草叶片中呼吸电子传递途径在缓解叶绿体PSII光抑制中的作用. 植物学报 55, 31–37.

光抑制是指光合放氧及光合机构电子传递效率减弱的现象(陈玮等, 2003; 李天来等, 2016)。植物处于常温强光下时, 光合机构中光抑制主要发生在光系统II (PSII) (张子山等, 2009)。PSII位于光合电子传递链的上游, 强光产生的过多还原力会造成PSII受体侧电子传递链过还原, 导致过剩激发能增加, 生成活性氧, 进而对PSII造成伤害(Pospíšil, 2009)。PSII光抑制的本质是PSII核心蛋白, 尤其是D1蛋白的净降解。D1蛋白在光下时刻处于降解-合成的循环之中, 被称为D1蛋白周转(Aro et al., 2005; Nishiyama et al., 2011)。研究表明, 强光及其它非生物胁迫均通过抑制D1蛋白合成导致D1蛋白净降解, 最终引发PSII光抑制(Takahashi and Murata, 2008; Nishiyama et al., 2011)。为了维持D1蛋白的周转和缓解PSII光抑制, 植物进化出许多光保护机制, 如热耗散(Ruban, 2016)、水水循环(Miyake, 2010)及环式电子传递(薛

娟等, 2017), 而这些光保护途径均存在于叶绿体内。在叶绿体外也存在光保护途径, 目前研究最多的是线粒体内的交替氧化酶(AOX)途径。

在植物线粒体中, 还原力NADH和FADH₂分别通过NADH脱氢酶(复合体I)和琥珀酸还原酶(复合体II)进入呼吸电子传递链并将电子传递至泛醌(Selinski et al., 2018)。泛醌的电子可以通过2条途径传递给氧气生成水(McDonald, 2008; Yoshida et al., 2011): (1) 电子流经复合体III和复合体IV最终通过细胞色素氧化酶(COX)传递给氧气, 期间偶联质子的跨膜运输形成跨膜质子梯度用于ATP的合成; (2) 电子通过AOX途径直接传递给氧气, 期间不偶联跨膜质子梯度和ATP的产生(Yoshida et al., 2011; Selinski et al., 2018)。前人研究表明, AOX途径可以消耗强光下从叶绿体转运至线粒体的过剩还原力, 从而缓解PSII光抑制(Yoshida et al., 2006, 2007; Zhang et al., 2011a)。

收稿日期: 2019-07-01; 接受日期: 2019-11-26

基金项目: 国家自然科学基金(No.31701966, No.31771691)

* 通讯作者。E-mail: zhangzishantaian@163.com

AOX途径被抑制后,苹果酸-草酰乙酸穿梭机制中的NADP-苹果酸还原酶的活性显著下降,植物细胞内的活性氧含量增加,光抑制明显加重(Zhang et al., 2011a)。另有研究表明,光呼吸过程中在线粒体内进行甘氨酸向丝氨酸的转化并产生大量还原力, AOX途径通过消耗这些还原力维持光呼吸运转,避免有毒的光呼吸中间产物积累,从而保护PSII (Watanabe et al., 2016; Zhang et al., 2017)。

虽然AOX途径的光保护作用已被广泛研究,但在线粒体中与AOX途径平行的COX途径是否也具有光保护功能尚不清楚。AOX和COX途径都介导从UQ向下游的电子传递,已有研究表明,抑制AOX和COX都可能影响线粒体内的活性氧和还原力的含量(Siedow and Umbach, 2000; Juszczuk and Rychter, 2003)。然而由于COX途径与跨膜质子梯度的形成及ATP合成相偶联,其速度会受到跨膜质子梯度和ADP不足的限制,因此,推测COX途径不能像AOX途径一样快速消耗还原力,从而起到明显的光保护作用(Selinski et al., 2018)。但是,上述推测一直没有得到验证。此外, AOX和COX途径是平行的电子传递途径,在光保护作用中二者之间的关系也不清楚。

本研究以烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片为材料,利用AOX途径的专一性抑制剂水杨基羟肟酸(SHAM)(Padmasree and Raghavendra, 1999; Bartoli et al., 2005)和COX途径的专一性抑制剂抗霉素A (Yoshida et al., 2006)处理烟草叶片,测定了叶绿素荧光快速诱导动力学曲线并进行叶绿素荧光淬灭分析,系统研究了AOX和COX途径受抑后叶片PSII电子传递活性和光保护途径的变化,旨在探讨AOX途径和COX途径对PSII光保护的贡献及二者之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验设计

