

高温胁迫下转甜椒正义甘油-3-磷酸酰基转移酶基因 (*GPAT*) 烟草缓解 PS II 光抑制

颜 坤¹, 陈 娜², 曲妍妍¹, 郭 峰¹, 孟庆伟¹, 赵世杰¹

(¹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; ²中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要: 【目的】探讨类囊体膜脂组成与高温光抑制的关系。【方法】以转甜椒正义甘油-3-磷酸酰基转移酶基因 (*GPAT*) 的烟草植株为试验材料, 测定了类囊体膜脂组成, 高温胁迫后的光合参数和叶绿素荧光参数。【结果】转基因烟草植株类囊体膜的单半乳糖甘油二酯 (MGDG), 双半乳糖甘油二酯 (DGDG), 硫代异鼠李糖甘油二酯 (SQDG) 和磷脂酰甘油 (PG) 的饱和程度均上升, 其中 MGDG 饱和程度增加了 16.2%, 上升幅度最为显著。随胁迫温度的升高, 转基因烟草植株与野生型植株 F_v/F_m , $\Phi PS II$ 和 P_n 逐渐下降, 但转基因植株下降幅度小于野生型, 48℃ 时差异最为显著。【结论】转基因烟草植株类囊体膜脂脂肪酸饱和度增加, 提高了 PS II 热稳定性, 缓解了 PS II 光抑制。

关键词: 甜椒甘油-3-磷酸酰基转移酶基因; 烟草; 类囊体膜脂; 高温胁迫; PS II 光抑制

Tobacco Transformed with Sweet Pepper Sense *GPAT* Alleviates PS II Photoinhibition Under High Temperature Stress

YAN Kun¹, CHEN Na², QU Yan-yan¹, GUO Feng¹, MENG Qing-wei¹, ZHAO Shi-jie¹

(¹College of Life Sciences, Shandong Agriculture University/State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018;

²Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract: 【Objective】In order to investigate the relationship between lipid composition in thylakoid membrane and high temperature-induced photoinhibition. 【Method】Tobacco plants transformed with sweet pepper sense *GPAT* were used to analyze the lipids composition of thylakoid membrane, the photosynthetic and chlorophyll fluorescence parameters after high temperature stress. 【Result】The results suggested that the saturated extent of MGDG, SQDG, DGDG and PG in thylakoid membrane of transgenic tobacco plants generally increased. However, the saturated extent of MGDG increased obviously by 16.2%. With stress temperature rising, F_v/F_m , $\Phi PS II$ and P_n of transgenic and wild type tobacco plants decreased gradually, but those parameters in transgenic plants decreased less than wild type plants. The significant difference occurred at 48℃. 【Conclusion】The increase in saturated thylakoid membrane lipids of transgenic plants enhanced the stability of PS II and alleviated PS II photo-inhibition under high temperature.

Key words: *CaGPAT*; Tobacco; Membrane lipids of thylakoid; High temperature stress; PS II photo-inhibition

0 引言

【研究意义】生物膜上各种脂类的饱和程度影响其生理功能^[1,2], 与植物对温度逆境的响应有着密切的关系。甘油-3-磷酸酰基转移酶 (*GPAT*) 作为甘油酯合成途径中的第一个酶^[3], 对不同底物的选择性差异

影响类囊体膜甘油脂的饱和程度, 因此 *GPAT* 在植物膜系统对温度响应过程中起重要作用。【前人研究进展】1978 年, Percy^[4]研究发现, 随着植物生长环境温度的提高, 叶片中的膜脂脂肪酸饱和度增加, 在高温胁迫下光合作用的稳定性增强, 此后膜脂饱和度与植物高温抗性间的关系受到人们的广泛关注。

收稿日期: 2006-11-27; 接受日期: 2007-04-06

基金项目: 国家自然科学基金 (30471053) 资助

作者简介: 颜 坤 (1983-), 男, 山东泗水人, 硕士研究生, 研究方向为光合作用过程及分子调控。Tel: 0538-8242902; Email: yankun241@163.com。
通讯作者赵世杰 (1960-), 男, 山东寿光人, 副教授, 研究方向为光合作用与抗逆性。Tel: 0538-8246167; Email: sjzhao@sdau.edu.cn

