

UV-B 辐射处理小麦苗期叶片的蛋白质组分析

黄修文¹ 张艳菊¹ 冯清¹ 陈伟霞¹ 张文会² 李保云^{1*}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院/北京市作物遗传改良重点实验室/农业部作物基因组学与遗传改良重点开放实验室/教育部作物杂种优势研究与利用重点实验室,北京 100193;
2. 聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059)

摘要 本研究以小麦品种聊大1号为试验材料,研究UV-B辐射对聊大1号苗期叶片蛋白质组的影响。双向电泳分析发现,UV-B辐射处理和未处理的聊大1号有15个蛋白差异点,经质谱分析成功鉴定出6个蛋白差异点;其中1个为Rubisco大亚基(碳水化合物代谢);2个为参与翻译类的蛋白;2个为具有运输类功能的蛋白;1个为质子-ATP酶 α 亚基。这些结果可为小麦抗UV-B辐射机理研究和抗性育种提供依据。

关键词 小麦; 苗期; UV-B辐射; 蛋白质组; 双向电泳

中图分类号 S 512 文章编号 1007-4333(2012)02-0031-06 文献标志码 A

Analysis of wheat seeding leaf proteome after UV-B radiation

HUANG Xiu-wen¹, ZHANG Yan-ju¹, FENG Qin¹, CHEN Wei-xia¹, ZHANG Wen-hui², LI Bao-yun^{1*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology/Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/
Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement of Ministry of Agriculture/
Key Laboratory of Crop Heterosis & Utilization of Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract In order to investigate the results of UV-B radiation on the accumulation of proteins in wheat seeding leaves, the cultivar LiaoDa 1 was subjected to UV-B radiation stress. Compared with control samples, the UV-B radiation stressed samples accumulated significantly higher amounts of protein. These proteins were separated by two-dimensional electrophoresis (2-DE), visualized by silver staining and analyzed by Image Master. It revealed 15 differentially expressed polypeptides, 6 of which were successful identified by MALDI-TOF, including a Rubisco large subunit, an ATP synthase CF1 alpha chain, proteins involved in protein translation and transportation. These results might provide information for further UV-B radiation stress study in wheat.

Key words wheat; seeding leaf; UV-B radiation; proteome; 2-DE

自20世纪50年代以来,臭氧层的破坏日趋严重,导致地球表面UV-B辐射的增强^[1]。全球范围内的观测结果表明:近20年,全球平均臭氧层减少了2%~3%,且这一过程还在加剧,预计今后70年内平流层中臭氧浓度仍会减少2%~10%^[2]。臭氧层的减少会增加UV-B的辐射量^[3],辐射会直接和间接对植物各种生理活动造成影响,包括对DNA、蛋白质和膜的损伤,对蒸腾作用和光合作用的影响

及对植物生长发育的影响等^[4]。除此之外,开展UV-B辐射对植物影响的研究对农业生产的发展、生态环境的保护和进一步探究光合作用机制有着重要的理论和实践意义。

国内外学者已研究了大约400种植物对UV-B辐射的反应,大部分集中于植物形态学变化上^[5]。UV-B辐射对小麦的生长和形态变化影响较大,可引起小麦株高降低^[6-7],导致根部器官生长发育受到

收稿日期:2011-11-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31071412);国家“973”计划项目(2009CB118300)

第一作者:黄修文,硕士研究生,E-mail:hxiuwen@163.com

通讯作者:李保云,教授,博士生导师,主要从事小麦品质遗传改良研究,E-mail:baoyunli@cau.edu.cn

抑制^[8]及单株叶面积减少、叶片长度变短、叶宽增加^[9]。

蛋白质作为生物有机体的重要组成部分和生物催化剂,在各种生理功能中起重要作用。但是蛋白质的最大吸收波长正好在 UV-B 辐射的波长范围(280~320 nm)内,因此,增强的 UV-B 辐射会对蛋白质产生较大影响^[10]。有关 UV-B 辐射对蛋白质影响的研究主要在蛋白质的含量和合成上。有研究表明 UV-B 辐射会抑制蛋白质的合成,使植物的蛋白质含量减少^[11]。但也有研究表明 UV-B 辐射促进蛋白质的合成,引起植物蛋白质含量增加^[12]。蛋白质含量增加可能是芳香族氨基酸合成加强的结果,芳香族氨基酸是合成黄酮的前体,而类黄酮物质可保护植物免遭 UV-B 辐射的伤害。UV-B 辐射下,蛋白质含量的增减效果,决定于辐射强度和不同植物对 UV-B 辐射的敏感程度。李元等报道了增强的 UV-B 辐射对春小麦不同生育期叶片可溶性蛋白质含量的影响,发现叶片可溶性蛋白质含量在分蘖期、拔节期和扬花期均显著降低,而在成熟期则显著增加^[13]。冯国宁等对菜豆进行研究后认为短时间的 UV-B 辐射会促进蛋白质的合成;而长期的 UV-B 辐射则会抑制蛋白质的合成,加速蛋白质的分解。可溶性蛋白质含量的减少,蛋白质合成及结构的改变,尤其是酶蛋白结构的改变会对植物的各种生理生化过程产生很大影响。其结果将导致植物生理代谢的紊乱,并最终在植物的形态结构和生理功能上表现出来^[14]。

