

干旱胁迫下H₂S信号增强植物叶片的光合作用

孙丽敏 金竹萍 钱嘉航 裴雁曦*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要 干旱胁迫是影响农作物产量最重要的环境因素之一。硫化氢(H₂S)作为第三种气体信号分子在植物体内具有多样且积极的生理功能。目前已了解, H₂S在响应植物干旱胁迫应答以及增强植物光合作用的过程中发挥重要作用, 但关于内源性H₂S对干旱胁迫下植物光合作用的调节机制未见报道。该研究以拟南芥哥伦比亚野生型(wild type Col-0, WT)、H₂S产生酶编码基因*DES*缺失突变体*des*以及H₂S产生酶编码基因*DES*过表达突变体OE-*DES*为实验材料, 研究内源性H₂S对干旱胁迫下拟南芥光合作用的调节机制。研究结果显示, 植株在正常生长条件下, 内源性H₂S促使叶片净光合速率、蒸腾速率、叶绿素含量显著升高; 植株遭受干旱胁迫时, 内源性H₂S可以显著上调*Rubisco*和*Rubisco*活化酶(*Rubisco* activase, *RCA*)的表达水平, 保护叶绿体结构的完整性, 促使叶片净光合速率显著上升, 维持叶片相应的蒸腾速率, 并且引起叶片气孔关闭和胞间CO₂浓度显著升高。

关键词 干旱胁迫; 硫化氢; 光合作用

H₂S Enhanced Photosynthesis in Response to Drought Stress

Sun Limin, Jin Zhuping, Qian Jiahang, Pei Yanxi*

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract Drought stress is one of the most serious environmental factors affecting crop yield. It has been known that hydrogen sulfide (H₂S) as the third gas signal molecular, plays a critical physiological role in responding to drought stress and enhancing plant photosynthesis. However, there are few reports about the regulation mechanisms of endogenous H₂S in plant photosynthesis under drought stress. In this study, using *Arabidopsis thaliana* Columbia-0 wild-type (Col-0, WT), H₂S-producing enzyme encoding gene *DES* defective mutants (*des*) and *DES* over-expression plant (OE-*DES*) as experimental materials, we investigated the physiological function and mechanism of endogenous H₂S signal in photosynthesis of *A. thaliana* under drought stress. The results showed that, under normal growth conditions, endogenous H₂S significantly promoted the increase of net photosynthesis rate, transpiration rate and chlorophyll content in leaves. When the plants were subjected to drought stress, endogenous H₂S could significantly up-regulate the genes expression level of *Rubisco* and *Rubisco* activase (*RCA*), thus protect the chloroplast structure, promote the significant increase of net photosynthesis rate and intercellular CO₂ concentration, induce stomatal closure and maintain the corresponding transpiration rate of leaves.

Keywords drought stress; hydrogen sulfide; photosynthesis

收稿日期: 2017-06-29 接受日期: 2017-10-09

国家自然科学基金(批准号: 31672140、31671605)、山西省回国留学项目(批准号: 2016-008)和山西省高校科技创新项目(批准号: 2016110)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0351-7018161, E-mail: peiyanxi@sxu.edu.cn

Received: June 29, 2017 Accepted: October 9, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31672140, 31671605), Shanxi Scholarship Council of China (Grant No.2016-008) and University Science and Technology Innovation Project (Grant No.2016110)

*Corresponding author. Tel: +86-351-7018161, E-mail: peiyanxi@sxu.edu.cn

网络出版时间: 2017-12-04 12:06:23

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20171204.1206.014.html>

干旱是人类面临的主要自然灾害,影响植物营养生长和生殖生长,限制植物分布,制约作物生产量^[1]。究其原因,植物在生长发育过程中,光合作用效率是植物生产力和作物产量高低的根本决定因素^[2]。光合作用是植物生命活动过程中的重要组成部分,并且对环境变化非常敏感^[3]。干旱严重影响植物光合作用,表现在降低植物的光合速率、降低叶绿体对光能的吸收能力和转能效率以及光合电子传递速率和磷酸化活力,同时还影响光合碳同化^[4]。植物光合作用的场所是叶绿体,稳定的叶绿体结构是植物光合作用正常运行的重要保障^[3,5]。

近年来,硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)作为继一氧化氮(NO)、一氧化碳(CO)之后的第三种气体信号分子被发掘。生理浓度的H₂S在植物体内发挥着重要、多样且积极的作用,例如调节植物生长发育^[6-8]、延缓植物叶片衰老^[9-10]、参与植物抵御生物及非生物胁迫^[11-16]等。植物体内源性H₂S主要以L/D-Cys为底物,通过L-Cys desulhydrase(LCD、DES)和D-Cys desulhydrase(DCD1、DCD2)催化产生,其中LCD和DES以L-Cys为底物,DCD1以D-Cys为底物,而DCD2则能够降解任一构型的Cys^[17]。此外,它们在细胞中的分布各异:LCD定位于细胞核,DCD1和DCD2定位于线粒体,而DES定位于细胞质^[17-18]。

植物受到干旱胁迫时,体内形成多种机制来适应和抵御逆境。已有研究表明,气体信号分子H₂S在响应植物干旱胁迫应答和增强植物光合作用的过程中,发挥着重要的生理功能^[17-18]。目前,关于内源性H₂S对干旱胁迫下植物光合作用的调节机制还未见报道,本研究以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)哥伦比亚野生型(wild type Col-0, WT)、H₂S产生酶编码基因DES缺失突变体*des*以及H₂S产生酶编码基因DES过表达植株OE-DES为实验材料,研究内源性H₂S对干旱胁迫下拟南芥光合作用的调节,为提高作物抗旱性和实现农业可持续发展提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究以Col-0拟南芥野生型WT和H₂S产生酶编码基因DES(At5g28030)T-DNA插入突变体*des*(SALK_205358C,由ABRC提供)以及H₂S产生酶编码基因DES过表达植株OE-DES(35S::DES的转基因株系)为实验材料。*des*体内的H₂S含量与WT相比

