

ORIGINAL ARTICLE

**The Relationships Among an Activity of the Alternative Pathway  
Respiratory Flux, a Content of Carbohydrates and a Frost-Resistance of  
Winter Wheat**

O.A. Borovik\*, O.I. Grabelnych, N.A. Koroleva, T.P. Pobezhimova,  
V.K. Voinikov

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of RAS, Irkutsk, Russia*

\*E-Mail: [ol.borovik@mail.ru](mailto:ol.borovik@mail.ru)

Received July 14, 2013

A content of carbohydrates and dehydrins in the leaves, activities of the alternative (AP) and the cytochrome (CP) pathways of respiration in mitochondria, isolated from leaves, during cold hardening continuous light (5 °C) and dark conditions with sucrose (2 °C) and relationships among these parameters and a frost-resistance of winter wheat have been investigated. The direct relationship among the content of carbohydrates, the activity of AP and frost-resistance of winter wheat has been detected. It has been concluded that the activity of the alternative oxidase during cold hardening of winter wheat depends on the content of soluble carbohydrates and is necessary to maintain metabolic (red/ox) homeostasis in the cell at low temperatures.

*Key words: alternative pathway, carbohydrates, mitochondria, frost-resistance, Triticum aestivum L.*

## ORIGINAL ARTICLE

**Связь Между Активностью Альтернативного Пути Дыхания,  
Содержанием Сахаров и Морозоустойчивостью Озимой Пшеницы**

О.А. Боровик\*, О.И. Грабельных, Н.А. Королева, Т.П. Побежимова,

В.К. Войников

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской Академии наук, 664033, Иркутск, Россия

\*E-Mail: [ol.borovik@mail.ru](mailto:ol.borovik@mail.ru)

Поступила в редакцию 14 июля 2013 г.

Изучено влияние холодового закаливания в условиях непрерывного освещения при 5 °С и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы при 2 °С на содержание водорастворимых углеводов и дегидринов в листьях, активность альтернативного (АП) и цитохромного (ЦП) путей транспорта электронов в изолированных из листьев митохондриях и морозоустойчивость растений озимой пшеницы. Выявлена прямая зависимость между содержанием сахаров, активностью АП и морозоустойчивостью озимой пшеницы. Сделан вывод, что активность альтернативной оксидазы при холодовом закаливании озимой пшеницы зависит от содержания водорастворимых углеводов и ее функционирование необходимо для поддержания метаболического (red/ox) гомеостаза в клетке в условиях низких температур.

*Key words: alternative pathway, carbohydrates, mitochondria, frost-resistance, Triticum aestivum L.*

Холодовое закаливание растений представляет собой сложный процесс, сопровождающийся глубокими изменениями в экспрессии множества генов, изменениями в структуре мембран, накоплением сахаров, аминокислот, антиоксидантов, повышением стрессовых гормонов, синтезом стрессовых белков, торможением деления и роста клеток, а также изменением энергетической составляющей клеточного метаболизма (Трунова, 2007; Viswanathan, Jian-Kang, 2002; Heidarvand, Amiri, 2010; Kosova *et al.*, 2012).

Наличие света является важным условием для успешного протекания первой фазы холодового закаливания растений (Туманов, 1979). В условиях закаливания на свету за счет фотосинтеза образуются сахара, а понижение температуры значительно снижает их расход на дыхание и процессы роста. Сахара выполняют осморегуляторную, антифризную, криопротекторную и антиоксидантную функции, напрямую или опосредованно участвуют в передаче низкотемпературного сигнала, активируя транскрипцию множества генов