Berry 等^[5]研究认为高温对光合机构伤害的原初部位是光系统 II (PS II), 由于 PS II 中一些重要的色素蛋白复合体都结合在叶绿体的类囊体膜上, 高温引起类囊体膜脂组成或结构的变化, 影响到 PS II 的功能和稳定性, 导致其光能转化效率降低^[6,7]。Raison 等^[8]的研究证实了 Pearcy 和 Berry 等的结论。Murakami 等^[9]通过遗传修饰使转基因烟草中编码叶绿体脂肪酸去饱和酶的基因沉默, 导致类囊体膜脂不饱和脂肪酸水平下降, 比野生型更好地适应高温, 表明降低膜脂不饱和和脂肪酸含量可以改善高温条件下植物的光合作用和生长。然而, Gombos 等^[10]和 Moon 等^[11]研究认为膜脂脂肪酸饱和程度的提高并没有改变植物适应高温胁迫的能力。【本研究切入点】因此, 高温胁迫下膜脂脂肪酸饱和程度与光合机构稳定性的关系有待进一步证明。【拟解决的关键问题】为探讨类囊体膜脂组成与高温光抑制的关系, 我们克隆了甜椒 *GPAT* 基因, 研究了其表达特性^[12], 并获得转基因烟草植株, 分析了其类囊体膜脂组成以及对 PS II 热稳定性的影响。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及处理

以农杆菌 LBA4404 介导, PBI121 为表达载体, 将甜椒正义 *GPAT* 基因转入烟草 (NC89)。Northern 杂交分析表明第 2 株系表达量最高, 因此选择其 T₁ 代和野生型烟草为试验材料, 种植到基质与土壤比例为 1 : 1 的花盆中, 并放置于温室中培养, 温度为 (25±4) °C, 光照强度约为 400 μmol·m⁻²·s⁻¹, 相对湿度约 75%。当烟苗生长 3 个月, 倒数第 3、4 叶全展, 用于各项测定。

将整株烟草放入光照培养箱中进行温度处理 (27 °C、35 °C、40 °C、44 °C、48 °C), 处理时间为 4 h, 重复至少 4 次, 将处理后的材料取出, 放于大型卤灯下光适应 20 min, 光强为 800 μmol·m⁻²·s⁻¹, 测定倒数第 3、4 全展开叶片的气体交换参数和叶绿素荧光参数。

1.2 转基因植株 *GPAT* 基因表达分析

对转基因烟草植株进行 Northern 杂交分析。用 TRIZOL 法分别提取转基因烟草和野生型烟草叶片中总 RNA, 然后以 3'端约 500 bp 特异性较强的片断合成探针模板, 进行 Northern 杂交。合成探针模板的引物序列为 ZJ1: GAAGGAGATGGCTATGCTAT; ZJ2: GGTATTGATGCCTCCAGTCCT。

1.3 类囊体膜脂的提取和分析

按苏维埃等^[13]的方法提取极性脂。其过程为: (1)

将研钵置于冰上预冷 10 min, 在烟草叶片上打取 5 个叶圆片放入研钵中, 加入 9 ml 氯仿 : 甲醇 (1 : 2) 混合液, 将叶片研磨成匀浆; (2) 将匀浆转移到 50 ml 离心管中, 于振荡器上混匀后静置 20 min; (3) 向离心管中加入 3 ml 氯仿和 5.4 ml 0.9 mol·L⁻¹ KCl, 混匀后 1 500 g 离心 15 min; 离心的同时将硅胶板 (10 cm×10 cm, 青岛海洋化工厂产品) 在点样处做好标记并置于 105 °C 烘箱中活化 1 h; (4) 离心后吸取下层液入尖底玻璃管中并用 N₂ 吹干; (5) 将管底粉末用 0.2 ml 氯仿 : 甲醇 (2 : 1) 混合液溶解、定容。(6) 用进样针取 10 μl 样品, 加入 4.99 ml 80%丙酮混匀后, 1 000 g 离心 2 min, 取上清液。然后以 80%丙酮为参比, 使用 UV-160 型分光光度计测定样品在 645 nm 和 663 nm 下的吸光值, 并通过下面的公式计算叶绿素浓度: 叶绿素浓度 (mg·ml⁻¹) = [(20.29×D₆₄₅+8.05×D₆₆₃)/1 000]×500。