显著下降,OE-DES的H₂S含量较WT显著升高^[19]。

1.2 培养条件和处理办法

1.2.1 幼苗生长培养条件 拟南芥WT、突变体*des*和OE-DES种子,经4℃春化处理2 d,播种于蛭石:营养土=2:1(V/V)的混合基质中,培养条件:光照强度3 000 Lx、温度(23±1)℃、相对湿度60%、光周期16 h光照/8 h黑暗。

1.2.2 干旱处理 生长4周的拟南芥WT、*des*、OE-DES,浇水,待植株充分吸水后倒掉多余水,自此7 d内不再浇水作为干旱胁迫,以正常浇水作为对照。含0.16 g/mL聚乙二醇(PEG),叶片表皮条缓冲液浸泡叶片10 min模拟干旱处理,用以观察干旱胁迫后的叶片气孔开度,以不含PEG的叶片表皮条缓冲液浸泡作为对照。

1.3 光合特性相关指标测定

幼苗光合参数净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、和胞间二氧化碳浓度(C_i)使用SY-1020便携式光合作用测定仪(石家庄世亚科技有限公司)进行检测,测定时需光源充足且稳定,空气中CO₂含量稳定。

1.4 气孔开度测定

取1.2.1中拟南芥WT、*des*、OE-DES叶片,置于叶片表皮条缓冲液中,光照强度3 000 Lx冷光源照射2 h,然后再将叶片移于0.16 g/mL PEG和不含PEG的叶片表皮条缓冲液中继续光照10 min,撕取叶片下表皮,用光学显微镜(Olympus:CH20BIMF200)观察气孔开度并记录。

1.5 叶绿素含量测定

取植物叶片样品0.05 g于研钵中,加入1 mL 95%乙醇研磨成匀浆,后续再加入4 mL 95%乙醇稀释研磨液,3 000 ×g离心5 min。利用多功能酶标仪测定 D_{665} 和 D_{649} 值,根据公式计算叶绿素含量:叶绿素a的浓度 $C_a=13.95 \times D_{665} - 6.88 \times D_{649}$;叶绿素b的浓度 $C_b=24.96 \times D_{649} - 7.32 \times D_{665}$;叶绿素总含量 $= (C_a \times V + C_b \times V) / W$; V 为提取液总量(mL), W 为样品质量(g)。

1.6 叶片鲜重与干重比值测定

取1.2.2中拟南芥WT、*des*和OE-DES,立即称量其鲜重(FW)。然后将该叶片放在105℃下杀青30 min,后于80℃烘干至恒重并称重,为其干重(DW)。叶片鲜重与干重比值 $= (DW / FW) \times 100\%$ 。

1.7 离体叶片失水率测定

取1.2.1中拟南芥WT、*des*和OE-DES莲座叶片,

立即称量其鲜重(FW), 记录为 W_1 。然后将叶片分别置于培养皿中, 之后分别在1、2、3、4、5 h五个时间点再称重, 记录结果为 W_2 。叶片失水率= $(W_1 - W_2)/W_1 \times 100\%$ 。

1.8 透射电镜观察叶绿体结构

取干旱处理的WT、*des*、OE-DES叶片样品, 置于0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.4)配制的2.5%戊二醛, 4 °C固定24 h, 然后用相同的缓冲液彻底清洗三次, 每次10 min。然后于0.1 mol/L磷酸缓冲液配制的2%锇酸中, 4 °C固定8 h, 用相同的缓冲液彻底清洗三次, 每次10 min。样品通过乙醇浓度梯度25%、50%、75%、85%、95%、100%进行逐级脱水, 经置换、浸透包埋于EPON 812环氧树脂, 聚合后用LACA-UC6(70 nm)超薄切片机切片, 切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 透射电镜(JEOL, JEM-1400)观察并拍照记录。

1.9 RNA提取及qRT-PCR

取1.2.2中的实验材料, 用TRIZOL试剂盒提取总RNA, 以 $Oligo(dT)_{18}$ 为引物反转录得到cDNA, 以 $UBQ4(At5g20620)$ 为内参进行qRT-PCR检测基因转录。所用引物序列 $UBQ4(At5g20620)$ 为: 上游5'-GGG CAC TCA AGT ATC TTG TTA GC-3'和下游5'-TGC TGC CCA ACA TCA GGT T-3'; $Rubisco(At1g67090)$: 上游5'-CCA CCC GCA AGG CTA ACA AC-3'和下游5'-CGG AAT CGG TAA GGT CAG GAA-3'; $RCA(At2g39730)$: 上游5'-TGG AAA CGC AGG AGA ACC C-3'和下游5'-GCC CTC AAA GCA CCG AAG-3'; $LHCBI(At1g29930)$: 上游5'-GCC GAG GAC TTG CTT TAC CC-3'和下游5'-CAG TGA CGA TGG CTT GAA CGA-3'; $LHCB2(At2g05070)$: 上游5'-CCT CCA GCG ACC TCA TCC A-3'和下游5'-AGA GC C TGC CTT GAA CCA CA-3'; $LHCB3(At5g54270)$: 上游5'-GGC GAT TAT GGT TGG GAC AC-3'和下游5'-AAG ACC GTT GAT GCG GAAAC-3'; $LHCA2(At1g19150)$: 上游5'-TCC ACG AGC AGA GTC CAAAT-3'和下游5'-AAA CCG AAA TCA CCA GGT AAG C-3'; $LHCA4(At3g47470)$: 上游5'-GCA AGA CAT CAA GAA CCC AGG-3'和下游5'-ATG CCA ACA TCG CCA ACC-3'。以 $2^{-\Delta Ct}$ 比较分析各个样品间基因表达水平的相对差异, 实验重复三次。

1.10 数据统计分析

每组实验重复三次, 实验数据用“平均值±标准

偏差”表示。采用SPSS Statistics(SPSS 16.0)分析软件进行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 分别表示差异极显著和差异显著, 图中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 内源性H₂S对幼苗光合特性的影响

