

Transcriptome Analysis of Gene Expression Patterns of *Populus tomentosa* in Response to Oxidative Stress

Jiaxin Li, Ying Li, Xiaotong Teng, Conghui Li, Hui Li, Hai Lu

College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing
Email: lijiaxin_199304@163.com

Received: Mar. 3rd, 2018; accepted: Mar. 21st, 2018; published: Mar. 28th, 2018

Abstract

In order to understand the molecular mechanism of *Populus tomentosa* on adaptation to oxidative stress at gene level, the transcriptome analysis of *Populus tomentosa* leaves under oxidative stress was carried out. GO genes and GO enrichment analysis of KEGG Pathway were analyzed. Differentially expressed genes showed that there were 3495 total expressed genes between stressed and untreated *Populus tomentosa* groups, including 1683 up-regulated genes and 1812 down-regulated genes. By comparing the function of GO and KEGG between *Populus tomentosa* group and untreated *Populus tomentosa* group, it was found that the photosystem PSI and PSII related proteins in photosynthesis were significantly down-regulated in the plants after oxidative stress. And photosynthetic membrane, thylakoid membrane structure of the basement membrane accumulation and membrane recombinant protein were significantly downregulated ($P < 0.05$). Explaining the oxidative stress conditions, chloroplast is the main active oxygen generating site. The massive accumulation of ROS causes oxidative damage to chloroplasts and cells, leading to the decline of photosynthesis-related functions and the damage of the photosynthetic membrane system.

Keywords

Populus tomentosa, Oxidative Stress, Photosynthesis, Transcriptome

转录组分析毛白杨响应氧化胁迫的基因表达模式变化

李嘉鑫, 李 盈, 滕晓瞳, 李聪慧, 李 慧, 陆 海

北京林业大学生物科学与技术学院, 北京
Email: lijiaxin_199304@163.com

收稿日期：2018年3月3日；录用日期：2018年3月21日；发布日期：2018年3月28日

摘要

为了了解基因水平上毛白杨对于适应氧化胁迫的分子机制，本研究在氧化胁迫下对毛白杨叶片进行转录组测序分析，将有显著性差异的基因做GO功能及KEGG Pathway的富集分析，分析差异表达基因得出，胁迫与未胁迫毛白杨组之间的总表达基因数为3495，其中上调基因个数为1683，下调基因个数为1812。通过比较胁迫与未胁迫毛白杨组之间的go功能和KEGG分析得出，氧化胁迫后的植株中，与光合作用中光系统I，光系统II相关蛋白均显著性下调。与光合膜，类囊体膜结构中基粒的堆积和膜重组相关蛋白均显著性下调($P < 0.05$)。说明氧化应激条件下，叶绿体是活性氧的主要产生部位。ROS的大量积累使叶绿体及细胞产生氧化损伤，导致光合作用相关功能下降，光合膜系统受到损伤。

关键词

毛白杨，氧化胁迫，光合作用，转录组

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

植物的不同组织器官中，每时每刻都在发生着各种代谢反应，活性氧(ROS)是植物代谢反应中的副产物。当植物遭受环境胁迫时，植物细胞中会产生并积累大量的活性氧[1]。低浓度的活性氧可以作为信号分子使植物相关防御基因表达[2]。植物细胞中积累的高浓度的活性氧会导致细胞损伤，膜脂氧化，从而使植物的正常生长和代谢受到影响[3]。多篇文献报道过，过量的 ROS 对植物生长发育是有害的。植物的线粒体、叶绿体等部位都会产生活性氧。而在植物细胞正常的生长和代谢过程中，植物细胞中叶绿体的类囊体膜上的光系统 I(PSI)和光系统 II(PSII)反应中心是 ROS 代谢的主要部位[4]。

为了防止 ROS 对细胞产生的伤害，植物有自己的抗氧化系统，包括酶促抗氧化系统和非酶促抗氧化系统。酶促抗氧化系统主要通过氧化清除酶类如谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等来催化分解细胞产生的活性氧，防止细胞损伤。非酶促抗氧化系统主要是通过小分子化合物如坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)、甘露醇等作为底物参与酶促反应来清除细胞产生的活性氧[5]。

在植物生长过程中，光氧化应激条件下，光合作用高能态的反应与 O_2 丰富供应使叶绿体成为活性氧产生的主要部位。当细胞中积累的活性氧不足以被抗氧化防护系统清除时，过量的活性氧就会使叶绿体及细胞产生光氧化损伤[6]，导致光合作用下降，光合膜系统受到损伤[6]，使植物的正常生长受到抑制甚至死亡。本研究通过对毛白杨植株氧化胁迫处理前后的转录组分析，分析了氧化胁迫对毛白杨光合作用相关通路蛋白以及叶绿体膜结构相关蛋白的影响，以期对氧化胁迫后的木本植物光合作用提供实验依据。

2. 材料与方方法

2.1. 实验材料

野生型毛白杨组培植株由实验室保存。植株生长条件为 $25^{\circ}C$ ，每天光照 16 h。

2.2. 实验处理

选取生长时期为两个半月的野生型毛白杨组培植株, 取植株中第二片叶子, 用去离子水冲洗干净。室温避光条件下, 将叶片完全浸入 100 $\mu\text{mol/L}$ MV(甲基紫金)溶液中处理 5 h, 将未处理的野生型毛白杨和氧化胁迫条件下处理的野生型毛白杨叶片用液氮速冻后保存于 -80°C 冰箱后进行转录组测序, 将未处理的野生型毛白杨命名为 wt, 氧化胁迫条件下处理的野生型毛白杨命名为 wt-1。