类脂分析按朱亚芳和苏维埃^[14]的方法。(1) 按照叶绿素含量为 50 μg 的量来上样, 将样品点在硅胶板左下角, 距左侧和下侧边缘均为 1 cm 处, 样品要尽量点均匀; (2) 点完样后用吹风机将硅胶板上的样品吹干, 放入第一向展层液中 (丙酮 : 苯 : 水=91 : 30 : 8) 展层; 当展层液接近硅胶板的上边缘时, 将硅胶板取出, 用吹风机吹干, 将硅胶板翻转 90°置于第二向展层液 (氯仿 : 甲醇 : 28%氨水=13 : 7 : 1) 进行第二向层析; (3) 展层结束后, 向硅胶板上均匀喷洒显色剂樱草灵, 在紫外灯下观察, 标出各类脂的位置。(4) 刮板, 将 4 种脂分开装入试管中; (5) 向试管中分别加入 1 ml 0.4 mol·L⁻¹ KOH/甲醇及 1 ml 苯 : 石油醚 (1 : 1) 混合液, 静置 15 min, 使脂类进行甲酯化; (6) 向每个试管加入 8 ml 蒸馏水, 混匀后 120 g 离心 3 min; (7) 取上清液分别置于 4 个 1.5 ml 的离心管中, 用 N₂ 吹干; (8) 向离心管中加入 10 μl 氯仿定容, 取 2 μl 进行气相层析, 分析各种脂肪酸含量。色谱条件为: Shimadzu GC-2010 型气相色谱仪, 色谱柱为 30 m×0.53 mm×0.25 μm 的石英毛细管柱; 柱温 190 °C, 进样口和检测器温度均为 290 °C; 载气为高纯氮, 氮气流速 300 ml·min⁻¹; 进样方式为直接注射; 归一化法计算结果。

1.4 叶绿素荧光参数的测定

采用脉冲调制式荧光仪 FMS2 (英国 Hansatech 公司) 测定叶绿素荧光参数。将高温处理后的烟草在 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 光下适应后, 测定光下荧光参数 Fs、Fm', 再打远红光 3S 测定 Fo', 然后暗适应 15 min 测

定 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 等参数, 试验时温度为 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。根据相关公式推算 $\Phi\text{PS II}$, F_v'/F_m' , qP 以及 NPQ 。

1.5 气体交换参数的测定

采用 CIRAS-2 便携式光合作用测定系统 (英国 PP Systems 公司) 在室温和大气 CO_2 浓度下测定净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、胞间 CO_2 浓度 (C_i), 测定时的光照强度达到被测材料的光饱和点, 为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

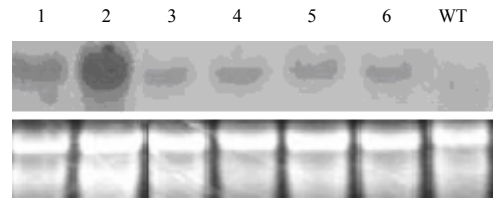
2 结果与分析

2.1 转基因烟草表达分析

Northern 杂交分析表明甜椒 *GPAT* 基因在烟草植株中表达, 并且转基因株系 T_1-2 表达量最高, 因此笔者选此株系研究生理功能。

2.2 转基因烟草植株类囊体膜脂组成的变化

由图 2-A 可见, 转基因烟草植株类囊体膜上 4 种主要的类脂的相对含量并没有发生显著性变化, 只是



1~6: 转基因烟草株系; WT: 野生型烟草

1-6: Indicates lines of transgenic tobacco plants; WT: Indicates wild type tobacco plants

图 1 转基因烟草植株 Northern 杂交分析

Fig. 1 Northern blotting analysis of transgenic tobacco plants.