植物受到干旱和盐胁迫后其光合作用效率会显著降低, 从而影响植物的生长状态^[20]。本实验结果显示, 与正常生长的叶片相比, 干旱胁迫后, 叶片净光合作用速率和胞间CO₂浓度有一定程度的降低(图1A和图B、图1E和图1F)。在正常生长条件下, 净光合作用速率在WT、*des*和OE-DES三者之间存在显著差异, 相比于WT, *des*净光合作用速率显著下降, OE-DES净光合作用速率显著上升(图1A)。此外, 与WT和*des*相比, OE-DES的蒸腾速率显著上升(图1C), 而胞间CO₂浓度在WT、*des*和OE-DES三者间无显著变化(图1E)。干旱胁迫后, *des*净光合作用速率较WT和OE-DES显著下降(图1B); 蒸腾速率仅在*des*和OE-DES之间存在显著差异(图1D); OE-DES胞间CO₂浓度与*des*和WT的胞间CO₂浓度相比显著升高(图1F)。

2.2 内源性H₂S对幼苗气孔开度的影响

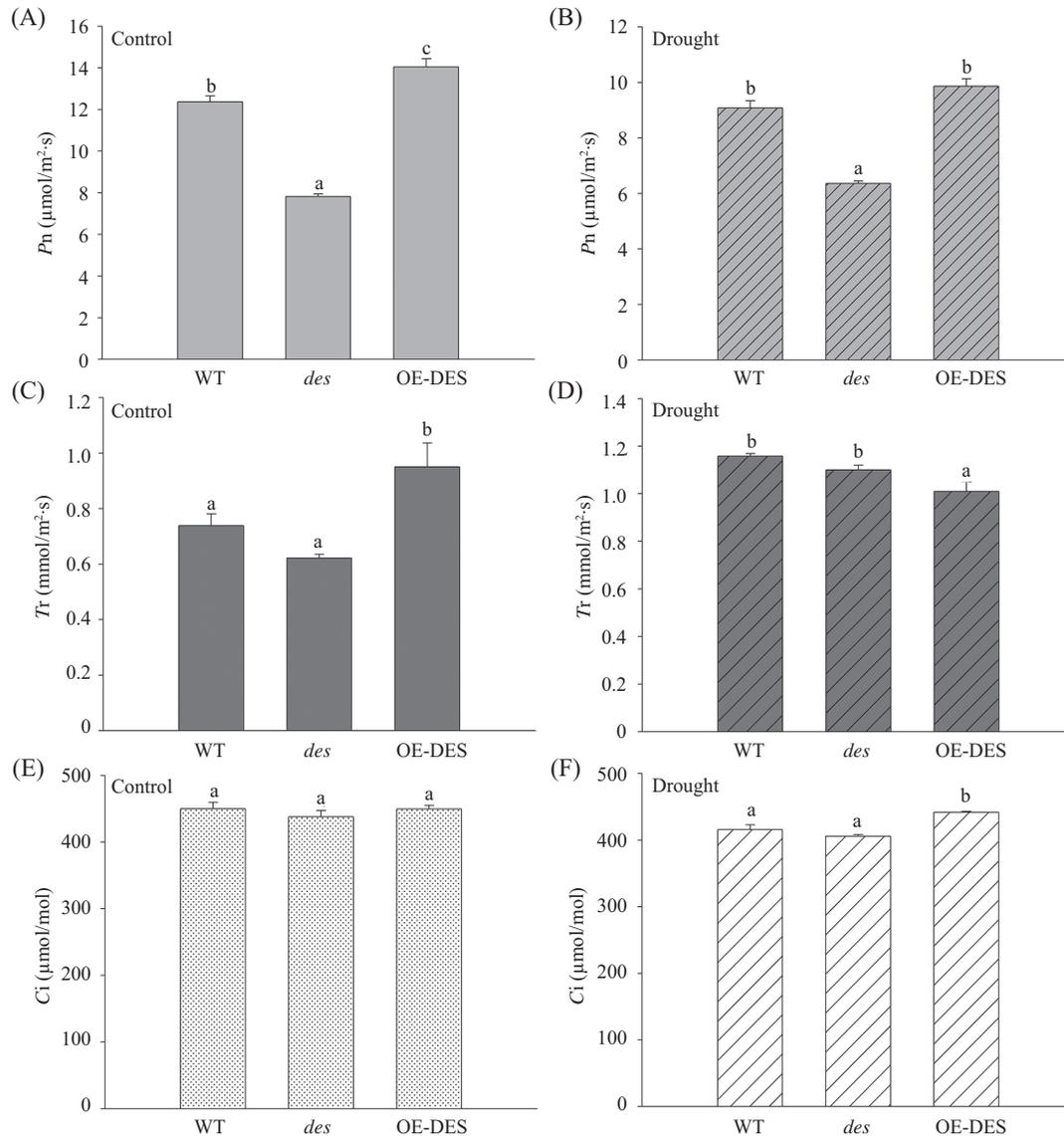
在拟南芥中, H₂S与ABA相互作用调节气孔运动应答干旱胁迫^[21]。本实验发现, 在对照组中, WT、*des*和OE-DES三者的气孔开度无显著差异(图2A~图2C)。0.16 g/mL PEG模拟干旱处理后, 三者的气孔开度明显减小, 其中OE-DES气孔开度与WT和*des*气孔开度相比显著减小(图2D~图2F)。

2.3 内源性H₂S对幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素含量和光合作用速率有着紧密的关系, H₂S以一种剂量依赖的方式影响叶绿素含量, 增强光合作用进而促进幼苗生长^[6,22]。在幼苗正常生长状态下, OE-DES叶绿素含量显著高于WT和*des*(图3A); 干旱胁迫后, 与WT相比, *des*叶绿素含量显著升高, OE-DES叶绿素含量显著下降(图3B)。

2.4 内源性H₂S对幼苗叶片干重和失水率的影响

一定程度上, 叶片干重的变化动态反应了叶片内物质的合成、分配与运转过程^[23]。测定干旱胁迫后WT、*des*、OE-DES植株的干重和鲜重比值, 结果发现, WT植株的干重和鲜重比值为7.29%, *des*植株的干重和鲜重比值显著下降到6.76%, OE-DES植株



不同小写字母表示有显著性差异。

There are significant differences between different lowercase letters.