2.3. 实验方法

2.3.1. RNA-Seq 技术: 样本采集, Illumina 测序和数据处理

将 MV 处理的叶片与未处理的叶片, 根据制造商的方案(Invitrogen)使用 TRIzol 试剂分离总 RNA, 使用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性, 用 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测 mRNA 浓度, 用 Dynabeads mRNA Purification Kit 进行 mRNA 的分离纯化, 然后将片段化的 mRNA 反转录合成 cDNA。使用 Illumina 基因组分析仪(HiSeqTM2000; Illumina, San Diego, CA, USA)对样品进行测序。将获得的 Raw Reads 数据进行数据过滤, 选取 Clean Reads 数据, 采用短 reads 组装软件 trinity 做转录组从头组装, 得到两端不能延长的序列, 即为 Unigene, 使用 SOAPaligner/SOAP2 将选取的 Unigene 序列的转录组与毛果杨基因组数据库比对[7]。使用 RPKM(每百万读数每读取一个读数)计算基因表达水平[8]。

2.3.2. 差异表达基因的鉴定与分析

基于标准化的读取计数, 使用 DEGseq R 软件包(1.12.0) [9]对 MV 处理与未处理的野生型叶片之间的差异表达分析。使用 Benjamini 和 Hochberg(1995)方法调整 P 值。校正后 P 值 <0.005 , $|\log_2 \text{Ratio}| > 1$ 作为显著差异的阈值。

2.3.3. 差异基因 GO 功能, KEGG 富集分析

使用 GOseq R 软件包对差异表达基因按分子功能、生物学过程、细胞组分做 GO 功能富集分析[10]。校正后的 P 值 <0.05 的 GO 功能被认为在差异表达的基因中显著富集。

利用 KEGG 数据库对差异表达基因进行代谢通路注释分析, 采用 Fisher 检验计算差异表达基因的富集度, classic Fisher ≤ 0.01 作为筛选阈值[11]。

3. 结果与分析

3.1. Reads 与参考基因组比对情况统计(表 1)

选取 HISAT 软件将过滤后的测序序列进行基因组定位分析。不同处理的样品 wt 得到 43657504 reads, wt-1 得到 44090468 reads, 经过与毛白杨基因组比对, 分别对上 30486927 和 27708170 个 reads。

3.2. 差异基因 GO 富集分析

使用 Gene Ontology 数据库以及毛果杨基因组注释数据库对 wt-1 与 wt 对比组获得的显著性差异基因功能进行富集及注释分析。分析显示 wt-1 与 wt 对比组中, 总基因数为 3495, 其中上调基因个数为 1683, 下调基因个数为 1812(图 1)。显著差异表达的上调基因中被功能注释且主要涉及 383 个生物学功能, 富集在分子功能、生物学过程、细胞组分的 3 种 GO 分类中, 分别为 156, 211 和 16 种生物学功能。显著差异表达的下调基因中被功能注释且主要涉及 380 个生物学功能, 富集在分子功能、生物学过程、细胞组分的 3 种 GO 分类中, 分别为 78, 246 和 78 种生物学功能。

GO 功能中的差异基因进行分析得出, 生物学过程在调控 RNA 代谢过程, 转录调控, 大分子代谢过程的调控等功能中都存在显著性上调基因, 包括 CIGR1, DRE1D, ERF19, AP2 等基因, 其中 CIGR1

Table 1. Reads and reference genome alignment list
表 1. Reads 与参考基因组比对情况一览表

Sample_name	wt	wt_1
Total reads	43657504	44090468
Total mapped	30486927 (69.83%)	27708170 (62.84%)
Multiple mapped	791368 (1.81%)	796130 (1.81%)
Uniquely mapped	29695559 (68.02%)	26912040 (61.04%)
Reads map to “+”	14808943 (33.92%)	13429257 (30.46%)
Reads map to “-”	14886616 (34.1%)	13482783 (30.58%)
Non-splice reads	16757193 (38.38%)	16265478 (36.89%)
Splice reads	12938366 (29.64%)	10646562 (24.15%)