PG 的含量稍有增加, 表明 *GPAT* 基因在烟草中过量表达, 并没有影响到甘油酯合成的两个途径间的转运。相对于野生型, 转基因植株饱和脂肪酸的含量有所提高, 其中 *SQDG*, *DGDG* 和 *PG* 分别增加了 6%, 5.9% 和 4.2%, 而 *MGDG* 增加 16.2%, 最为显著 (图 2-B)。

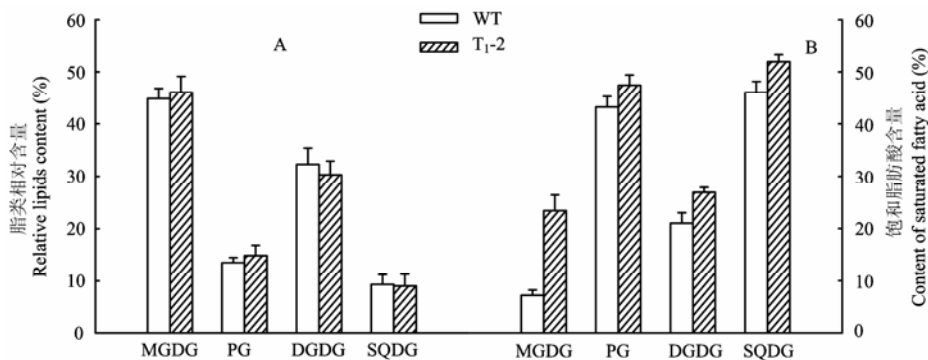


图 2 转基因烟草植株类囊体膜脂含量与各类脂饱和指数的变化

Fig. 2 Changes of lipid content and saturated index of lipids in thylakoid membrane of transgenic tobacco plants

2.3 高温胁迫下转基因烟草植株叶绿素荧光参数的变化

当植物受到逆境胁迫时, F_o 上升, 表明 PS II 反应中心失活或破坏^[15]。在 44°C 胁迫下, 转基因植株与野生型的 F_o 开始明显上升, 但转基因植株上升幅度较小 (图 3-A)。 F_v/F_m 反映的是 PS II 的光化学潜力, 同时也是植物光抑制程度的指标。 35°C 下, 无论野生型或转基因植株的 F_v/F_m 并没有发生明显的变化 (图 3-B), 在 $40\sim 48^\circ\text{C}$ 处理之间, 两者都有所下降, 野生型植株的降幅显著大于转基因植株, 说明转基因植株 PS II 高温光抑制程度较轻。 F_v'/F_m' 表示 PS II 天线的转换效率, 反映了光照下开放的 PS II 反应中心激发

能的捕获效率。光化学猝灭系数 qP , 反映 PS II 的开放程度, 也可以间接表示 PS II 激发压力。 $\Phi\text{PS II}$ 反映在光照下 PS II 反应中心部分关闭情况下的实际光化学效率。在高温胁迫下转基因植株与野生型 $\Phi\text{PS II}$, F_v'/F_m' , qP 变化趋势相同 (图 3-C, D, E), 在 35°C 时无明显差异, $40\sim 48^\circ\text{C}$ 之间转基因植株下降的幅度明显小于野生型, 48°C 胁迫下, 野生型植株分别下降 42.3%、31%、16.2%, 而转基因植株分别只下降了 24.2%、16%、10.3%, 差异最为显著。随着胁迫温度的升高, 转基因植株和野生型植株 NPQ 逐渐增加, 但野生型的上升幅度较大, 说明在高温胁迫下转基因烟草叶片捕获光能较多的用于光合电子传递。