图1 内源性H₂S对幼苗叶片光合特性相关指标的影响

Fig.1 Effect of endogenous H₂S on photosynthesis related indicators in seedling leaves

的干重和鲜重比值显著升高到8.0%。

离体叶片失水速率可以反映叶片的抗脱水能力, 离体叶片失水率越大说明叶片持水力越小, 因此离体叶片失水速率大小可以表示植物抗旱性强弱^[24]。本实验结果显示, WT、*des*、OE-DES三者的离体叶片的失水率随着时间延长不断增加; 在叶片离体1 h内, 三者的离体叶片失水率迅速上升, 1 h后, 三者的失水率虽都不断增加, 但OE-DES失水率和失水速率显著均低于WT和*des*。

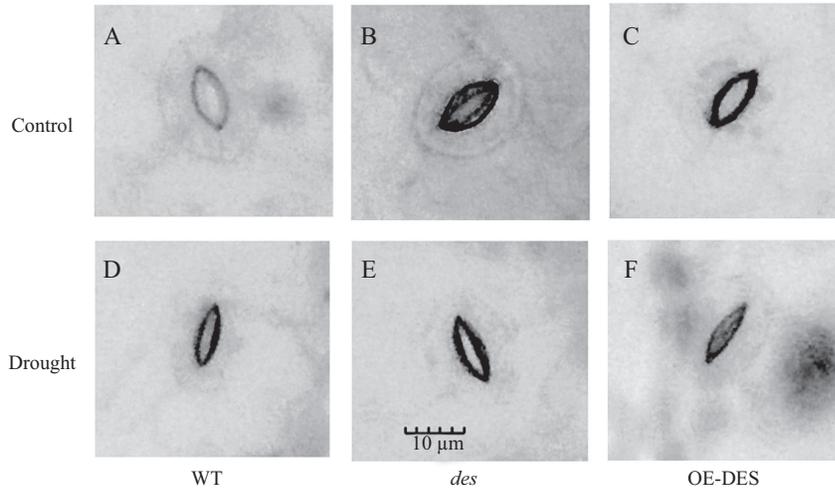
2.5 内源性H₂S对干旱胁迫下叶片叶绿体超微结构的影响

为了进一步研究H₂S对干旱胁迫下植物光合作

用的影响, 我们运用透射电子显微镜观察H₂S不同突变体在干旱胁迫下的叶绿体超微结构。结果表明, 生长4周的植株, 在干旱处理7 d后, WT、*des*和OE-DES的叶绿体结构仍处于相对完整的状态, 被膜也相对完整(图5A~图5C)。然而, WT叶绿体基粒片层模糊, 基质片层断裂(图5D); *des*叶绿体基粒、基质片层排列混乱且松散(图5E); OE-DES叶绿体基粒与基质片层排列规则整齐且清晰可辨(图5F)。

2.6 内源性H₂S对光合作用相关基因表达的影响

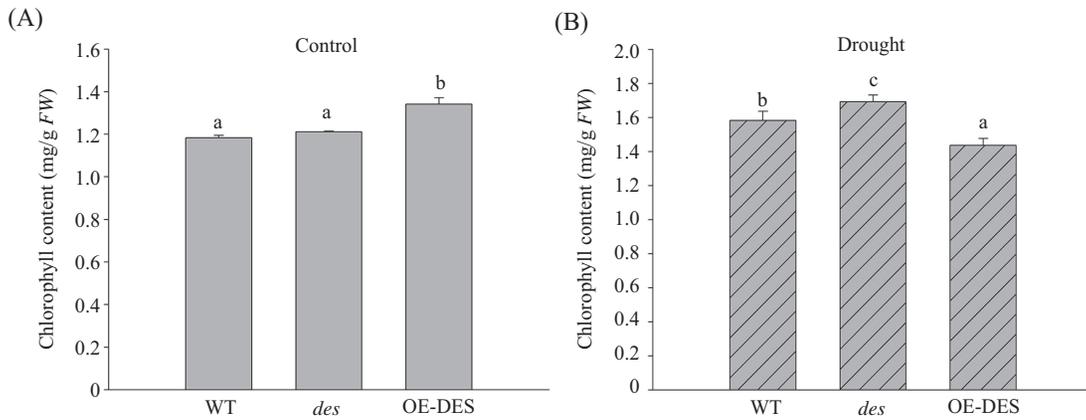
RBCS 编码光合碳同化关键酶核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)的小亚基, 是控制植物光合作用的重要基因之一^[25]。Rubisco必须经Rubisco



A-C: control group; D-F: drought group.

图2 内源性H₂S对幼苗叶片气孔开度的影响

Fig.2 Effect of endogenous H₂S on stomatal aperture in seedling leaves

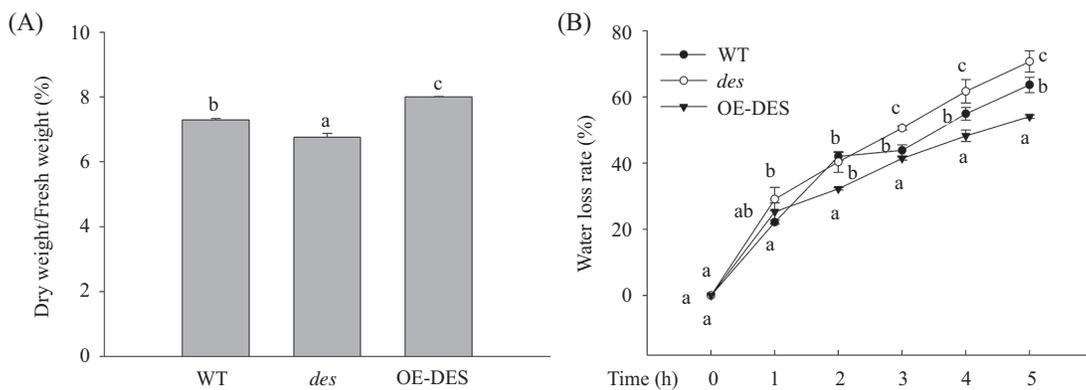


不同小写字母表示有显著性差异。

There are significant differences between different lowercase letters.