(Трунова, 2007; Viswanathan, Jian-Kang, 2002; Heidarvand, Amiri, 2010). Митохондрии растений, будучи одним из центров регуляции энергетического метаболизма, играют ключевую роль в ответе растений на стрессовые воздействия (Jezek *et al.*, 2000; Grabelnych, 2005). От функционирования митохондрий зависит обеспеченность клеток энергией и эффективность холодового закаливания. Важную роль в низкотемпературной адаптации растений играет активация митохондриальных энерго рассеивающих систем. В растительных митохондриях обнаружены: альтернативная цианидрезистентная оксидаза (АО) (Vanlerberghe, 1992) и альтернативные ротенон-нечувствительные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы (Rasmusson, 2004; Rasmusson *et al.*, 2008), а также разобщающие белки (Ricquier, Bouillaud, 2000). При действии низких температур происходит ингибирование основного цитохромного пути транспорта электронов и активация альтернативного, связанного с функционированием альтернативной оксидазы (Armstrong *et al.*, 2008). В настоящее время получены многочисленные, зачастую неоднозначные экспериментальные данные, о функционировании АО в условиях низкотемпературного стресса. Так, под действием низких положительных температур происходит повышение транскриптов альтернативной оксидазы, содержания белка АО, а также увеличение ее активности (Грабельных и др., 2011; Armstrong *et al.*, 2008; Mizuno *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011). В то же время другими авторами представлены данные об отсутствии положительной корреляции между содержанием АО, ее активностью и устойчивостью растений к холоду (Stewart *et al.*,

1990; Ribas-Carbo *et al.*, 2000). Одной из функций АО является предотвращение образования свободных радикалов за счет снижения мембранного потенциала при несопряженном дыхании. Функционирование АО является первой линией защиты митохондрий от окислительного стресса (Грабельных и др., 2011; Maxwell *et al.*, 1999; Møller, 2001; Blokhina, Fagerstedt, 2010). Активация потока электронов через АП может предотвращать свёрхвосстановление электрон-транспортной цепи хлоропластов при избыточном освещении, эффективно рассеивая избыток восстановительных эквивалентов от хлоропластов (Yoshida *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2011). Активность АП коррелирует с содержанием сахаров, и его функционирование необходимо для удаления излишков углеводов (Azcon-Bieto *et al.*, 1983). Функционирование альтернативных путей дыхания может быть жизненно необходимо в ситуациях, когда отношения  $[НАДН]/[НАД^+]$  и  $[АТФ]/[АДФ]$  являются очень высокими, именно благодаря тому, что они способны окислить больше НАДН, производя при этом меньше АТФ, увеличивая, таким образом, поток субстратов окисления через дыхательную цепь (Rasmusson *et al.*, 2008).

Таким образом, несмотря на большое количество работ, посвященных функционированию АО, вопрос о роли этого фермента в условиях низких температур остается дискуссионным и его связь с морозоустойчивостью до конца не выяснена. В связи с этим, целью настоящей работы явилось изучение регуляции альтернативного цианидрезистентного пути дыхания в митохондриях из зеленых листьев озимой пшеницы, а также оценка взаимосвязи между

активностью АП, содержанием сахаров и морозоустойчивостью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Иркутская). Растения выращивали на опытной станции Фитотрон СИФИБР СО РАН в камере BINDER KBW 720 (Германия) на  $\frac{1}{2}$  раствора Кнопа при 23/20 °C (день/ночь), 16 ч фотопериоде и освещенности 250 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. Холодовое закаливание 7-ми суточных растений проводили в течение 7 дней на свету при 5 °C (24 ч фотопериод, 200 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>) и в темноте при 2 °C на 12%-ом растворе сахарозы. Контрольные растения озимой пшеницы использовали в возрасте 9 суток, в этом возрасте по своим физиологическим параметрам они соответствовали закаленным растениям. Для оценки морозоустойчивости растения промораживали в камере BINDER MKT 240 (Германия) при температурах от -2 до -20 °C (снижение температуры происходило раз в сутки со скоростью 1 °C/ч). Количественное содержание водорастворимых сахаров определяли с антроновым реактивом (Дише, 1967). Митохондрии выделяли из зеленых листьев с помощью дифференциального центрифугирования и очищали в градиенте перколла. Все операции по выделению митохондрий проводили при температуре 0-3 °C. Разрушение растительной ткани (50-60 г) осуществляли в ступке, соотношение навески растительного материала (г) и объема среды выделения (мл) составляло 1:4. Для выделения митохондрий были использованы среды по Keech с соавт. (Keech *et al.*, 2005) с некоторыми модификациями. Среда гомогенизации содержала 300 мМ сахарозу, 40 мМ MOPS-KOH