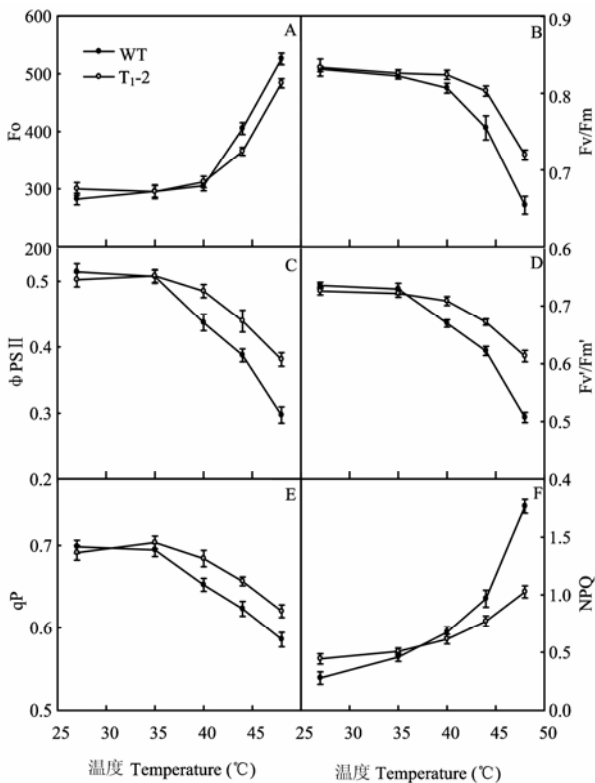


图 3 高温胁迫下转基因烟草植株荧光参数的变化

Fig. 3 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in transgenic tobacco plants under high temperature stress

3.4 高温胁迫下转基因烟草植株 P_n 、 G_s 和 C_i 的变化

随着胁迫温度的升高, 转基因烟草植株与野生型植株 P_n 下降, 但转基因植株下降幅度显著小于野生型 (图 4-A), 48°C 胁迫下, 野生型植株光合速率下降约 75%, 而转基因植株只下降了 47.3%。在各温度处理下, 转基因植株与野生型植株 G_s 成下降趋势,

但 C_i 在 40°C 前变化不大, 在 40~48°C 之间呈上升趋势。说明在高温处理下转基因植株与野生型植株 P_n 的下降不是气孔限制的结果。

3 讨论

甘油-3-磷酸酰基转移酶的主要功能是把不同碳链的脂肪酸 (棕榈酸, 油酸) 加到甘油骨架的 sn-1 位。一般植物甘油-3-磷酸酰基转移酶对油酸具有较高的选择性, 但是冷敏感植物甘油-3-磷酸酰基转移酶对棕榈酸和油酸具有同样的选择性^[16], 由于棕榈酸结合到甘油骨架后不利于进一步的不饱和化, 从而使膜上各种脂类的饱和程度升高。本研究证明冷敏感植物甜椒甘油-3-磷酸酰基转移酶基因在烟草中表达, 使类囊体膜上 4 种主要脂类饱和程度都有所提高 (图 2-B), 其中 MGDG 的饱和程度上升最为显著, 但各种脂类的相对含量变化不大, 只是 PG 含量稍有上升 (图 2-A)。

类囊体膜上存在有大量非双分子层结构的脂类 MGDG^[17], 对于膜双分子层中大分子复合体的稳定性至关重要^[18], 但其在高温下容易发生相变^[19-21], 从而破坏类囊体膜结构组成, 影响其正常功能。类囊体膜脂饱和度的增加, 特别是 MGDG 中饱和脂肪酸含量的增加可以提高相变温度, 增加光合膜热稳定性^[22,23]。PS II 复合体位于类囊体膜上, 光合膜的热稳定性对于 PS II 在高温下的结构和功能至关重要。Fo 的上升不仅反映了 PS II 反应中心失活, 同时也是光合膜热稳定性的重要指标^[24]。在高温胁迫下, 转基因烟草植株 Fo 的上升较慢 (图 3-A), 类囊体膜相对稳定, Fv/Fm 降幅较小, PSII 受伤害较轻 (图 3-B)。