图3 内源性H₂S对幼苗叶片叶绿素含量的影响

Fig.3 Effect of endogenous H₂S on chlorophyll content in seedling leaves



A: 干重与鲜重比值; B: 失水率。不同小写字母表示有显著性差异。

A: ratio of dry weight and fresh weight; B: water loss rate. There are significant differences between different lowercase letters.

图4 内源性H₂S对幼苗叶片干重和失水率的影响

Fig.4 Effect of endogenous H₂S on dry weight and water loss rate in seedling leaves

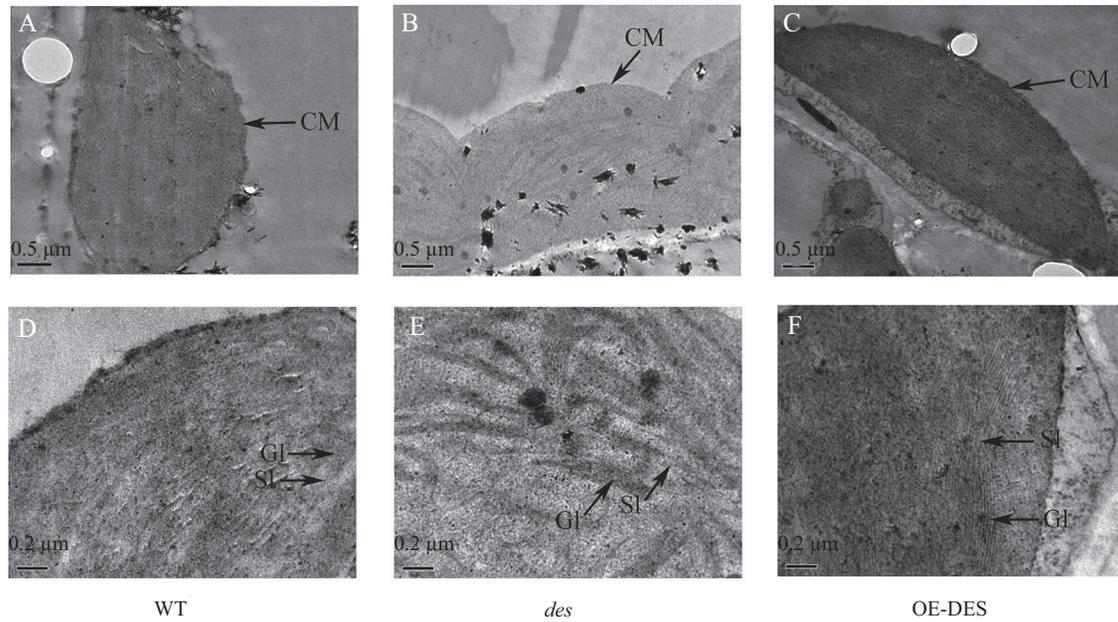
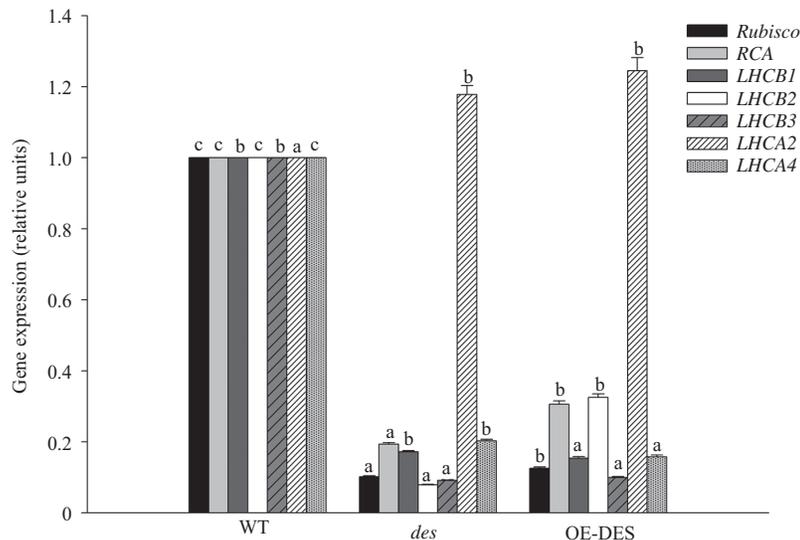


图5 内源性H₂S对干旱胁迫下幼苗叶片叶绿体结构的影响
 Fig.5 Effect of endogenous H₂S on chloroplast ultrastructure in seedling leaves under drought stress



不同小写字母表示有显著性差异。

There are significant differences between different lowercase letters.