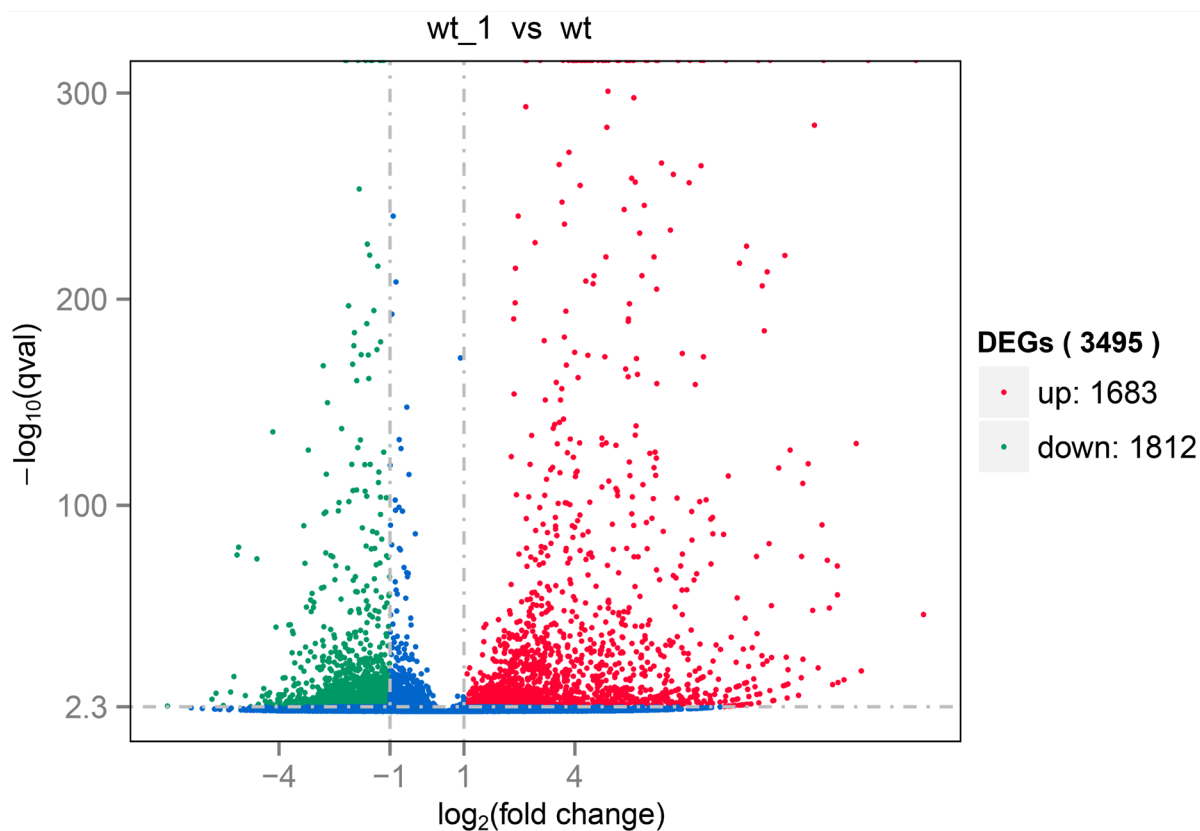


Figure 1. Difference gene volcano map. Significantly differentially expressed genes were expressed in red (up-regulated) and green (down-regulated), with no significant difference in genes expressed in blue dots; abscissa representing gene expression fold changes in different samples; and ordinate representing genes Statistical significance of differences in expression change

图 1. 差异基因火山图。有显著性差异表达的基因用红色点(上调)和绿色点(下调)表示，无显著性差异表达的基因用蓝色点表示；横坐标代表基因在不同样本中表达倍数变化；纵坐标代表基因表达量变化差异的统计学显著性

的上调对植物防御和发育具有双重作用[12], DREB1D 的上调是植物对压力反应性转录调控的适应性策略, 从而减轻环境胁迫的不利影响[13]。在分子功能中核酸结合转录因子活性, DNA 结合等功能中都存在显著性上调基因, 包括 SCL14, WRKY6, WRK33 等基因上调是植物氧化应激在转录水平上的调节作用[14], 从而减轻氧化应激对于细胞的损伤(图 2)。