不同高温处理后, 转基因烟草植株 P_n 下降幅度显著小于野生型植株 (图 4-A), 说明高温胁迫下转基因烟草光合能力强于野生型。高温胁迫后, Φ_{PSII} (图

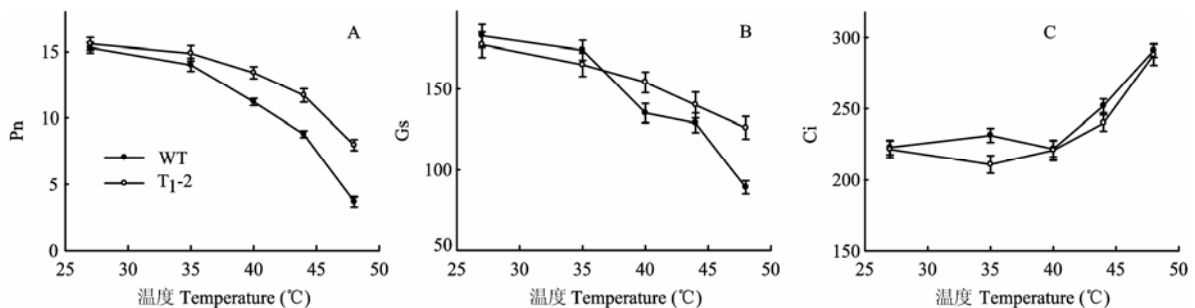


图 4 高温胁迫下转基因烟草植株 P_n 、 G_s 和 C_i 的变化

Fig. 4 Changes of P_n , G_s and C_i in the transgenic tobacco plants under high temperature stress

3-C) 变化趋势与 Pn 一致, 而且转基因植株 Φ PS II 下降幅度小, 笔者认为转基因烟草 PS II 在高温下能够维持较高的实际光化学效率, 从而保证了光合作用所需同化力的合成, 在一定程度上缓解了 Pn 的下降。高温胁迫导致天线构象发生改变, 并与 PS II 反应中心相分离即天线脱落^[21,25,26]。高温处理后转基因植株 Fv/Fm' 降幅较小 (图 3-D), 证明其 PS II 捕光天线较稳定, 可能与 SQDG 中脂肪酸饱和程度升高有关^[27]。陈峰等^[28]认为高温首先伤害 PS II 反应中心受体侧电子传递体。qP 下降代表 PS II 反应中心关闭部分增多, Q_A 积累量增多, 受体侧接受电子的能力减弱, 而转基因植株 qP 下降小于野生型 (图 3-E)。转基因烟草类囊体膜脂饱和度的升高缓解了 Fv/Fm'、qP 和 Φ PS II 的下降, 捕获能量更多的用于光化学反应, 因此热耗散部分相对较少 (图 3-F)。

转甜椒 GPAT 基因烟草类囊体膜脂饱和度的增加有利于在高温下维持较好的光合性能。但 Moon 等^[11]的研究表明, PG 中饱和脂肪酸含量提高了 14% 的转基因烟草, 并没有提高 PS II 在高温下的活性。笔者认为 PG 大约只占膜上总的脂类的 7%, 即使其饱和脂肪酸含量增加 14%, 也不足以增强其高温抗性, 而转甜椒 GPAT 基因的烟草膜上各种脂类的饱和脂肪酸含量都有所上升, 特别是 MGDG 中饱和脂肪酸含量上升幅度最大。MGDG 是光合膜上含量最高的脂类, 其饱和度的改变会影响整个光合膜的功能和性质^[29]。总之, 转甜椒正义 GPAT 基因的烟草类囊体膜脂饱和度的增加, 增强了类囊体膜的热稳定性, 减轻了高温对 PS II 色素蛋白复合体的伤害, 因此在高温下具有较好的光合性能。

4 结论

转甜椒正义甘油-3-磷酸酰基转移酶基因烟草植株类囊体膜的 MGDG, DGDG, SQDG 和 PG 的饱和程度均上升, 其中 MGDG 饱和程度增加了 16.2%, 上升幅度最为显著, 但各种脂类的相对含量变化不大, 只是 PG 含量稍有上升。