图6 内源性H₂S对光合作用相关基因表达的影响
 Fig.6 Effect of endogenous H₂S on expression level of photosynthesis-related genes

活化酶(Rubisco activase, RCA)去除磷酸糖等抑制物后才具有催化活力^[26], RCA与光合作用有着密切关系^[27]。实验结果显示: 干旱胁迫处理后, 与*des*相比, OE-DES中*Rubisco*和*RCA*的表达量均显著升高。

捕光色素蛋白复合体(LHC)是一类捕获光能、把能量迅速传至反应中心引起光化学反应的色素蛋白复合体, 植物体内的光系统I(PSI)和光系统II(PSII)

都含有各自的LHC^[28]。其中, LHCI包括LHCA2和LHCA4, LHCA2为LHCI-680, LHCA4为LHCI-730; LHCII包括LHCB1、LHCB2和LHCB3。干旱胁迫处理后, 与*des*相比, 捕光色素蛋白复合体编码基因*LHCB2*在OE-DES中的表达水平显著升高, 而*LHCB1*和*LHCA4*在OE-DES中的表达水平显著降低, *LHCB3*和*LHCA2*表达水平在两者之间无显著差异(图6)。

3 讨论

作为重要的气体信号分子, H₂S在植物生长发育过程的调控作用以及在植物抵御生物和非生物胁迫中的生理功能在近些年被逐渐揭示。光合作用是植物生长发育的基础, 先前研究报道干旱胁迫会引起叶片光合机构受损和光合速率下降^[3], H₂S可以提高拟南芥幼苗的抗旱能力^[21]以及增强植物光合作用^[6], 而关于干旱胁迫下H₂S对植物光合作用的调节鲜有报道。我们的实验对此问题进行探究, 进一步揭示内源性H₂S对干旱胁迫下植物光合作用的调节机制。

干旱胁迫影响净光合速率的原因主要有气孔因素和非气孔因素两种^[4]。细胞间CO₂浓度与光合速率在同一方向上变化时, 气孔阻力占优势, 如果这两者的变化方向是相反的, 则占优势的变化不是气孔阻力而是叶肉细胞^[29]。本研究发现, 植株在正常生长时, 内源性H₂S通过提高植株Pn和Tr增加植株的光合作用速率, 促进植物生长。这一结果与Chen等^[6]报道的H₂S增强光合作用促进植株生长的结果一致。植物遭受干旱胁迫时, 内源性H₂S诱导气孔关闭保持较高的胞间CO₂浓度, 进而增强光合作用速率, 维持植物生长, 这可能也是H₂S提高拟南芥幼苗抗旱能力的原因之一。在影响光合作用的气孔因素的研究中普遍认为, 气孔关闭势必会减少CO₂进入叶片, 导致植物光合速率降低^[4,36], 这与我们的研究结果有些矛盾, 但也有研究证明气孔关闭对植物光合作用有正面和负面的作用^[30]。其中原委, 首先, 可能是由于光合作用的气孔限制是很复杂的, 并不是在任何情况下光合速率与气孔开张度之间都存在特定的相关性; 其次, 内源性H₂S可能触发对非气孔因素的调节来缓解干旱胁迫对光合速率的抑制。

本研究数据显示, 正常生长条件下, 内源性H₂S促进拟南芥幼苗叶绿素的合成, 这与先前研究者发现H₂S预处理使白菜幼苗叶绿素含量显著升高的结果一致^[31]。渗透胁迫诱导叶绿素降解, 抑制植物生长^[32], H₂S作为信号分子可以减少渗透胁迫期间甘薯幼苗的叶绿素降解^[22]。然而, 我们的实验数据表明, 在干旱胁迫后, 相比于WT和OE-DES中叶绿素含量明显下降, *des*中叶绿素含量反而明显上升, 这似乎与H₂S可以缓解渗透胁迫引起的叶绿素含量下降的报道不符^[22]。分析原因发现, 从叶绿素含量计量单位mg/g(FW)可知, 叶片鲜重会直接影响叶绿素含量

的测定结果, 而干旱胁迫作为渗透胁迫的一种会引起植株叶片水分严重丧失, 叶片鲜重明显下降, 并且内源性H₂S缺失能够导致干旱胁迫下叶片失水率加快^[33]。我们的研究结果显示, *des*离体叶片失水率显著高于OE-DES。因此, 干旱胁迫期间, *des*叶绿素含量的上升可能是由于其叶片失水较快引起鲜重较低而导致的, OE-DES叶绿素含量的下降则是由于其叶片失水较慢保持鲜重较高而引起的。也可以用顾骏飞等^[34]的文章中提到的“高叶绿素含量并不是叶片高光合速率的必需条件”的观点进行解释。然而, 干旱胁迫后, 比较WT、*des*和OE-DES叶片的干重与鲜重比值, 结果显示, OE-DES干重与鲜重比值最高。这表明, 内源性H₂S有利于提高干物质的积累, 有效提高光合作用。

叶绿体作为植物细胞特有的细胞器, 是植物进行光合作用的场所。干旱胁迫下, 植物叶片细胞的超微结构会发生一系列显著变化, 其中负担重要生理功能的叶绿体对干旱胁迫非常敏感^[35]。在干旱胁迫下, 叶绿体膨胀, 排列紊乱, 基质片层模糊, 基粒间连接松弛, 类囊体片层肿胀或解体, 光合器官的超微结构遭到破坏, 从而导致光合作用下降^[36]。在我们的研究中发现, 内源性H₂S可以保护干旱胁迫下叶绿体的超微结构, 减轻叶绿体肿胀, 维持叶绿体基粒基质片层的正常排列。这些结果提示, 干旱胁迫下内源性H₂S可能通过维持叶绿体结构稳定进而增强植物叶片的光合作用。

在本研究中, 干旱胁迫处理后, OE-DES中*Rubisco*和*RCA*表达量显著高于*des*, 表明内源性H₂S能显著提高拟南芥幼苗光合作用过程中*Rubisco*和*RCA*表达水平, 进而增加了CO₂固定作用。然而, 捕光色素蛋白复合体相关编码基因在*des*和OE-DES中的表达趋势并不一致。这表明, H₂S对捕光色素蛋白复合体不同编码基因的表达调节模式各异。

本文实验材料的内源H₂S含量在*des*中显著降低, 在OE-DES中显著升高^[19], 因此内源性H₂S的差异导致以上的研究结果, 部分地揭示内源性H₂S对干旱胁迫下幼苗光合作用的调节过程(图7)。总之, 植物遭受干旱胁迫时, 一方面内源性H₂S可以诱导幼苗叶片气孔关闭维持胞间CO₂浓度和减少水分散失增强植物叶片光合作用; 另一方面内源性H₂S可以通过上调*Rubisco*和*RCA*表达水平, 增加CO₂固定作用以及通过保护叶绿体结构进而增强植物叶片的光合作