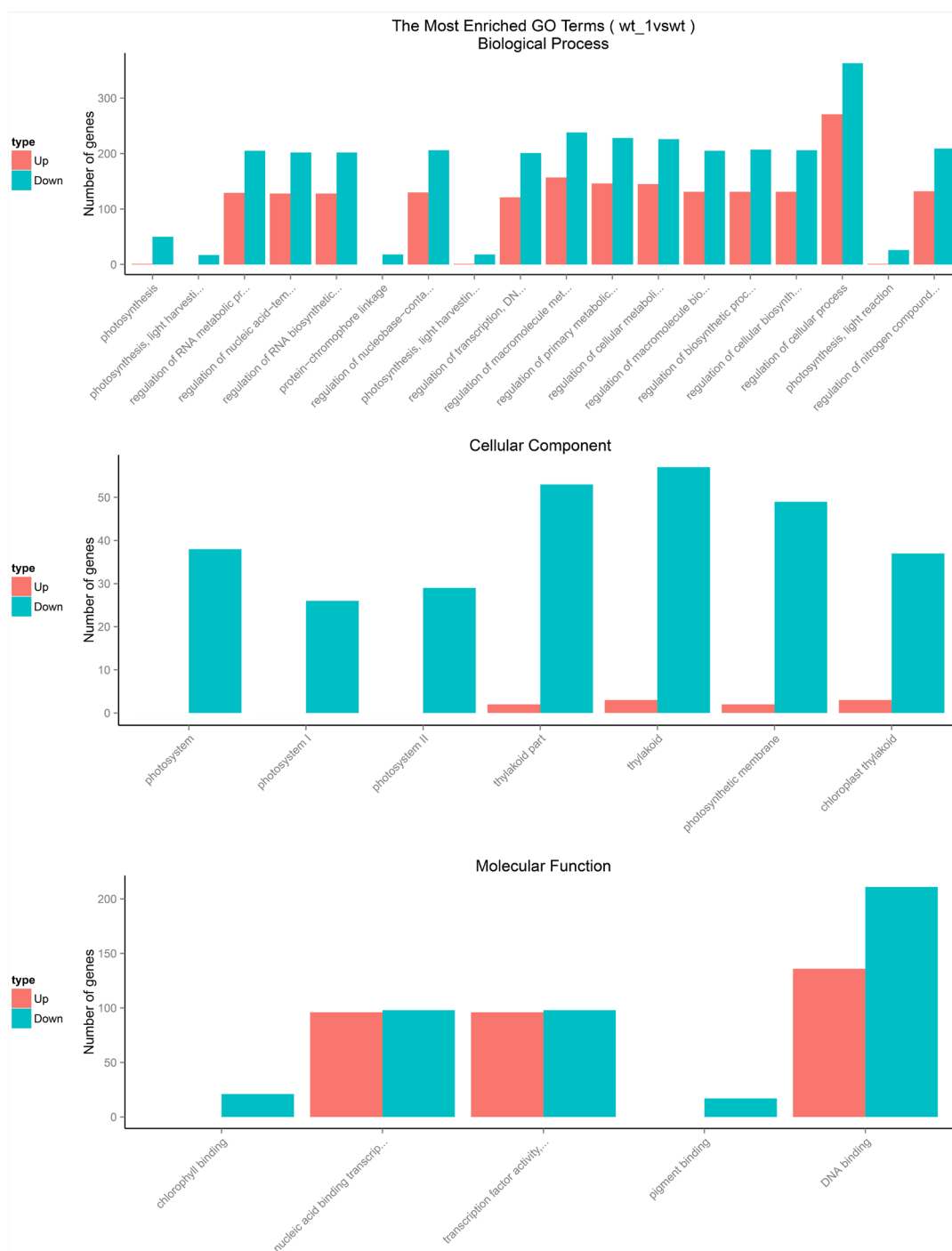


Figure 2. Enrichment of the histogram, the vertical axis is the enriched GO term and the horizontal axis is the number of differential genes in the term

图 2. GO 富集柱状图, 纵坐标为富集的 GO term, 横坐标为该 term 中差异基因个数

光合作用中光能的捕获、电子传递等一系列的光反应都是由在光合膜上的色素蛋白复合物所推动的,其中植物光系统中捕光蛋白质复合物 LHC 是与色素分子结合的膜蛋白复合物,主要参与光合作用中光能的捕获与传递[15]。植物光系统 II 中的 Psb 复合蛋白是植物进行光合电子传递、水的裂解和氧气释放的重要蛋白复合物[16]。ATPc1 所代表的磷酸肌醇信号传导是早期发育阶段和微卫星形成过程中液泡形成的重要线索[17]。go 功能中的差异基因进行分析得出,与生物学过程-光合作用相关的功能中,包括光反应,光调节,光采集等功能中都存在这显著性下调的基因,这些基因包括: PRK、Lhca、Lhcb、cp24、ACSF、ATPc1、CHL27、CP24、CP26、geranylgeranylreductase family protein、Lhca、Lhca1、Lhca2、Lhca3、Lhca4、Lhcb1、Lhcb2、Lhcb3、Lhcb4、LIL3、phytochrome A、PsaG、PsaK、Psb27、Psbp、PsbQ、PsbS、PsbW、PsbY、PsbX 等蛋白(图 2)。说明在氧化胁迫后,在光合作用中,相关天线蛋白复合物的光采集与电子传递传递,磷酸肌醇信号传导等蛋白都出现了下调的异常。

在光系统 II(PSII)中,光合叶绿素结合蛋白,质体蛋白家族对于叶绿体光捕捉和类囊体的基粒的堆积与膜重组都具有关键作用[18]。go 功能中的差异基因进行分析得出,与细胞组分-光合膜相关的功能中,包括光合膜,光系统 I(PSI),光系统 II(PSII),叶绿体类囊体膜,质体类囊体膜,叶绿体类囊体,膜蛋白复合物等功能中都存在这显著性下调的基因,这些基因包括: ACSF、ATPc1、CHL27、CP24、CP26、cytochrome b6f、geranylgeranylreductase family protein、Lhca、Lhca1、Lhca2、Lhca3、Lhca4、Lhcb1、Lhcb2、Lhcb3、Lhcb4、LIL3、PetE、phytochrome A、PsaD、PsaG、PsaK、Psb27、Psbp、PsbQ、PsbS、PsbW、PsbY、PsbX 等蛋白(图 2)。说明在氧化胁迫后,叶绿体遭到破坏,与光合作用有关的定位在叶绿体光合膜上以及类囊体膜上的膜脂蛋白被氧化,导致与叶绿体光合膜上以及类囊体膜上的蛋白等都出现了下调的异常。

高等植物光系统 I 是一种多蛋白色素复合物,其中由四个色素蛋白复合(Lhca1-Lhca4)组成的 LHCI 参与协调叶绿素 *a*, 叶绿素 *b*, 叶黄素, 紫黄质, 和 β 胡萝卜素的合成[19]。go 功能中的差异基因进行分析得出,与分子功能-叶绿素,色素结合相关的功能中,包括光反应,光调节,光采集,光合膜,光系统 I,光系统 II,叶绿体类囊体膜等功能中都存在这显著性下调的基因,这些基因包括: ACSF、ATPc1、CHL27、CP24、CP26、cytochrome b6f、geranylgeranylreductase family protein、Lhca、Lhca1、Lhca2、Lhca3、Lhca4、Lhcb1、Lhcb2、Lhcb3、Lhcb4、LIL3、PetE、phytochrome A、PsaD、PsaG、PsaK、Psb27、Psbp、PsbQ、PsbS、PsbW、PsbY、Psb 等蛋白(图 2),说明在氧化胁迫后,叶绿体光系统 I 内蛋白色素复合物降低了对叶绿素和叶黄素等色素的合成,导致与叶绿素、色素结合相关的蛋白等都出现了下调的异常。