随着胁迫温度的升高, 转基因烟草植株与野生型植株 Fv/Fm, Φ PS II, Fv/Fm', qP 的变化趋势相同, 在 35℃ 时无明显差异, 40~48℃ 之间转基因植株下降的幅度明显小于野生型, 48℃ 胁迫下差异最为显著。而转基因烟草植株 Fo, NPQ 随着胁迫温度的升高其上升幅度小于野生型植株, 说明转基因烟草植株 PS II 在高温下能够维持较高的光化学活性, 从而在一定

程度上缓解了光合速率的下降。转基因烟草类囊体膜脂饱和度的增加, 减轻了高温对 PS II 色素蛋白复合体的伤害, 缓解 PS II 高温光抑制。

References

- [1] Nishida I, Murata N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47: 541-568.
- [2] Tasaka Y, Gombos Z, Nishiyama Y, Mohanty P, Ohba T, Ohki K, Murata N. Targeted mutagenesis of acyl-lipid desaturases in *Synechocystis*: evidence for the important roles of polyunsaturated membrane lipids in growth, respiration and photosynthesis. *EMBO Journal*, 1996, 23: 6416-6425.
- [3] Somerville C, Browse J. Plant lipids: metabolism, mutants, and membranes. *Science*, 1991, 252: 80-87.
- [4] Pearcey R W. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of the leaf lipids in *Atriplex lentiformis* (Torr.) Wats. *Plant Physiology*, 1978, 61: 484-486.
- [5] Berry J A, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980, 31: 491-543.
- [6] 孙 艳, 樊爱丽, 徐伟君. 草酸对高温胁迫下黄瓜幼苗叶片光合机构和叶黄素循环的影响. *中国农业科学*, 2005, 38: 1774-1779.
Sun Y, Fan A L, Xu W J. Effects of oxalate on photosynthetic apparatus and xanthophyll cycle in leaves of cucumber seedlings under high temperature stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38: 1774-1779. (in Chinese)
- [7] 汪炳良, 徐 敏, 史庆华, 曹家树. 高温胁迫对早熟花椰菜叶片抗氧化系统和叶绿素及其荧光参数的影响. *中国农业科学*, 2004, 37: 1245-1250.
Wang B L, Xu M, Shi Q H, Cao J S. Effects of high temperature stress on antioxidant system, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in early Cauliflower leaves. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37: 1245-1250. (in Chinese)
- [8] Raison J K, Roberts J K M, Berry J A. Correlations between the thermal stability of chloroplast (thylakoid) membranes and the composition and fluidity of their polar lipids upon acclimation of the higher plant *Nerium oleander* to growth temperature. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1982, 688: 218-228.
- [9] Murakami Y, Tsuyama M, Kobayashi Y, Kodama H, Iba K. Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. *Science*, 2000, 287: 476-479.
- [10] Gombos Z, Wada H, Hideg E, Murata N. The unsaturation of