烟草(*Nicotiana tabacum* L.)种植于山东农业大学生命科学学院玻璃温室,一盆一株,培养期间光强为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期为14小时光照(18–25°C)/10小时黑暗(15–20°C),水分营养供应充足。烟草刚展开5片叶时,取第3片叶用于实验。

本实验用 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨基羟肟酸(SHAM)专一性抑制AOX途径,用 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A专一性抑制

COX途径。每次实验选用8片烟草叶片,每叶片中央取4个叶圆片,共32个叶圆片,分为4组,每组8片(来自不同烟草叶片)。室温下分别浸泡在去离子水(CK)、 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A溶液(AA)、 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SHAM溶液(SHAM)以及 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SHAM和 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A的混合溶液(SHAM+AA)中,黑暗条件下浸泡3小时。将叶圆片取出,轻轻拭干,重新漂浮于相应浸泡溶液的液面。将漂浮的叶圆片置于室温下,于 $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光下处理3小时,光照由自制白色LED光源提供。分别于处理前,试剂浸泡3小时后,光处理1、2和3小时后测定相关参数。

1.2 烟草叶片的P700⁺弛豫曲线的测定

用Dual-PAM-100 (WALZ, 德国)测定去离子水(CK)和 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A溶液(AA)预处理后的叶圆片在强光处理前的P700⁺弛豫曲线(Wang et al., 2006; Zhang et al., 2011b)。测定前先将叶圆片暗适应30分钟,测量时先照射远红光30秒以诱导P700氧化成P700⁺,在P700⁺含量稳定后关闭远红光, P700⁺逐渐被还原。记录P700⁺的氧化还原动力学曲线。

1.3 叶绿素荧光快速诱导动力学曲线测定

参考李鹏民等(2005)的方法,用Handy PEA (Hansatech, 英国)测定叶片的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)。测定前先将叶圆片暗适应30分钟,测量时照射 $3000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的饱和光,初始测量频率为每秒10万次,照光持续1秒。根据公式计算暗适应下PSII的最大光化学效率。

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

式中, F_o 为初始荧光, F_m 为暗适应下最大荧光, F_v 为可变荧光。

1.4 叶绿素荧光淬灭分析

首先对预处理后、强光处理前的叶圆片进行暗处理30分钟,然后用FMS-2型脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测量暗适应下的最大荧光 F_m ,用于后续参数计算。

按如下方法测定光适应下的荧光参数:首先对光适应的叶圆片照射约 $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的作用光(与处理光光强相同)30秒,测量叶片的稳态荧光(F_s),然后打开饱和光测量叶片光适应下的最大荧光(F_m'),

随后关掉作用光, 打开远红光激发PSI使PSII反应中心完全开放, 测量叶片光适应下的最小荧光(F_o')。根据公式计算如下参数(Maxwell and Johnson, 2000):

PSII的实际光化学效率: $\Phi_{PSII}=(F_m'-F_s)/F_m'$;

光化学淬灭系数: $qP=(F_m'-F_s)/(F_m'-F_o')$;

光适应下PSII的最大光化学效率: $F_v/F_m'=(F_m'-F_o')/F_m'$;

光适应下的非光化学淬灭: $NPQ=(F_m-F_m')/F_m'$ 。

1.5 数据处理

采用Microsoft Excel 2003软件进行数据统计分析。采用Sigmaplot 12软件作图。用SPSS Statistics软件进行方差分析。所有实验数据均为8次重复测定的平均值。

2 结果与讨论

2.1 抗霉素A处理对烟草叶片PSI环式电子传递的影响

本实验以SHAM专一性抑制AOX途径(Padmasree and Raghavendra, 1999; Bartoli et al., 2005), 以 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A抑制COX途径(Yoshida et al., 2006; Watanabe et al., 2016)。较高浓度的抗霉素A可以抑制依赖PGR5的PSI环式电子传递(Joët et al., 2001), PSI环式电子传递受抑后会影响PSII电子传递和光保护(梁英等, 2018)。为了验证 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A对烟草叶片PSI环式电子传递的影响, 我们测定了远红光关闭后P700⁺的弛豫过程。结果显示, $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A处理烟草叶片的P700⁺弛豫与水处理叶片无明显差异(图1), 表明 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A处理并未抑制PSI环式电子传递。