UV-B 辐射后对大豆三叶期叶片蛋白质组学研究发现,在 300 多个蛋白质点中有 67 个蛋白质点发生了差异表达,涉及到代谢、能量、蛋白质运输、蛋白质合成、防御、转录和次生代谢 7 大类别^[15]。UV-B 辐射后水稻叶片蛋白质组学研究发现了 22 个差异表达的蛋白质^[16]。Casati 等用 DIGE 2-DE 分析 UV-B 辐射下玉米叶片蛋白质组的变化,鉴定出 165 个差异蛋白质点,后续分析发现在 UV-B 辐射下蛋白质水平的变化和 mRNA 水平的变化有着高度的一致性。同时还发现蛋白质发生了翻译后修饰^[17]。Kaspar 等分析了大麦苗期 UV-B 辐射胁迫下蛋白质组的变化,通过 2-DE 和 label free 液相串联质谱 2 种方法总共鉴定出 21 个差异蛋白质。大部分蛋白质参与氧化胁迫反应,还有一些参与生成次生代谢物前体的反应^[18]。

本研究分析了 UV-B 辐射下小麦苗期叶片蛋白质组的变化,旨在为后续研究小麦抗 UV-B 辐射

的机理和抗逆育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料小麦品种聊大 1 号,由山东聊城大学生命科学院提供。2007 年在聊城大学生命科学院人工气候室中育苗。在 25 °C 条件下用纯净水浸种 10 h 后催芽。挑选大小相近,发芽一致的小麦种子播于塑料花盆中(有机土与蛭石 3:1,播深 3 cm),每盆播 15 粒。处理组和对照组各种植 10 盆,每盆为 1 个重复。培养温度为昼 20 °C,夜 18 °C,光照时间为 12 h,光照强度为 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。待苗长约 2 cm 时,每盆加入 Hoagland 营养液 200 mL,以后每隔 10 d 加 1 次营养液。当幼苗长至第二片叶完全展开时进行 UV-B 处理,UV-B 光源采用北京电光源研究所生产的最大放射波长为 315 nm 的紫外灯管,灯管周围(距灯管约 5~8 cm)用双醋酸纤维素膜包裹,以除去 290 nm 以下的短波长的光。由于膜会老化,使透光性减弱,每 2 周更换 1 次,并调节灯具的高度(大约在植物上方 20 cm 处),维持 UV-B 照射强度约为 25 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$,每天连续照射 6 h;非 UV-B 增强处理区(CK)只悬挂灯架,不安装灯管。待幼苗长出 4 片全展叶时,分别挑选处理组和对照组长势相同的 3 盆进行取样。每个花盆为 1 个重复,单独取样,共重复 3 次。把每个花盆的叶片全部剪下,液氮冷冻,并保存于 -80 °C 冰箱中,用于蛋白质组学分析。

1.2 材料处理

蛋白质提取方法参照 Song 等^[19],将叶片于液氮中研磨,分装于 1.5 mL 离心管,每管约含 100 mg。加入 1 mL Trizol,剧烈振荡混匀后,室温放置 15 min。按每 1 mL Trizol 加入 0.2 mL 氯仿,剧烈振荡 15 min,室温静置 3 min。4 °C 10 000 r/min 离心 15 min。取下层有机相,加入 200 μL 乙醇,倒置混匀沉淀 DNA,室温静置 3~5 min,2 500 r/min 离心 10 min。取上清,加入 850 μL 异丙醇,室温静置 10 min,沉淀蛋白,13 000 r/min 离心 10 min。弃上清,加入 800 μL 0.3 mol/L 盐酸胍/95%乙醇,重悬沉淀,室温静置 20 min,9 500 r/min 离心 5 min。此步骤重复 3 遍。后用乙醇重悬沉淀,室温静置 20 min,9 500 r/min 离心 5 min。弃上清,并将残余液体彻底吸干。真空离心干燥 40 min。将蛋白干粉重悬于上样水化液(7 mol/L 尿素,2 mol/L 硫脲,2

mg/mL CHAPS, 5 mL/L pH 4~7 IPG buffer(GE Healthcare, USA)和 5.6 mg/mL DTT 中, 室温振荡溶解 1 h, 室温 13 000 r/min 离心 15 min, 吸取上清蛋白溶液, -80 °C 冻存。蛋白质含量测定按 Bradford 法, 标准曲线绘制中所用标准品为牛血清白蛋白。