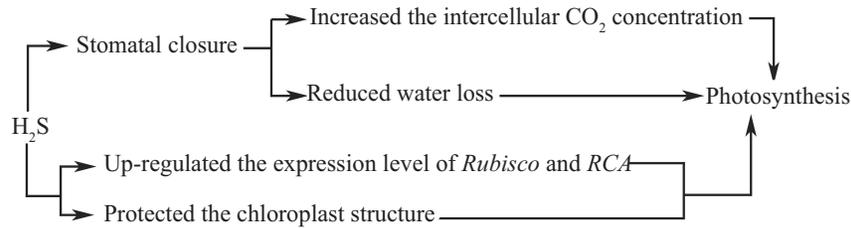


图7 内源性H₂S对干旱胁迫下幼苗叶片光合作用的调节模式

Fig.7 Regulation model of endogenous H₂S to photosynthesis under drought stress in seedling leaves

用。干旱胁迫下H₂S信号作用的分子机制及其上游激活组分和下游分子靶点仍是该领域未来研究的重点,此方向的深入探讨将进一步揭示H₂S信号在植物生长发育和响应逆境胁迫过程中的生理功能。

参考文献 (References)

- Boyer JS. Plant productivity and environment. *Science* 1982; 218(4571): 443-8.
- 许大全. 光合作用效率. 上海: 上海科学技术出版社(Xu Daquan. Photosynthetic efficiency. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press) 2002, 163-7.
- 邵瑞鑫, 李蕾蕾, 郑会芳, 张寄阳, 杨慎娇, 马野, 等. 外源一氧化氮对干旱胁迫下玉米幼苗光合作用的影响. *中国农业科学* (Shao Ruixin, Li Leilei, Zheng Huifang, Zhang Jiyang, Yang Shenjiao, Ma Ye, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress. *Scientia Agricultura Sinica* 2016; 49(2): 251-9.
- 张其德. 干旱胁迫对光合作用的影响. *植物杂志* (Zhang Qide. Effect of drought stress on photosynthesis. *Plant Magazine*) 1997; 3: 30-2.
- 秦玉芝, 邢铮, 邹剑锋, 何长征, 李炎林, 熊兴耀. 持续弱光胁迫对马铃薯苗期生长和光合特性的影响. *中国农业科学* (Qin Yuzhi, Xing Zheng, Zou Jianfeng, He Changzheng, Li Yanlin, Xiong Xingyao. Effects of sustained weak light on seedling growth and photosynthetic characteristics of potato seedlings. *Scientia Agricultura Sinica* 2014; 47(3): 537-45.
- Chen J, Wu FH, Wang WH, Zheng CJ, Lin GH, Dong XJ, *et al.* Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings. *J Exp Bot* 2011; 62(13): 4481-93.
- Zhang H, Hu KD. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *J Integr Plant Biol* 2008; 50(12): 1518-29.
- Zhang H, Tang J, Liu XP, Wang Y, Yu W, Peng WY, *et al.* Hydrogen sulfide promotes root organogenesis in *Ipomoea batatas*, *Salix matsudana* and *Glycine max*. *J Integr Plant Biol* 2009; 51(12): 1086-94.
- Alvarez C, Calo L, Romero LC, García I, Gotor C. An O-acetylserine(thiol)lyase homolog with L-cysteine desulfhydrase activity regulates cysteine homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2010; 152(2): 656-69.
- Alvarez C, Bermúdez MÁ, Romero LC, Gotor C, García I. Cysteine homeostasis plays an essential role in plant immunity. *New Phytol* 2012; 193(1): 165-77.
- Jin ZP, Shen JJ, Qiao ZJ, Yang GD, Wang R, Pei YX. Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 414(3): 481-6.
- Lai DW, Yu M, Zhou H, Li F, Wu MZ, Zhang J, *et al.* Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced K⁺ loss in seedlings of *Medicago sativa*. *Plant Sci* 2014; 225(8): 117-29.
- Li ZG, Yang SZ, Long WB, Yang GX, Shen ZZ. Hydrogen sulfide may be a novel downstream signal molecule in nitric oxide-induced heat tolerance of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Cell Environ* 2013; 36(8): 1564-72.
- Shi HT, Ye TT, Han N, Bian HW, Liu XD, Chan ZL. Hydrogen sulfide regulates abiotic stress tolerance and biotic stress resistance in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol* 2015; 57(7): 628-40.
- Stuiver CE, Kok LJ, Kuiper PJ. Freezing tolerance and biochemical changes in wheat shoots as affected by H₂S fumigation. *Plant Physiol Biochem* 1992; 20(1): 47-55.
- Zhang LP, Pei YX, Wang HJ, Jin ZP, Liu ZP, Qiao ZJ, *et al.* Hydrogen sulfide alleviates cadmium-induced cell death through restraining ROS accumulation in roots of *Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 804603.
- 裴雁曦. 植物中的气体信号分子硫化氢: 无香而立, 其臭如兰. *中国生物化学与分子生物学报* (Pei Yanxi. Gasotransmitter hydrogen sulfide in plants: stinking to high heaven, but refreshing to fine life. *Chinese Journal of Biochemistry Molecular Biology*) 2016; 32(7): 721-33.
- Jin ZP, Pei YX. Physiological implications of hydrogen sulfide in plants: pleasant exploration behind its unpleasant odour. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 397502.
- Jin ZP, Wang ZQ, Ma QX, Sun LM, Zhang LP, Liu ZQ, *et al.* Hydrogen sulfide mediates ion fluxes inducing stomatal closure in response to drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil* 2017; doi: 10.1007/s11104-017-3335-5.
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot* 2009; 103(4): 551-60.
- Jin ZP, Xue SW, Luo YN, Tian BH, Fang HH, Li H, *et al.* Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem* 2013; 62(1): 41-6.
- Zhang H, Ye YK, Wang SH, Luo JP, Tang J, Ma DF. Hydrogen sulfide counteracts chlorophyll loss in sweetpotato seedling leaves and alleviates oxidative damage against osmotic stress.