2.2 AOX和COX途径受抑对PSII强光光抑制的影响

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)蕴含着大量PSII活性信息(李鹏民等, 2005)。经不同抑制剂预处理后, 叶片的OJIP均与水处理的叶片无明显差异(图2A), 这表明抑制剂本身对叶片PSII并无伤害。照光1小时后所有叶片的OJIP都发生明显变化, 但变化程度存在明显差异: 抗霉素A处理叶片的OJIP变化程度与水处理叶片类似, 而SHAM处理叶片的OJIP变化

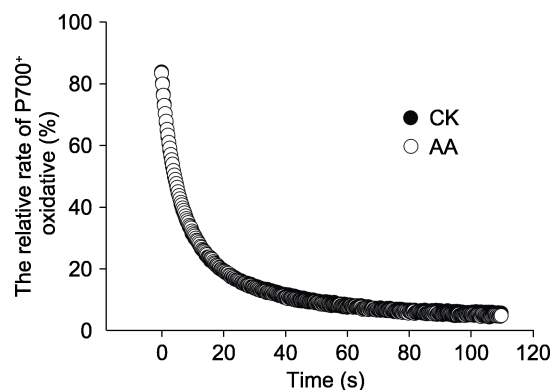


图1 水(CK)以及 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗霉素A (AA)处理对远红光关闭后烟草叶片P700⁺弛豫曲线的影响
所有数值均为8次重复的平均值。

Figure 1 The effect of water (CK) or $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ antimycin A (AA) treatment on the P700⁺ relaxation curve after far-red light in tobacco leaves

All data are the average of 8 replicates.

比水处理叶片更明显, 抗霉素A和SHAM共处理叶片的OJIP变化最明显(图2B)。

PSII暗适应下最大光化学效率(F_v/F_m)下降反映PSII的光抑制程度(李鹏民等, 2005)。随着强光处理时间的延长, 所有叶片的 F_v/F_m 值均逐渐下降(图2C)。相比水处理的烟草叶片, COX途径受抑没有加剧叶片 F_v/F_m 的下降, 但AOX途径受抑后叶片 F_v/F_m 值的下降加剧。COX与AOX途径同时受抑导致的叶片 F_v/F_m 值下降幅度比单独AOX途径受抑更大(图2C)。

2.3 AOX和COX途径受抑对PSII电子传递效率的影响

强光处理后, 水处理和COX途径受抑叶片的PSII实际光化学效率(Φ_{PSII})基本保持稳定, 而AOX途径受抑的叶片 Φ_{PSII} 逐渐下降, 同时抑制AOX途径和COX途径的叶片 Φ_{PSII} 下降更加剧烈(图3A)。

光适应下PSII最大光化学效率(F_v'/F_m')和光化学淬灭系数(qP)分别反映了PSII反应中心的活性和PSII受体侧的开放程度。水处理叶片和COX途径受抑叶片的 F_v'/F_m' 和 qP 均无明显变化, 而AOX途径受抑叶片 F_v'/F_m' 和 qP 则明显下降, 同时抑制COX和AOX途径的叶片 F_v'/F_m' 与 qP 降幅更大(图3B, C)。