(рН 8,0), 2 мМ ЭДТА, 10 мМ КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, 1 мМ глицин, 1% PVP-40 (водорастворимый), 50 мМ аскорбат, 20 мМ цистеин и 0,5% бычий сывороточный альбумин (БСА). Гомогенат, полученный после разрушения растительного материала, отжимали через капроновую ткань и для осаждения ядер и крупных клеточных фрагментов центрифугировали 10 мин при 3000 g. Осадок отбрасывали и супернатант центрифугировали еще раз при 3000 g в течение 5 мин. Затем осадок отбрасывали, а митохондрии из супернатанта осаждали при 15000 g в течение 15 мин. Полученный осадок промывали средой, содержащей 300 мМ сахарозу, 10 мМ MOPS-KOH (рН 7,5), 10 мМ КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> и 0,5% БСА. Повторное осаждение митохондрий после промывания проводили при 15000 g в течение 15 мин. Суспензию промытых митохондрий (170-200 мг белка) ресуспендировали в 1 мл среды промывания и наслаивали на градиент перколла, приготовленный на среде, содержащей 300 мМ сахарозу, 10 мМ MOPS-KOH (рН 7,5), PVP-40 и 0,1% БСА. Градиент состоял из 22, 8 и 6 мл 28, 45 и 60% (объем/объем) перколла ("Sigma", США), соответственно. После центрифугирования градиента при 24500 g в течение 60 мин (для закаленных растений 40 мин) получали четыре фракции клеточных компонентов, фракция интактных митохондрий локализовалась в нижней части 28% перколла на границе с 45% перколлом. Освобождение митохондрий от перколла осуществляли разбавлением последнего в 20 раз средой промывания (объем/объем) с 0,1% БСА. Осаждение митохондрий из разбавленной суспензии проводили при 24500 g в течение 15 мин. Осадок очищенных митохондрий повторно промывали 10 объемами среды промывания с

0,1% БСА и переосаждали в течение 5 мин при 24500 g. Все указанные центрифугирования осуществляли в центрифуге Allegra 64 R BECKMAN COULTER (США). Суспензию очищенных митохондрий (1,4-2,0 мг белка) ресуспендировали в среде промывания с 0,1% БСА и хранили на льду.

Окислительную и фосфорилирующую активность выделенных митохондрий регистрировали полярографически с платиновым электродом закрытого типа (электрод Кларка) в ячейке объемом 1,4 мл на полярографе ОН-105 (Венгрия) при температуре 26 °С. Среда инкубации содержала 18 мМ  $\text{K}_2\text{PO}_4$  (рН 7,4), 300 мМ сахарозу, 125 мМ КСl, 5 мМ ЭДТА и 0,3% БСА. При окислении НАДН из среды исключали ЭДТА. В качестве субстратов окисления использовали 10 мМ малат в присутствии 10 мМ глутамата, 1 мМ НАДН и 1 мМ глицин. Глутамат добавляли для устранения оксалоацетатного ингибирования. При окислении НАДН в среду инкубации добавляли 3 мкМ ротенон (ингибитор транспорта электронов через комплекс I дыхательной цепи) и 0,06 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  (активатор ротенон-нечувствительных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ). При окислении глицина в среду вносили 0,2 мМ НАД<sup>+</sup>. Для активации альтернативной оксидазы среда инкубации содержала 1 мМ пируват и 5 мМ дитиотреитол. Конечная концентрация АДФ в ячейке была 100 мкМ. Вклад альтернативного пути рассчитывали в % как дыхание, резистентное к 1,2 мМ цианиду калия (KCN) и ингибируемое 3 мМ бензгидроксамовой кислотой (БГК).

Интактность внешней мембраны митохондрий рассчитывали по скорости аскорбат-зависимого стимулированного цитохромом с KCN-чувствительного поглощения

кислорода в отсутствие и присутствии 0,04% Тритона X-100 (Davy de Virville et al., 1994). Интактность митохондрий, выделенных из листьев, составляла 85-90%. Содержание суммы хлорофиллов (*a+b*) в грубой и очищенной фракциях митохондрий определяли на спектрофотометре при 652 нм после экстракции 80% ацетоном по формуле Арнона (Arnon, 1949). Содержание хлорофилла в полученной суспензии не превышало 3% от его содержания в грубой фракции митохондрий. Содержание дегидринов в листьях определяли с помощью электрофореза в 12,5% ПААГе с ДДС-На и вестерн-блоттинга с антителами против дегидринов (любезно предоставлены проф. Т.Д. Close, США) на уникальную для дегидринов лизин-богатую консервативную группу вблизи карбоксильного остатка (K-сегмент) (Close et al., 1993).