- membrane lipids stabilizes photosynthesis against heat stress. *Plant Physiology*, 1994, 104: 563-567.
- [11] Moon B Y, Higashi S I, Gombos Z, Murata N. Unsaturation of the membrane lipids of chloroplasts stabilizes the photosynthetic machinery against low-temperature photoinhibition in transgenic tobacco plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1995, 92: 6219-6223.
- [12] 陈 娜, 郭尚敬, 颜 坤, 董新纯, 孟庆伟. 甜椒甘油-3-磷酸酰基转移酶基因的克隆与表达分析. *园艺学报*, 2005, 32: 823-827.
Chen N, Guo S J, Yan K, Dong X C, Meng Q W. Cloning and expression analysis of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene from sweet pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005, 32: 823-827. (in Chinese)
- [13] 苏维埃, 王文英, 李锦树. 植物类脂及脂肪酸的分析技术. *植物生理学通讯*, 1980, 3: 54-60.
Su W A, Wang W Y, Li J S. Plant lipids and fatty acid analysis technique. *Plant Physiology Communication*, 1980, 3: 54-60. (in Chinese)
- [14] 朱亚芳, 苏维埃. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 294-297.
Zhu Y F, Su W A. *Modern Experimental Direction of Plant Physiology*. Beijing: Science Press, 1999: 294-297. (in Chinese)
- [15] Yamane Y, Kashino Y, Koike H, Satoh K. Increase in the fluorescence F_0 level and reversible inhibition of photosystem II reaction center by high-temperature treatment in higher plants. *Photosynthesis Research*, 1997, 52: 57-64.
- [16] Wu J R, Browse J. Elevated levels of high melting-point phosphatidylglycerols do not induce chilling sensitivity in an *arabidopsis* mutant. *The Plant Cell*, 1995, 7: 17-27.
- [17] Thomas P G, Dominy P J, Vigh L, Mansourian A R, Quinn P J, Williams W P. Increased thermal stability of pigment-protein complexes of pea thylakoids following catalytic hydrogenation of membrane lipids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1986, 849: 131-140.
- [18] Williams W P, Sen A, Quinn P J. Protein-lipid interactions in the photosynthetic membrane. *Biochemical Society Transactions*, 1982, 10: 335-338.
- [19] Sen A, Brain A P, Quinn P J, Williams W P. Formation of inverted lipid micelles in aqueous dispersions of mixed sn-3-galactosyldiacylglycerols induced by heat and ethylene glycol. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1982: 686, 215-224.
- [20] Gounaris K, Brain A P R, Quinn P J, Williams W P. Structural and functional changes associated with heat-induced phase separations of non-bilayer lipids in chloroplast thylakoid membranes. *FEBS Letters*, 1983, 153: 47-52.
- [21] Gounaris K, Brain A P R, Quinn P J, Williams W P. Structural reorganization of chloroplast thylakoid membranes in response to heat stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1984, 766: 198-208.
- [22] Horvath I, Mansourian A R, Vigh L, Thomas P G, Joo F, Quinn P J. Homogeneous catalytic hydrogenation of the polar lipids of pea chloroplasts in situ and the effects on lipid polymorphism chemistry and physics of lipids. *Chemistry and Physics of Lipids*, 1986, 39: 251-264.
- [23] Gounaris K, Mannock D D, Sen A, Brain A P R, Williams W P, Quinn P J. Polyunsaturated fatty acyl residues of galactolipids are involved in the control of bilayer/nonbilayer lipid transition in higher plant chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1983, 732: 229-242.
- [24] Schreiber U, Berry J A. Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthetic apparatus. *Planta*, 1977, 136: 233-238.
- [25] McCain D C, Croxdale J, Markley J L. Thermal damage to chloroplast envelope membranes. *Plant Physiology*, 1989, 90: 606-609.
- [26] Srivastava A, Guissé B, Greppin H, Strasser R J. Regulation of antenna structure and electron transport in photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997, 1320: 95-106.
- [27] Sigrist M, Zwilliengerg C, Giroud C H, Eichenberger W, Boschetti A. Sulfolipid associated with the light-harvesting complex associated with photosystem II apoproteins of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Science*, 1988, 58: 15-23.
- [28] 陈 锋, 田纪春, 孟庆伟, 赵世杰. 短期高温胁迫对高产小麦品系灌浆后期旗叶光系统 II 功能的影响. *应用生态学报*, 2006, 17: 1854-1858.
Chen F, Tian J C, Meng Q W, Zhao S J. Effects of short-term high temperature stress on flag leaf photosystem II functions of high-yielding wheat at late grain-filling stage. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17: 1854-1858. (in Chinese)
- [29] Afonso M, Yruela I, Almarcegui S, Torrado E, Pérez M A, Picorel R. Unusual tolerance to high temperatures in a new herbicide-resistant D1 mutant from *Glycine max* (L.) Merr. Cell cultures deficient in fatty acid desaturation. *Planta*, 2001, 212: 573-582.