1.3 2-DE 步骤

1) 上样: 用 480 μ L (含 120 μ g 总蛋白) 上样水化液在泡胀盘中重泡胀 IPG 胶条 (线性 pH 4~7, 24 cm) 12 h。

2) 第一向固相 pH 梯度等电聚焦: 将重泡胀胶条转入一向等电聚焦仪 IPGhor II (GE Healthcare, USA) 进行等电聚焦电泳。等电聚焦的电压参数设置: 150 V 1.5 h, 500 V 1.0 h, 1 000 V 0.5 h, 8 000 V 4 500 Vh (gradient), 8 000 V 64 000 Vh (gradient)。

3) 胶条的平衡: 聚焦结束后, 将胶条转入平衡管, 用 15 mL 平衡液平衡 2 次, 每次 15 min。平衡母液配方: 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 8.8, 6 mol/L 尿素, 0.3 mL/mL 甘油和 20 g/L SDS, 配制后分小瓶分装, -80 °C 保存。取配好的平衡母液 15 mL, 加入 0.15 g DTT 配制成平衡液一; 取配好的平衡母液 15 mL, 加入 0.375 g 碘代乙酰胺配制成平衡液二。

4) 二向 SDS-PAGE 垂直板电泳: 平衡后转入二向 12.5% SDS-PAGE 胶上, 使两胶面契合紧密, 并用 0.5% 低熔点琼脂糖封顶 (含适量溴酚兰)。将板胶置于 Ettan Dalt six (GE Healthcare, USA), 连接好电泳仪 (EPS 601, GE Healthcare, USA) 和控温循环水浴 (MultiTemp III, GE Healthcare, USA) 进行第二向变性胶电泳, 功率参数设置为: 先 1 W 电泳 1 h, 然后 15 W 电泳 4~5 h。

5) 染色: 银染采用 PlusOne™ Silver Staining Kit (GE Healthcare, USA) 提供的方法。用固定液 (400 mL/L 乙醇, 100 mL/L 醋酸) 固定 30 min; 用敏化液 (300 mL/L 乙醇, 20 g/L 硫代硫酸钠, 68 g/L 乙酸钠) 敏化 30 min; 蒸馏水洗 3 遍, 每遍 7 min; 2.5 g/L 硝酸银染色 20 min, 快速水洗胶的两面, 每遍 20 s; 加显色液 (25 g/L 碳酸钠, 0.15 mL/L 甲醛) 显色。待显色完全时, 用 15 g/L EDTA- Na_2 终止反应 10 min。用蒸馏水清洗 3 遍, 每遍 10 min。清洗干净的胶, 用扫描仪扫描后, 保鲜膜包裹, 于 4 °C 保存。

1.4 图像处理

用 Image Master 2D Platinum 5.0 (GE

Healthcare, USA) 进行图像分析。首先是蛋白点的自动检测, 3 个参数 smooth, minimum area 和 saliency 的设置分别是: 2、15、8, 随后进行手动编辑 (点的增减、切割、合并和轮廓修正)。在软件自动均一化处理后, 将所有胶与参比胶进行自动匹配, 后进行手动修改。

1.5 胶内酶切

手动挖出差异蛋白点, 置于 1.5 mL 离心管中, 对于低丰度点可合并 2~4 张胶进行富集。将 30 mol/L 铁氰化钾和 100 mol/L 硫代硫酸钠 1:1 混合, 对蛋白点进行脱色。待脱色完全, 水洗 3 遍终止反应; 50% 乙腈 (含有 25 mol/L 碳酸氢铵) 清洗胶块, 后用 100% 乙腈脱水; 真空干燥胶块 20 min; 加入 5~10 μ L (10 ng/ μ L) 质谱级胰蛋白酶 (Modified Sequencing Grade, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany), 4 °C 吸胀 40 min, 后用 25 mol/L 碳酸氢铵覆盖胶块, 37 °C 酶切 12~16 h; 肽段用 1 mL/L 三氟乙酸抽提 1 遍, 1 mL/L 三氟乙酸和 700 mL/L 乙腈抽提 2 遍, 将抽提液合并, 冷冻干燥 2 h, 将体积浓缩至约 10 L, -80 °C 冻存, 待质谱测定。

1.6 质谱鉴定和匹配

使用 AUTOFLEX II TOF-TOF (Bruker Daltonics, Germany) 进行肽指纹图谱及二级质谱测定。样品点于 Anchorchip 384 板, 选择胰蛋白酶自解峰 2 163.333 和 2 273.434 为内标。将每个样品的 PMF 或者 CID MS/MS 肽段质量列表保存, 以用于数据比对。