通过对 go 功能的生物学过程,细胞组分,分子功能的结果分析,在氧化胁迫条件下,野生型毛白杨中与抗性相关的存在着显著性上调,而与光合作用相关功能基因的存在显著性下调,说明经过氧化胁迫后,叶绿体产生氧化损伤,叶绿体光合作用受到破坏,光合膜相关蛋白可能被氧化。

3.3. 差异基因 KEGG 分析

在生物体内,不同基因相互协调行使其生物学功能,通过 Pathway 显著性富集能确定差异表达基因参与的最主要生化代谢途径和信号转导途径。通过分析得出 Pathway 的代谢通路在显著性上调基因主要富集在在植物病原体相互作用,蛋白质在内质网中的加工,胞吞作用等代谢通路中(图 3)。而显著性下调基因主要富集在植物激素信号转导代谢通路中,光合作用-天线蛋白代谢通路中,光合作用代谢通路中,吡啶和叶绿素代谢通路中(图 4)。

氧化应激条件下,植物病原体相互作用通路相关的抗性信号的基因的表达上调,可能是由于 ROS 累积的毒性直接作用于植物病原体而引起的[20]。蛋白质在内质网中的加工通路中 ERAD_C 的泛素连接酶

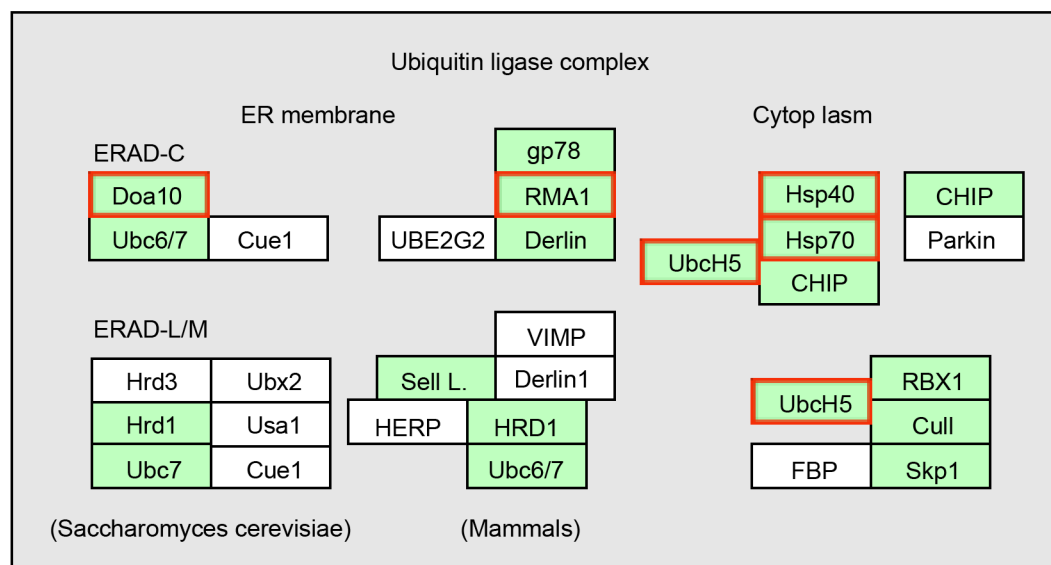


Figure 3. Protein processing in endoplasmic reticulum, Red represents the up-regulated gene
图 3. 蛋白质在内质网中的加工，红色代表上调基因