Проводили не менее трех независимых экспериментов. Представлены средние арифметические значения и их стандартные отклонения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В связи с поставленной целью нами было изучено влияние холодового закаливания (в условиях круглосуточного освещения и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы) на синтез дегидринов и содержание водорастворимых углеводов в листьях, вклад альтернативного и цитохромного путей транспорта электронов в дыхание изолированных митохондрий, а также морозоустойчивость растений озимой пшеницы.

Холодовое закаливание в течение 7 суток, как в условиях круглосуточного освещения, так и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы приводило к синтезу в листьях высоко- и низкомолекулярных дегидринов с

приблизительными молекулярными массами 209, 196, 68, 52, 46, 32, 24, 18, 16,5 кДа (рис. 1). Увеличение содержания дегидринов с молекулярными массами 209, 196, 68 и 52 кДа происходило через сутки закаливания в условиях непрерывного освещения и через 3 суток закаливания в темноте на растворе сахарозы. Из рис. 1 видно, что синтез дегидринов с молекулярной массой 24 кДа происходил только в листьях, закаливающихся в темноте на растворе сахарозы. Синтез стрессовых белков дегидринов в листьях свидетельствует об эффективности холодового закаливания озимой пшеницы.

Результаты, представленные на рис. 2, показывают, что холодовое закаливание в условиях круглосуточного освещения и в темноте на растворе сахарозы приводит к увеличению содержания водорастворимых углеводов. Если в контрольных растениях содержание сахаров составляло всего 2%, то при закаливании в условиях непрерывного освещения и в темноте на растворе сахарозы происходило их увеличение до 22,6% и 26,4%, соответственно.

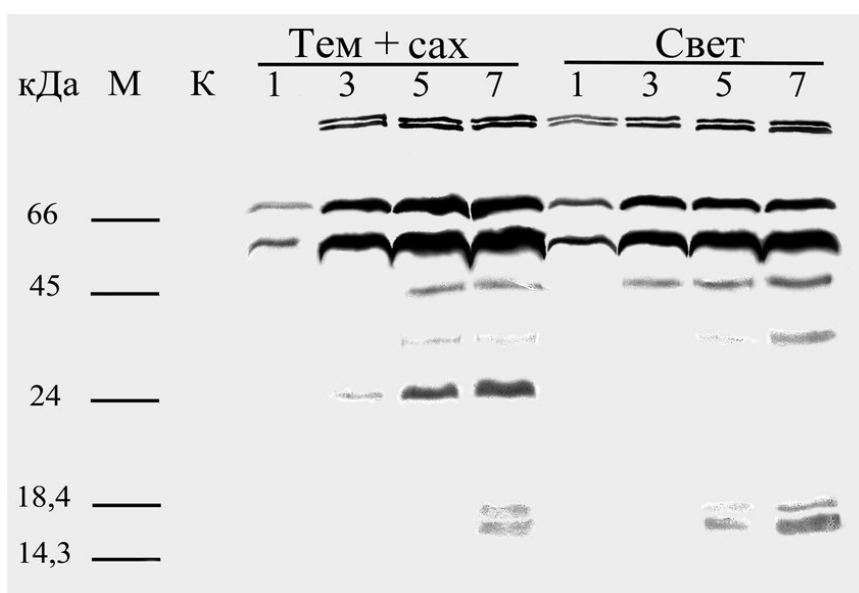
Для оценки морозоустойчивости растения промораживали при температурах от  $-2$  до  $-20$  °С. Оценивали параметр  $LT_{50}$  (температура, вызывающая гибель 50% проростков). Как видно из рис. 3 наиболее морозоустойчивыми были растения, закаленные в темноте на 12%-ом растворе сахарозы ( $LT_{50} = -15,6$  °С).  $LT_{50}$  для растений, закаленных в условиях круглосуточного освещения составляла  $-13,8$  °С, а для контрольных растений всего  $-2$  °С. Данные рис. 2 и рис. 3 указывают на прямую зависимость морозоустойчивости от содержания сахаров в листьях.