2.4 AOX和COX途径受抑对NPQ的影响

非光化学淬灭(NPQ)是PSII最重要的光保护途径之一

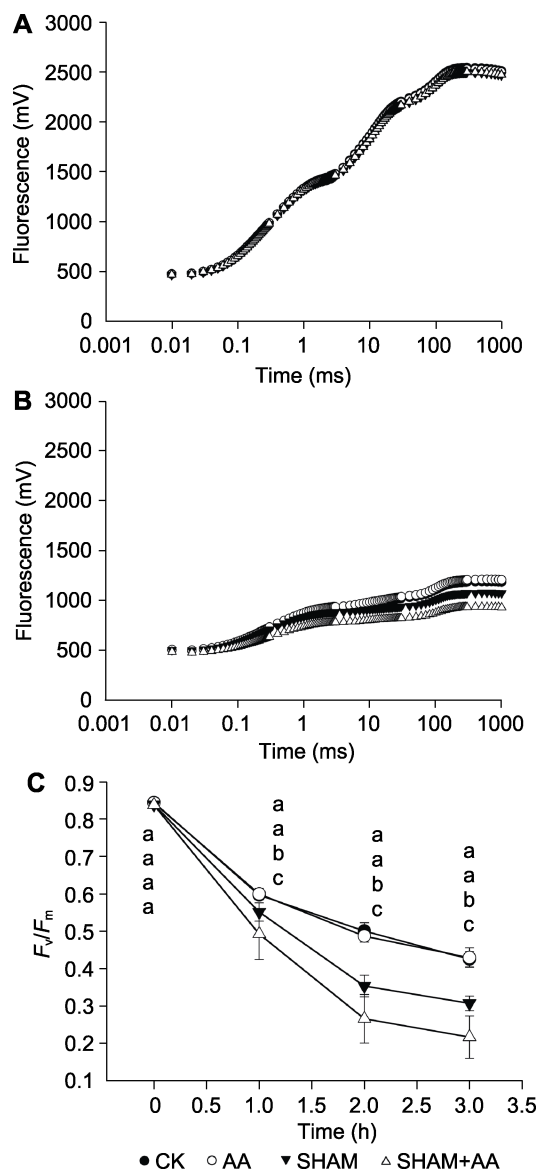


图2 强光处理0 (A)或1小时(B)对不同预处理烟草叶片OJIP曲线的影响以及强光处理不同时间对预处理烟草叶片PSII最大光化学效率(F_v/F_m) (C)的影响

所有数值均为8次重复的平均值。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 The effect of 0 (A) or 1 h (B) high light treatment on the OJIP transients in different pretreated tobacco leaves and the effect of high light treatment on the maximum quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) (C) in different pretreated tobacco leaves

All data are the average of 8 replicates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

(Ruban, 2016)。所有叶片的NPQ均随着光照时间的延长而持续上升。相比水处理, AOX途径受抑和COX

途径受抑都导致NPQ上调, 且前者比后者更明显; AOX和COX途径同时受抑比2条途径分别单独受抑时NPQ的上调幅度更大(图3D)。

2.5 讨论

本研究发现, 与对照组相比, AOX途径受抑后强光下的 F_v/F_m 下降幅度更大, 表明PSII光抑制明显加剧(图2A–C), 这与本实验室以及前人的研究结果一致(Zhang et al., 2011a, 2012a, 2012b; Watanabe et al., 2016)。与AOX途径不同, 当COX途径单独受抑时, 强光下的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 的下降与对照组无明显差异, 这表明PSII光抑制没有明显加剧, PSII电子传递活性没有明显受抑; 而在AOX途径受抑的基础上再抑制COX途径则 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 的下降幅度比单独抑制AOX途径更大, 表明PSII光抑制进一步加剧, PSII电子传递活性的下降也更加明显(图2C, 图3A–D)。而且在本实验条件下, AOX途径受抑时 F_v/F_m 的下降程度与在此基础上再次抑制COX途径所引起的 F_v/F_m 下降加剧程度相近(图2C)。这表明叶片中COX途径与AOX途径都发挥光保护功能。二者的主要区别是当COX途径受抑时AOX途径可以补偿COX途径, 而COX途径对AOX途径则没有明显的补偿作用, AOX在光保护中的作用可能比COX途径更重要。

传统观点认为, COX途径由于受跨膜质子梯度和能荷平衡的限制, 其活性不能通过大幅上调来快速消耗还原力, 因此COX途径不发挥主要的光保护功能(Selinski et al., 2018)。然而本研究结果不支持这一猜测。事实上, 当植物进行光合作用时, 线粒体中的糖酵解和TCA循环很弱, 产生的还原力很少(Nunes-Nesi et al., 2007; Tcherkez et al., 2008)。此时无论是AOX途径还是COX途径消耗的还原力均来自叶绿体, 所以, 虽然COX途径的活性不像AOX途径那样大幅上调, 但COX途径仍然消耗了可观的还原力, 因此, 也具有一定程度的光保护作用。

由于人们一直认为COX途径不起光保护作用, 对COX途径参与光保护作用的机理知之甚少。然而, AOX途径和COX途径是介导电子从UQ传递到氧气的2条平行途径(McDonald, 2008; Yoshida et al., 2011), 我们推测AOX和COX途径参与光保护的机制可能类似。COX可能通过2条途径参与PSII光保护:

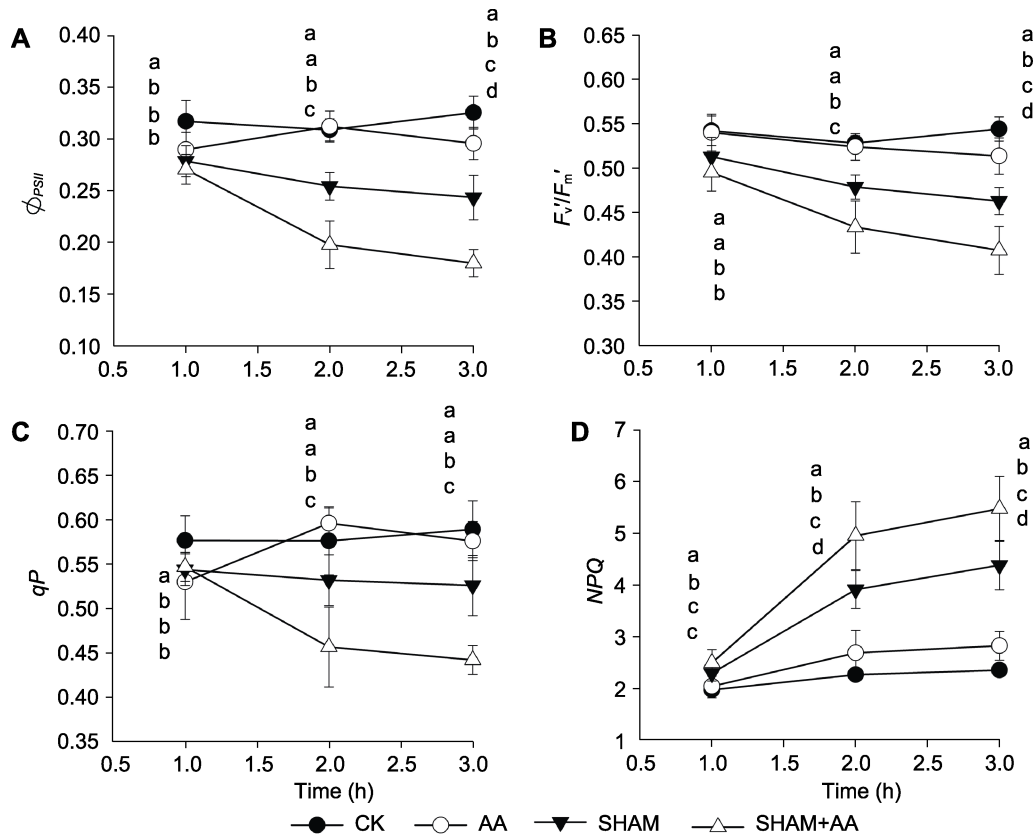


图3 强光处理不同时间对不同预处理烟草叶片PSII实际光化学效率(Φ_{PSII}) (A)、光适应下PSII最大光化学效率(F_v'/F_m') (B)、光化学淬灭系数(qP) (C)和非光化学淬灭(NPQ) (D)的影响

所有数值均为8次重复的平均值。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Figure 3 The effect of high light treatment on the actual PSII photochemical efficiencies (Φ_{PSII}) (A), the efficiency of excitation energy capture by open PSII reaction centres (F_v'/F_m') (B), the photochemical quenching coefficients (qP) (C) and the non-photochemical quenching (NPQ) (D) in different pretreated tobacco leaves

All data are the average of 8 replicates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

(1) 强光下叶绿体内产生的过剩还原力通过苹果酸-草酰乙酸(Malate-OAA)穿梭(Yoshida et al., 2006, 2007)被转运到线粒体内, COX途径可以通过消耗还原力缓解叶绿体的过还原, 最终缓解PSII光抑制; (2) 光呼吸过程中, 在线粒体内会发生甘氨酸向丝氨酸的转化并伴随着大量还原力的产生, COX途径可以通过消耗还原力维持光呼吸的运转, 避免有毒光呼吸中间代谢产物的积累, 从而缓解PSII光抑制(Zhang et al., 2017)。

NPQ 是位于叶绿体内的PSII最重要的光保护途径之一(Ruban, 2016)。本研究还表明, 当AOX或COX途径受抑时, NPQ 都会明显上调(图3D)。AOX和COX途径可以与叶绿体内的光保护途径相互配合, 共同保护PSII, 在AOX和COX途径受抑时可以上调 NPQ 进行补偿。尤其是在COX途径受抑时, 虽然PSII

最大光化学效率和PSII实际光化学效率都没有明显下降, 但 NPQ 仍明显上调。作为叶绿体外的光保护途径, AOX和COX途径与叶绿体内的光保护途径的配合和调控机制研究较少, 之前有研究针对AOX途径与环式电子传递的关系进行探讨, 但没有得出一致的结论(Yoshida et al., 2011; Florez-Sarasa et al., 2016)。本研究为进一步探讨叶绿体内外的光保护途径相互配合机制和调控过程提供了新的切入点。

参考文献

- 陈玮, 高辉远, 邹琦 (2003). 突变体在植物光破坏防御研究中的应用. 植物学通报 20, 616–624.
- 李鹏民, 高辉远, Strasser RJ (2005). 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. 植物生理与分子生物学学报 31, 559–566.