Doa10 基因上调，可能是氧化应激条件下，蛋白质被氧化，导致 ERAD_C 的泛素连接酶 Doa10 识别并降解异常的内质网蛋白[21] (图 3)。

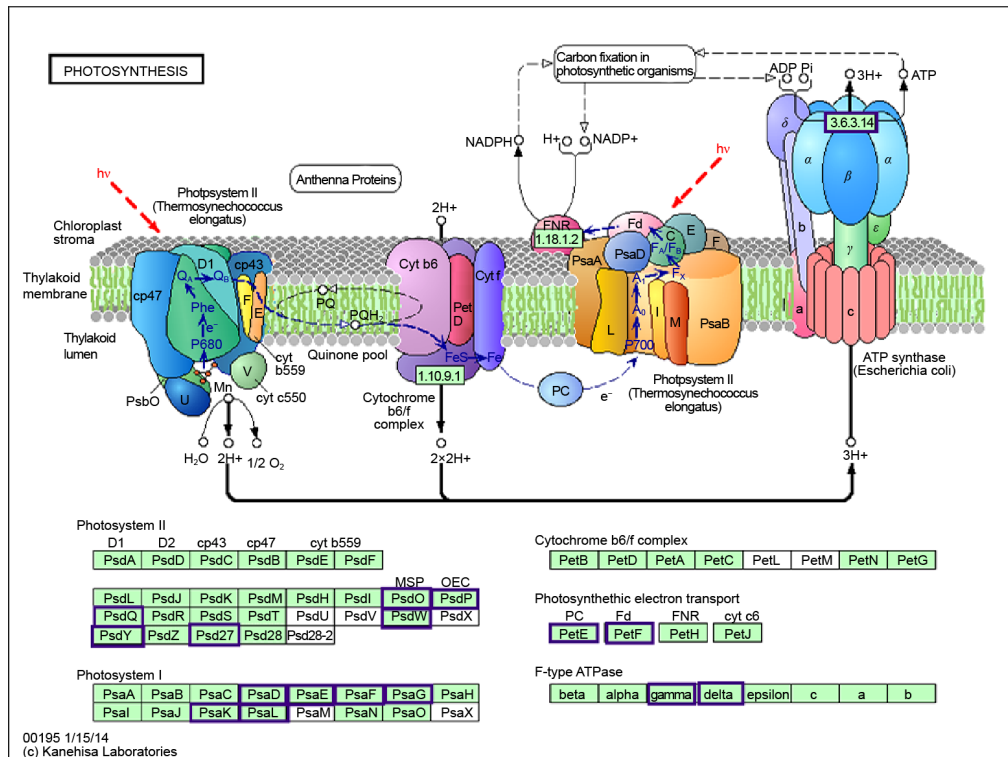
在光合作用中，光系统 I(PSI)和光系统 II(PSII)是通过捕光天线蛋白来调节光能的分配，促进过剩光能的耗散，降低 ROS 在叶绿体中的积累，从而保护植物光合作用[22]，并在光捕获和适应光照变化方面起着重要的作用。在光合作用 - 天线蛋白通路中，LHC (采光天线蛋白)中，显著性下调基因包括 Lhca1、Lhca2、Lhca3、Lhca4、Lhcb1、Lhcb2、Lhcb3、Lhcb4、Lhcb5、Lhcb6 (图 4(b))说明在氧化胁迫后，光合作用受损，叶绿体 PSII 中 LHC 遭到破坏，从而使光系统 II 主要捕光色素蛋白复合体(LHCII)结合相关的蛋白等都出现了下调的异常。

在光能传递中，植物光系统 II(PSII)中的 psb 复合蛋白是植物进行光合电子传递、水的裂解和释放氧气的重要蛋白复合物[23]。而 PsbW 蛋白对于类囊体膜基粒区域中 PSII-LHCII 超复合体的组装和稳定性是起关键作用的[24]，type-ATP 中叶绿体 F1Fo-ATP 合成酶(CF1Fo)驱动 ATP 合成和 ATP 水解的逆反应，尤其是在胁迫条件下，ATPase 氧化还原调节可以增加叶绿体对于 H₂O₂ 的耐受性[25]。而 LDH3 对于植物中活性氧中间体的水平有调节作用[26]。在光合作用通路 PSI 中，显著性下调基因包括 PsaD、PsaE、PsaF、PsaG、PsaK、PsaL。PSII 中，显著性下调基因包括 PsbO、Psbp、PsbQ、PsbW、PsbY、Psb27。F-type ATP 中，显著性下调基因包括 gamma、delta (图 4(a))。说明在氧化胁迫后，ROS 在叶绿体中的积累破坏了光合作用，导致了 PsaG、psbW、CF1Fo 等基因的下调，从而导致了电子传递，类囊体膜蛋白形成受到影响。

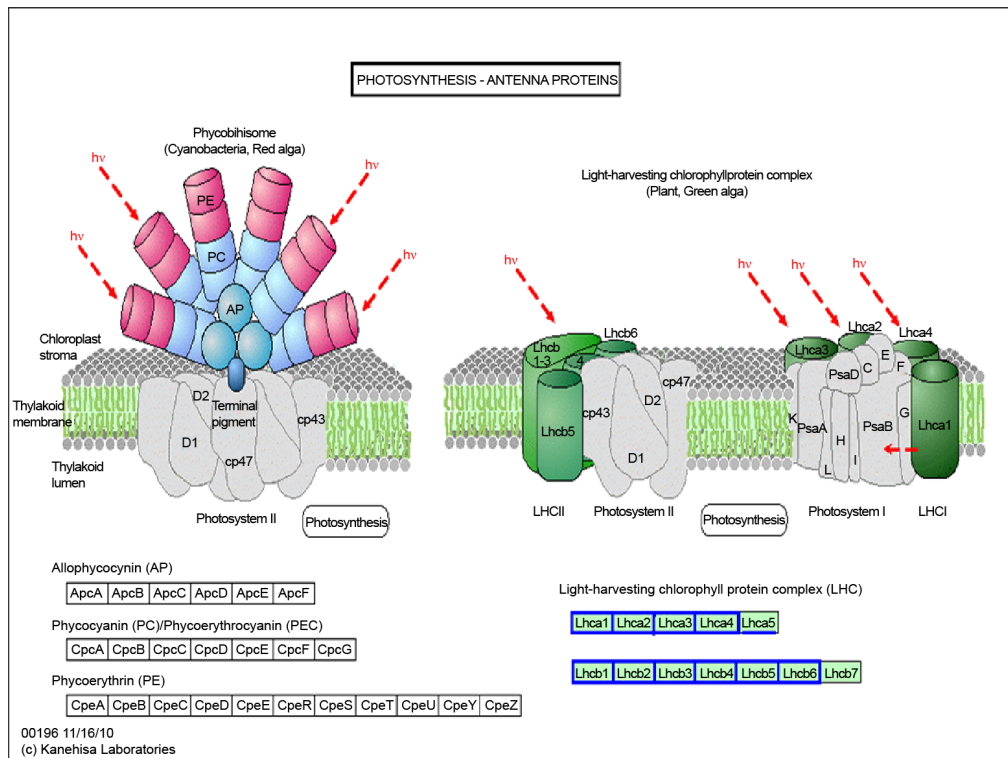
通过对 Pathway 显著性富集通路的分析，氧化胁迫条件下，抗性信号的基因的表达上调，相关降解异常内质网蛋白的酶表达上调，而光合作用有关的蛋白以及与光合膜，类囊体膜有关蛋白存在着显著性下调，说明氧化胁迫后，植株的光合作用降低，光合相关膜脂结构被氧化。