С использованием изолированных из листьев озимой пшеницы митохондрий проанализирован вклад в дыхание АП и ЦП, соотношение которых представлено на рис. 4. Митохондрии из зеленых листьев окисляли малат, НАДН и глицин. Как видно из рис. 4 более высокий вклад АП в дыхание наблюдался при окислении малата и НАДН митохондриями из контрольных листьев, в то время как в митохондриях из закаленных листьев активность АП была больше в митохондриях при окислении малата. В митохондриях из листьев, закаленных в условиях непрерывного освещения, происходило увеличение активности АП при окислении малата в 2,3 раза, НАДН – в 1,2 раза и глицина – в 1,5 раза (рис. 4). Увеличение активности АП в митохондриях из листьев, закаленных в темноте на растворе сахарозы, происходило при окислении малата в 3 раза, НАДН в 2 раза и глицина в 1,2 раза. Увеличение активности АО при окислении субстратов дыхания (малат, НАДН и глицин) в условиях холодового закаливания растений озимой пшеницы указывает на необходимость АП дыхания для поддержания нормального функционирования не только ЭТЦ хлоропластов и митохондрий, но и дыхательного (энергетического) метаболизма в целом.

Таким образом, выявлена прямая зависимость между содержанием сахаров, вкладом альтернативной оксидазы в дыхание и морозоустойчивостью зеленых растений озимой пшеницы. Показано, что растения, закаленные как на непрерывном свете, так и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы, развивали высокую морозоустойчивость. В этих условиях закаливания наблюдали увеличение содержания сахаров (в 11 и 13 раз,

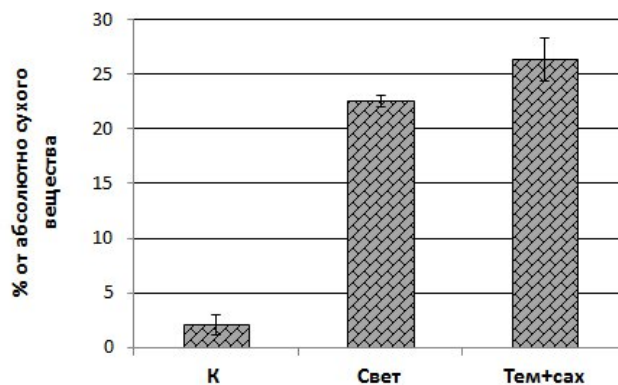
соответственно) и активности АП при окислении малата (увеличение АП/ЦП в 2,3 и 3 раза, соответственно), НАДН (увеличение АП/ЦП в 1,2 и 2 раза, соответственно) и глицина (увеличение АП/ЦП в 1,5 и 1,2 раза, соответственно). Полученные данные позволяют заключить, что увеличенная активность митохондриального альтернативного пути дыхания в листьях озимой пшеницы в условиях холодового закаливания,

вероятно, способствует нормальному функционированию фотосинтетического аппарата хлоропластов, предотвращая окислительный стресс, и сопровождается накоплением сахаров и увеличением морозоустойчивости растений. Таким образом, выявлена важная роль альтернативного цианидрезистентного пути дыхания в развитии морозоустойчивости растений озимой пшеницы.

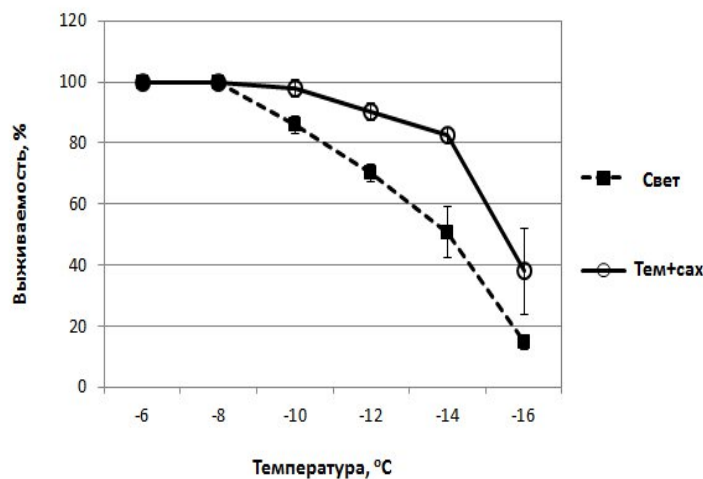


**Рисунок 1.** Накопление дегидринов в листьях озимой пшеницы при холодовом закаливании в условиях непрерывного освещения (5 °С, 7 суток) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (2 °С, 7 суток).