- 李天来, 路涛, 刘玉凤, 齐明芳, 孙周平 (2016). 高等植物 PSI和PSII光抑制机理的研究进展. 沈阳农业大学学报 **47**, 513–519.
- 梁英, 李玉婷, 车兴凯, 李月楠, 罗蛟, 张珂豪, 张子山, 赵世杰 (2018). 小麦叶片PSI光抑制对光合电子传递链的影响. 植物生理学报 **54**, 1426–1432.
- 薛娴, 许会敏, 吴鸿洋, 沈应柏, 肖建伟, 万迎朗 (2017). 植物光合作用循环电子传递的研究进展. 植物生理学报 **53**, 145–158.
- 张子山, 张立涛, 高辉远, 贾裕娇, 邵建雯, 孟庆伟 (2009). 不同光强与低温交叉胁迫下黄瓜PSI与PSII的光抑制研究. 中国农业科学 **42**, 4288–4293.
- Aro EM, Suorsa M, Rokka A, Allahverdiyeva Y, Paakkarinen V, Saleem A, Battchikova N, Rintamäki E (2005). Dynamics of photosystem II: a proteomic approach to thylakoid protein complexes. *J Exp Bot* **56**, 347–356.
- Bartoli CG, Gomez F, Gergoff G, Guimét JJ, Puntarulo S (2005). Up-regulation of the mitochondrial alternative oxidase pathway enhances photosynthetic electron transport under drought conditions. *J Exp Bot* **53**, 1269–1276.
- Florez-Sarasa I, Ribas-Carbo M, Del-Saz NF, Schwahn K, Nikoloski Z, Fernie AR, Flexas J (2016). Unravelling the *in vivo* regulation and metabolic role of the alternative oxidase pathway in *C₃* species under photoinhibitory conditions. *New Phytol* **212**, 66–79.
- Joët T, Cournac L, Horvath EM, Medgyesy P, Peltier G (2011). Increased sensitivity of photosynthesis to antimycin A induced by inactivation of the chloroplast *ndhB* gene. Evidence for a participation of the NADH-dehydrogenase complex to cyclic electron flow around photosystem I. *Plant Physiol* **125**, 1919–1929.
- Juszczuk IM, Rychter AM (2003). Alternative oxidase in higher plants. *Acta Biochim Pol* **50**, 1257–1271.
- Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot* **51**, 659–668.
- McDonald AE (2008). Alternative oxidase: an inter-kingdom perspective on the function and regulation of this broadly distributed 'cyanide-resistant' terminal oxidase. *Funct Plant Biol* **35**, 535–552.
- Miyake C (2010). Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant Cell Physiol* **51**, 1951–1963.
- Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N (2011). Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol Plant* **142**, 35–46.
- Nunes-Nesi A, Sweetlove LJ, Fernie AR (2007). Operation and function of the tricarboxylic acid cycle in the illuminated leaf. *Physiol Plant* **129**, 45–56.
- Padmasree K, Raghavendra AS (1999). Importance of oxidative electron transport over oxidative phosphorylation in optimizing photosynthesis in mesophyll protoplasts of pea (*Pisum sativum* L.). *Physiol Plant* **105**, 546–553.
- Pospíšil P (2009). Production of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochim Biophys Acta* **1787**, 1151–1160.
- Ruban AV (2016). Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiol* **170**, 1903–1916.
- Selinski J, Scheibe R, Day DA, Whelan J (2018). Alternative oxidase is positive for plant performance. *Trends Plant Sci* **23**, 588–597.
- Siedow JN, Umbach AL (2000). The mitochondrial cyanide-resistant oxidase: structural conservation amid regulatory diversity. *Biochim Biophys Acta* **1459**, 432–439.
- Takahashi S, Murata N (2008). How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci* **13**, 178–182.
- Tcherkez G, Bligny R, Gout E, Mahé A, Hodges M, Cornic G (2008). Respiratory metabolism of illuminated leaves depends on CO₂ and O₂ conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 797–802.
- Wang P, Duan W, Takabayashi A, Endo T, Shikanai T, Ye JY, Mi HL (2006). Chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco leaves functions in alleviation of oxidative damage caused by temperature stress. *Plant Physiol* **141**, 465–474.
- Watanabe CKA, Yamori W, Takahashi S, Terashima I, Noguchi K (2016). Mitochondrial alternative pathway-associated photoprotection of photosystem II is related to the photorespiratory pathway. *Plant Cell Physiol* **57**, 1426–1431.
- Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2006). Distinct roles of the cytochrome pathway and alternative oxidase in leaf photosynthesis. *Plant Cell Physiol* **47**, 22–31.
- Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2007). Up-regulation of mitochondrial alternative oxidase concomitant with chloroplast over-reduction by excess light. *Plant Cell Physiol* **48**, 606–614.
- Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2011). How and why