4. 讨论

氧化胁迫通常由植物遭受环境胁迫时，造成植物细胞中产生并积累大量的活性氧，这些活性氧会使植物形态、生理生化和细胞结构产生一系列变化[27]。植物发展出自己的抗氧化防御系统来阻止 ROS 对



(a)



(b)

Figure 4. Significant enrichment of the KEGG pathway metabolic pathway map (a) for photosynthesis, (b) for Photosynthesis-antenna protein

图 4. 显著富集的 KEGG pathway 代谢通路图(a)为光合作用, (b)为光合作用 - 天线蛋白

细胞产生的潜在伤害[4]。本研究对野生型毛白杨组培植株的叶片进行氧化胁迫后, 通过对其转录组进行分析, 通过 go 功能和 KEGG 等方面进行比对, 发现野生型毛白杨植株光合作用相关通路蛋白、叶绿体膜结构相关蛋白有显著性下调的趋势。首先, 通过 go 功能和 KEGG 分析得出经过氧化胁迫后的植株体的光合作用中光系统 I, 光系统 II 的光反应中心和 LHCI(外围部分采光天线)的蛋白均显著性下调。同时光合膜, 类囊体膜结构, 相关叶绿体类囊体的基粒的堆积和膜重组相关蛋白也显著性下调。说明了 ROS 的积累可能导致光合作用受损。氧化胁迫后的 chl27 下调, 在拟南芥相关研究中也已得到证实, chl27 的突变会阻碍植物正常生长和破坏 PSII 反应中心, 从而损坏引起叶绿体发育使类囊体膜遭到破坏, 光合活性降低[28]。氧化胁迫后的 Lhcb1 下调, 说明了相关膜脂蛋白被氧化, 导致光合膜结构、类囊体膜结构也出现了异常, 这在已报到的 Lhcb1 对于类囊体膜结构的灵活性以及基粒的堆积和膜形成都有重要作用已经被证实[29]。最后, 叶绿体是植物细胞 ROS 代谢和受活性氧损伤的主要部位[30], 本研究中发现经过氧化胁迫后的毛白杨组培植株叶片中与光合作用有关的蛋白以及与光合膜, 类囊体膜有关蛋白存在着显著性下调。在受到氧化胁迫下, 本研究中相关下调蛋白可以作为植物受到氧化胁迫的证据之一, 为植物尤其是木本植物应对氧化胁迫及各种逆境胁迫提供实验依据。

5. 结论

毛白杨植株遭受外界环境的变化而产生氧化胁迫后, 会产生大量的活性氧并会在细胞内积累。实验得出, 高浓度的活性氧会使叶绿体产生氧化损伤[26], 导致光合作用下降, 光合膜系统受到损伤, 从而影响细胞正常的生理生化。

基金项目

北京林业大学杰出青年人才计划 100 万“中央高校基本科研业务费专项资金资助”(supported by “the Fundamental Research Funds for the Central Universities”) JC2015-01。

参考文献

- [1] 陈洁, 林栖凤. 逆境下植物活性氧的代谢[C]//全国农业生物化学与分子生物学学术交流会. 2002.
- [2] 薛鑫, 张芊, 吴金霞. 植物体内活性氧的研究及其在植物抗逆方面的应用[J]. 生物技术通报, 2013(10): 6-11.
- [3] Davletova, S., Rizhsky, L., Liang, H., et al. (2005) Cytosolic Ascorbate Peroxidase 1 Is a Central Component of the Reactiveoxygen Gene Network of Arabidopsis. *Plant Cell*, **17**, 268.
- [4] Mittler, R. (2002) Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science*, **7**, 405-410.
- [5] 冯建灿, 毛训甲, 胡秀丽. 光氧化胁迫条件下叶绿体中活性氧的产生、清除及防御(英文) [J]. 西北植物报, 2005, 25(7): 1487-1498.
- [6] 陈花, 吴俊林, 李晓军. 叶绿体中活性氧的产生和清除机制[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(10): 1979-1981.
- [7] Li, R., Yu, C., Li, Y., Lam, T.-W., Yiu, S.-M., Kristiansen, K. and Wang, J. (2009) SOAP2: An Improved Ultrafast Tool for Short Read Alignment. *Bioinformatics*, **25**, 1966-1967.
- [8] Wang, Z., Gerstein, M. and Snyder, M. (2009) RNA-Seq: A Revolutionary Tool for Transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, **10**, 57-63.
- [9] Mortazavi, A., Williams, B.A., McCue, K., Schaeffer, L. and Wold, B. (2008) Mapping and Quantifying Mammalian Transcripts by RNA-Seq. *Nature Methods*, **5**, 621-628.
- [10] Young, M.D., Wakefield, M.J., Smyth, G.K. and Oshlack, A. (2010) Gene Ontology Analysis for RNA-seq: Accounting for Selection Bias. *Genome Biology*, **11**, R14.
- [11] 丁昌俊, 张伟溪, 高暝, 等. 不同生长势美洲黑杨转录组差异分析[J]. 林业科学, 2016, 52(3): 47-58.
- [12] Day, R.B., Shibuya, N. and Minami, E. (2003) Identification and Characterization of Two New Members of the GRAS Gene Family in Rice Responsive to N-acetylchitooligosaccharide Elicitor. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1625**, 261-268. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(02\)00626-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00626-7)