- Plant Growth Regul 2009; 58(3): 243-50.
- 23 高清华, 叶正文, 章 镇, 李世诚, 陶建敏, 吴钰良, 等. 设施栽培中限根对油桃幼树叶片叶绿素含量、叶干重变化的影响. 中国农学通报 (Gao Qinghua, Ye Zhengwen, Zhang Zhen, Li Shicheng, Tao Jianmin, Wu Yuliang, *et al.* Effects of root confinement on the chlorophyll content and leaf dry weight of young nectarine tree cultivated in greenhouse. Chinese Agricultural Science Bulletin) 2005; 21(6): 259-63.
- 24 王艺陶, 周宇飞, 李丰先, 苏 仲, 韩 熠, 高铭悦, 等. 干旱胁迫下高粱叶温与叶片水分状况的关系. 干旱地区农业研究 (Wang Yitao, Zhou Yufei, Li Fengxian, Su Zhong, Han Yi, Gao Mingyue, *et al.* Relationship between leaf temperature and water status in sorghum under drought stress. Agricultural Research in the Arid Areas) 2013; 31(6): 146-51.
- 25 刁雨琳, 周 朋, 宋梅芳, 李志勇, 孟凡华, 杨建平. 拟南芥RBCS-1A基因受光调节表达模式及其启动子遗传转化应用评价. 作物学报 (Xi Yulin, Zhou Peng, Song Meifang, Li Zhiyong, Meng Fanhua, Yang Jianping. Expression patterns of *Arabidopsis RBCS-1A* gene in response to light treatments and application evaluation of its promoter in transgenic engineering. Acta Agronomica Sinica) 2012; 38(9): 1561-9.
- 26 Portis AR. The regulation of Rubisco by Rubisco activase. J Exp Bot 1995; 46(special): 1285-91.
- 27 刘培培. 黄瓜Rubisco活化酶基因(*CsRCA*)过量表达效应(硕士论文). 山东农业大学 [Liu Peipei. Over-expression effects of Rubisco activase gene (*CsRCA*) in cucumber. Shandong: Shandong Agricultural University], 2012.
- 28 孙钦秒, 冷静, 李良璧, 匡廷云. 高等植物光系统II捕光色素蛋白复合体结构与功能研究的新进展. 植物学通报 (Sun Qinmiao, Leng Jing, Li Liangbi, Kuang Tingyun. Recent advances of studies on the structure and function of the light-harvesting chlorophyll A/B protein complex. Chinese Bulletin of Botany) 2000; 17(4): 289-301.
- 29 许大全. 气孔运动与光合作用. 植物生理学通讯 (Xu Daquan. Stomatal movement and photosynthesis. Plant Physiology Communications) 1984; 20(6): 8-14.
- 30 Szopkó D, Darkó É, Molnár I, Kruppa K, Háló B, Vojtkó A, *et al.* Photosynthetic responses of a wheat (Asakaze)-barley (Manas) 7H addition line to salt stress. Photosynthetica 2017; 55(2): 317-28.
- 31 王鸿蕉, 张丽萍, 刘志强, 刘旦梅, 金竹萍, 裴雁曦. 外源硫化氢对冷胁迫下白菜幼苗生长和光合作用的影响. 西北植物学报 (Wang Hongjiao, Zhang Liping, Liu Zhiqiang, Liu Danmei, Jin Zhuping, Pei Yanxi. Influence of H₂S on growth and photosynthesis of *Brassica rapa* var. *Pekinensis* under chilling stress. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica) 2015; 35(4): 780-6.
- 32 Jiang M, Yang W, Xu J, Chen Q. Active oxygen damage effect of chlorophyll degradation in rice seedlings under osmotic stress. Acta Bot Sin 1994; 36(4): 289-95.
- 33 金竹萍, 方慧慧, 张丽萍, 罗雅楠, 乔增杰, 龚泽华, 等. 硫化氢对拟南芥在干旱胁迫条件下的生理影响. 山西大学学报自然科学版 (Jin Zhuping, Fang Huihui, Zhang Liping, Luo Yanan, Qiao Zengjie, Gong Zehua, *et al.* Physiological effects of hydrogen sulfid under drought stress in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Shanxi University, Natural Science Edition) 2013; 36(1): 113-7.
- 34 顾骏飞, 周振翔, 李志康, 戴琪星, 孔祥胜, 王志琴, 等. 水稻低叶绿素含量突变对光合作用及产量的影响. 作物学报 (Gu Junfei, Zhou Zhenxiang, Li Zhikang, Dai Qixing, Kong Xiangsheng, Wang Zhiqin, *et al.* Effects of the mutant with low chlorophyll content on photosynthesis and yield in rice. Acta Agronomica Sinica) 2016; 42(4): 551-60.
- 35 郁 慧, 刘中亮, 胡宏亮, 关庆伟, 万福绪. 干旱胁迫对5种植物叶绿体和线粒体超微结构的影响. 植物研究 (Yu Hui, Liu Zhongliang, Hu Hongliang, Guan Qingwei, Wan Fuxu. Effect of drought stress on the ultramicrostructures of chloroplasts and mitochondria of five plants. Bulletin of Botanical Research) 2011; 31(2): 152-8.
- 36 姚庆群, 谢贵水. 干旱胁迫下光合作用的气孔与非气孔限制. 热带农业科学 (Yao Qingqun, Xie Guishui. The photosynthetic stomatal and nonstomatal limitation under drought stress. Chinese Journal of Tropical Agriculture) 2005; 25(4): 80-5.