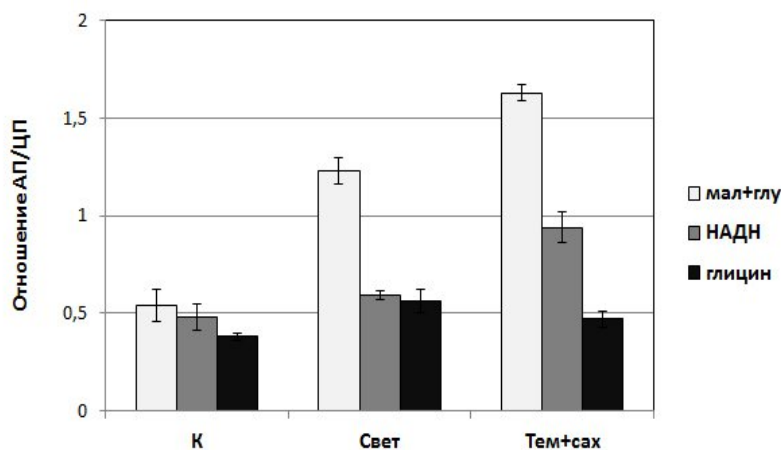
Обозначения: М – маркеры молекулярного веса, кДа; К – контрольные растения, выращенные при 23/20 °С, 16 ч фотопериод, 9 суток; Тем+сах – растения, закаленные при 2 °С в темноте на 12%-ом растворе сахарозы; Свет – растения, закаленные при 5 °С, 24 ч фотопериод; 1, 3, 5, 7 – сутки холодового закаливания.



**Рисунок 2.** Влияние холодового закаливания в условиях непрерывного освещения (Свет) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (Тем+сах) на содержание водорастворимых углеводов в листьях озимой пшеницы.



**Рисунок 3.** Влияние холодового закаливания в условиях непрерывного освещения (Свет) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (Тем+сах) на морозоустойчивость растений озимой пшеницы.



**Рисунок 4.** Влияние холодового закаливания в условиях непрерывного освещения (Свет) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (Тем+сах) на соотношение альтернативного (АП) и цитохромного (ЦП) путей дыхания в изолированных митохондриях при окислении малата, НАДН и глицина.

Обозначения: мал+глу – 10 мМ малат в присутствии 10 мМ глутамата; НАДН – 1 мМ НАДН, глицин – 1 мМ глицин.

#### ACKNOWLEDGEMENT

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8266.

#### ЛИТЕРАТУРА

Грабельных, О.И., Побежимова, Т.П., Павловская, Н.С., Королева, Н.А., Боровик, О.А., Любушкина, И.В., Войников, В.К. (2011) Антиоксидантная функция альтернативной

оксидазы в митохондриях озимой пшеницы при холодовом закаливании. *Биол. мембраны*, **28**, 4, 274–283.

Дише, З. (1967) Общие цветные реакции. Методы химии углеводов. М: Мир, 21–24.

Трунова, Т.И. (2007) Растение и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 54 с.

Туманов, И.И. (1979) Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука, 352 с.