does mitochondrial respiratory chain respond to light? *Plant Signal Behav* **6**, 864–866.

Zhang LT, Gao HY, Zhang ZS, Xue ZC, Meng QW (2012a). Multiple effects of inhibition of mitochondrial alternative oxidase pathway on photosynthetic apparatus in *Rumex* K-1 leaves. *Biol Plant* **56**, 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. *BMC Plant Biol* **12**, 40.

Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Xue ZC, Yang C, Meng XL, Meng QW (2011a). 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**, 396–407.

Zhang ZS, Jia YJ, Gao HY, Zhang LT, Li HD, Meng QW (2011b). Characterization of PSI recovery after chilling-induced photoinhibition in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. *Planta* **234**, 883–889.

Zhang ZS, Liu MJ, Scheibe R, Selinski J, Zhang LT, Yang C, Meng XL, Gao HY (2017). Contribution of the alternative respiratory pathway to PSII photoprotection in C₃ and C₄ plants. *Mol Plant* **10**, 131–142.

Effects of the Respiratory Electron Transport Pathways in Relieving Photoinhibition of Chloroplast PSII in Tobacco Leaves

Jiao Luo, Yuting Li, Zishan Zhang^{*}, Xingkai Che, Ying Liang, Yuenan Li, Ying Li
Shijie Zhao, Huiyuan Gao

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract Previous studies have shown that the mitochondrial alternative oxidase (AOX) respiratory pathway contributes to the photoprotection of photosystem II (PSII) under high light. However, the role of another respiratory pathway in mitochondria, the cytochrome-respiratory (COX) pathway, to photoprotection under high light remains unknown. Here, we studied the contributions of COX and AOX pathways to PSII photoprotection, as well as the relationship between COX and AOX pathways in PSII photoprotection in tobacco leaves under high light using chlorophyll fluorescence transients and chlorophyll fluorescence quenching approaches. After high light treatment, the PSII activity decreased in all leaves. The inhibition of AOX pathway significantly accelerated the decrease of PSII activity in leaves. However, there was no significant difference between the PSII activity in the leaves pretreated with COX pathway inhibitor and water-pretreated control leaves. When both AOX and COX pathways are inhibited in leaves, the decrease in PSII activity was severe, than that of leaves pretreated by only AOX pathway inhibitor. In addition, inhibition of respiratory electron transport resulted in an increase of non-photochemical quenching (NPQ). The up-regulation of NPQ caused by AOX pathway inhibitor was more obviously than that caused by COX pathway inhibitor, and the increase of NPQ was highest when both AOX and COX pathways were inhibited. These results indicate that both COX and AOX pathways contribute to the PSII photoprotection in tobacco leaves under high light. In addition, when COX pathway is inhibited, its photoprotective function can be compensated by AOX pathway and NPQ, however, photoprotection of AOX pathway cannot be completely compensated by COX pathway and NPQ.

Key words alternative oxidation respiratory pathway, cytochrome respiratory pathway, non-photochemical quenching, photoprotection, PSII photoinhibition

Luo J, Li YT, Zhang ZS, Che XK, Liang Y, Li YN, Li Y, Zhao SJ, Gao HY (2020). Effects of the respiratory electron transport pathways in relieving photoinhibition of chloroplast PSII in tobacco leaves. *Chin Bull Bot* **55**, 31–37.

^{*} Author for correspondence. E-mail: zhangzishantaian@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)