- [13] Gsc, A., Torres, L.F., Déchamp, E., *et al.* (2017) Differential Fine-Tuning of Gene Expression Regulation in Coffee Leaves by CcDREB1D Promoter Haplotypes under Water Deficit. *Journal of Experimental Botany*, **68**, 3017. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx166>
- [14] Fode, B., Siemsen, T., Thurow, C., *et al.* (2008) The Arabidopsis GRAS Protein SCL14 Interacts with Class II TGA Transcription Factors and Is Essential for the Activation of Stress-Inducible Promoters. *Plant Cell*, **20**, 3122-3135. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058974>
- [15] 翟玉山, 邓宇晴, 董萌, 等. 甘蔗捕光叶绿素 a/b 结合蛋白基因 ScLhca3 的克隆及表达[J]. 作物学报, 2016, 42(9): 1332-1341.
- [16] 许冰清, 安苗苗, 姜可以, 等. 花叶矢竹叶绿体 psbD 基因的克隆与功能分析[J]. 浙江农林大学学报, 2015, 32(4): 557-565.
- [17] Ugalde, J.M., Rodriguez-Furlã, N.C., Rycke, R., *et al.* (2016) Phosphatidylinositol 4-Phosphate 5-kinases 1 and 2 Are Involved in the Regulation of Vacuole Morphology during Arabidopsis Thaliana Pollen Development. *Plant Science*, **250**, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.05.014>
- [18] Pietrzykowska, M., Suorsa, M., Semchonok, D.A., *et al.* (2014) The Light-Harvesting Chlorophyll a/b Binding Proteins Lhcb1 and Lhcb2 Play Complementary Roles during State Transitions in Arabidopsis. *Plant Cell*, **26**, 3646-3660. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.127373>
- [19] De, B.S., Betterle, N., Kouril, R., *et al.* (2011) Arabidopsis Mutants Deleted in the Light-Harvesting Protein LHCB4 have a Disrupted Photosystem II Macrostructure and Are Defective in Photoprotection. *Plant Cell*, **23**, 2659-2679. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.087320>
- [20] 王罗霞, 张盛敏, 陈银华. 活性氧和一氧化氮在植物-病原体互作反应中的作用[J]. 热带农业科学, 2009, 29(6): 77-84.
- [21] Habeck, G., Ebner, F.A., Shimada-Kreft, H., *et al.* (2015) The Yeast ERAD-C Ubiquitin Ligase Doa10 Recognizes an Intramembrane Degron. *Journal of Cell Biology*, **209**, 261-267. <https://doi.org/10.1083/jcb.201408088>
- [22] 冷静. 高等植物光系统 II 捕光天线结构与功能的研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国科学院研究生院中学院大学, 2002.
- [23] Ang, H., Liu, J., Wen, X., *et al.* (2015) Molecular Mechanism of Photosystem I Assembly in Oxygenic Organisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1847**, 838-848. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.12.011>
- [24] Agdalena, P., Serena, S., Lotta, V.S., *et al.* (2016) Functional Update of the Auxiliary Proteins PsbW, PsbY, HCF136, PsbN, TerC and ALB3 in Maintenance and Assembly of PSII. *Frontiers in Plant Science*, **7**, 423.
- [25] Uchert, F., Bailleul, B. and Hisabori, T. (2017) A γ -Subunit Point Mutation in *Chlamydomonas reinhardtii*, Chloroplast F1Fo-ATP Synthase Confers Tolerance to Reactive Oxygen Species. *Biochimica et Biophysica Acta—Bioenergetics*, **1858**, 966-974. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.09.001>
- [26] Bouché, I., Fait, A., Bouchez, D., *et al.* (2003) Mitochondrial Succinic-Semialdehyde Dehydrogenase of the γ -Aminobutyrate Shunt Is Required to Restrict Levels of Reactive Oxygen Intermediates in Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 6843-6848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1037532100>
- [27] Xu, S., Li, J., Zhang, X., *et al.* (2006) Effects of Heat Acclimation Pretreatment on Changes of Membrane Lipid Peroxidation, Antioxidant Metabolites, and Ultrastructure of Chloroplasts in Two Cool-Season Turfgrass Species under Heat Stress. *Environmental and Experimental Botany*, **56**, 274-285. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.03.002>
- [28] Bang, W.Y., Jeong, I.S., Kim, D.W., *et al.* (2008) Role of Arabidopsis CHL27 Protein for Photosynthesis, Chloroplast Development and Gene Expression Profiling. *Plant and Cell Physiology*, **49**, 1350-1363. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn111>
- [29] Pietrzykowska, M., Suorsa, M., Semchonok, D.A., *et al.* (2014) The Light-Harvesting Chlorophyll a/b Binding Proteins Lhcb1 and Lhcb2 Play Complementary Roles during State Transitions in Arabidopsis. *Plant Cell*, **26**, 3646-3660. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.127373>
- [30] 杨文英, 徐江, 等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用[J]. 植物学报, 1994, 36: 289-295.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2168-5665，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：br@hanspub.org