- Armstrong, A.F., Badger, M.R., Day, D.A., Barthet, M.M., Smith, P.M., Millar, A.H., Whelan, J. and Atkin, O.K. (2008) Dynamic changes in the mitochondrial electron transport chain underpinning cold acclimation of leaf respiration. *Plant, Cell and Envir.*, **31**, 1156–1169.
- Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiol.*, **24**, 1, 1–15.
- Azcon-Bieto, J., Lambers, H., Day, D.A. (1983) Effect of photosynthesis and carbohydrate status on respiratory rates and the involvement of the alternative pathway in leaf respiration. *Plant Physiol.*, **72**, 598–603.
- Blokhina, O. and Fagerstedt, K. V. (2010) Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Plant Physiol. and Biochem.*, **48**, 359–373.
- Close, T.J., Fenton, R.D., Moonan, F. (1993) A view of plant dehydrins using antibodies specific to the carboxy terminal peptide. *Plant Mol. Biol.*, **2**, 279–286.
- Davy de Virville, J., Aaron, I., Alin, M.F., Moreau, F. (1994) Isolation and properties of mitochondria from *Arabidopsis thaliana* cell suspension cultures. *Plant Physiol. Biochem.*, **32**, 159–166.
- Grabelnych, O.I. (2005) The energetic functions of plant mitochondria under stress. *J. Stress Physiol. & Biochem.*, **1**, 37–54.
- Heidarvand, L. and Amiri, R.M. (2010) What happens in plant molecular responses to cold stress? *Acta Physiol. Plant.*, **32**, 419–431.
- Jezeq, P., Záčková, M., Kosarová, J., Rodrigues, E.T., Madeira, V.M. and Vicente, J.A. (2000) Occurrence of plant-uncoupling mitochondrial protein (PUMP) in diverse organs and tissues of several plants. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **32**, 6, 549–561.
- Keech, O., Dizengremel, P. and Gardestrom, P. (2005) Preparation of leaf mitochondria from *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plantarum*, **124**, 403–409.
- Kosová, K., Prásil, I., Vítámvás, P., Dobrev, P., Motyka, V., Floková, K., Novák, O., Turecková, V., Rolcik, J., Pesek, B., Trávníčková, A., Gaudinová, A., Galiba, G., Janda, T., Vlasáková, E., Prásilová, P. and Vanková, R. (2012) Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. *J. of Plant Physiol.*, **169**(6), 567–576.
- Maxwell, D.P., Wang, Y. and McIntosh, L. (1999) The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 8271–8276.
- Mizuno, N., Sugie, A., Kobayashi, F., Takumi, S. (2008) Mitochondrial alternative pathway is associated with development of freezing tolerance in common wheat. *J. of Plant Physiol.*, **165**, 462–467.
- Møller, I.M. (2001) Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **52**, 561–591.
- Rasmusson, A.G. (2004) Alternative NAD(P)H dehydrogenases of plant mitochondria. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **55**, 23–39.
- Rasmusson, A.G., Geisler, D.A., Møller, I.M. (2008) The multiplicity of dehydrogenases in the electron transport chain of plant mitochondria. *Mitochondrion*, **8**, 47–60.

- Ribas-Carbo, M., Aroca, R., Gonzalez-Meler, M. A., Irigoyen, J.J. and Sanchez-Diaz, M. (2000) The electron partitioning between the cytochrome and alternative respiratory pathways during chilling recovery in two cultivars of maize differing in chilling sensitivity. *Plant Physiol.*, **122**, 199–204.
- Ricquier, D. and Bouillaud, F. (2000) Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *J. Physiol.*, **529**, 3–10.
- Stewart, C.R., Martin, B.A., Reding, L. and Cerwick, S. (1990) Respiration and alternative oxidase in corn seedling tissues during germination at different temperatures. *Plant Physiol.*, **92**, 755–760.
- Vanlerberghe, G.C. (1992) Lower grows temperature increases alternative pathway capacity and alternative oxidase protein in tobacco. *Plant Physiol.*, **100**, 115–119.
- Viswanathan, C. and Jian-Kang, Z. (2002) Molecular genetic analysis of cold-regulated gene transcription. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **357**, 877–886.
- Wang, J., Rajakulendran, N., Amirsadeghi, S. and Vanlerberghe, G.C. (2011) Impact of mitochondrial alternative oxidase expression on the response of *Nicotiana tabacum* to cold temperature. *Physiol. Plantarum*, **142**, 339–351.
- Xu, F., Yuan, S., Lin, H. (2011). Response of mitochondrial alternative oxidase (AOX) to light signals. *Plant Signaling & Behavior*, **6**, 1, 55–58.
- Yoshida, K., Terashima, I., Noguchi, K. (2011) How and why does the mitochondrial respiratory chain respond to light. *Plant Signaling & Behavior*, **6**, 6, 864–866.