峰图分析软件为 Auto Flexanalysis (Bruker Daltonics, Germany) 和 Mascot Distiller (Matrix Science)。将 PMFs 和 CID MS/MS 肽段列表输入 Matrix Science (<http://www.Matrixscience.Com>) 搜索引擎在 NCBI 库中进行匹配; 分类学种类选择 Viridiplantae (Green Plants); 每次匹配允许一个酶切位点的丢失; 所有肽段质量峰都为单同位素峰并质子化; PMF 肽段质量精确度为 0.2 u; 二级图谱肽段质量精确度为 0.2 u; 分别选择甲硫氨酸氧化和半胱氨酸氨基甲基化作为可变和固定修饰。

被认定是阳性结果的条件是: 1) MOWSE 分值高于或等于 MASCOT 所给出的 5% 显著性水平的分值; 2) 至少有 4 个不同肽段与已知蛋白的肽段匹配; 3) 匹配肽段的覆盖率要高于 10%; 4) 实际与理论肽段质量误差小于 0.2 u。

2 结果与分析

本研究以小麦品种聊大1号 UV-B 辐射处理组和对照组为试验材料,采用蛋白质双向电泳技术,建立了小麦叶片的蛋白表达谱(图 1),选用的 pH 分离范围为 4~7,蛋白质分子质量范围为 10~110 ku,每个材料设 3 个重复。用 Image Master 2D Platinum 5.0 (GE Healthcare, USA),分析 UV-B 辐射处理组和对照组间蛋白丰度的差异。处理组和对照组均设 3 个重复,选择表达变化倍数在 2.0 以上的点进行 Student's *t*-test 的统计学检测($P < 5\%$)。最终通过统计检测,在 1 300 个蛋白点中检测到 15 个点(1.2%)发生了差异表达。

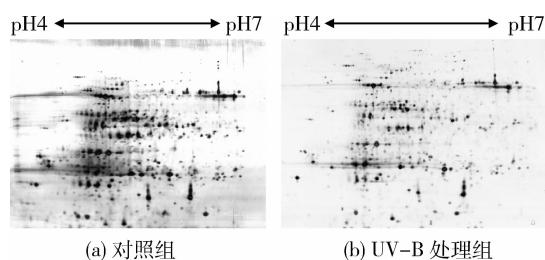
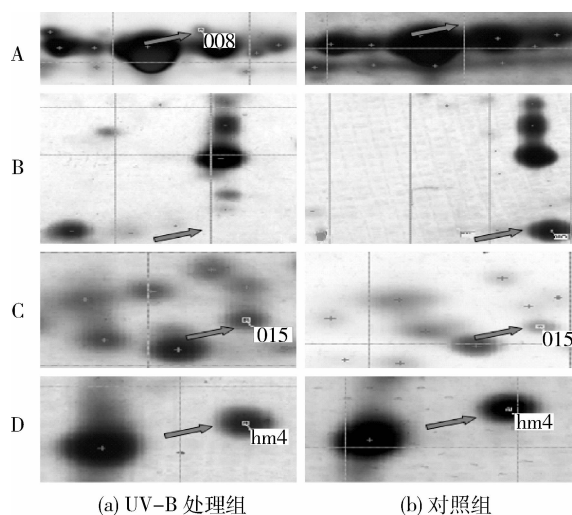


图 1 UV-B 辐射处理和对照小麦苗期叶片蛋白质差异表达谱分析

Fig. 1 2-DE map of proteins in control samples and stressed samples

存在 2 种质的和 2 种量的差异表达模式,质的差异表达模式包括:1)特异表达,即只在 UV-B 辐射处理组中表达,在对照组不表达(图 2(A));2)沉默表达,即只在对照组中表达,在 UV-B 辐射处理组中

不表达(图 2(B))。量的差异表达模式包括:1)上调表达,即在 UV-B 辐射处理组和对照组都表达,且 UV-B 辐射处理组中的表达量高于对照组(图 2(C));2)下调表达,即在 UV-B 辐射处理组和对照组中都表达,且 UV-B 辐射处理组的表达量低于对照组(图 2(D))。在 15 个差异表达蛋白点中,1 个为特异表达,2 个为沉默表达,6 个为上调表达,6 个为下调表达。



(A) 特异表达;(B) 沉默表达;(C) 上调表达;(D) 下调表达。

图 2 蛋白点差异表达模式

Fig. 2 Expression patterns of proteins

从 2-DE 胶挖取全部差异表达蛋白点进行酶切质谱鉴定,由于蛋白丰度、蛋白酶切特性和数据库信息量等条件的制约,最终成功鉴定了 6 个差异表达蛋白,对应 4 种不同蛋白质功能(表 1)。

表 1 UV-B 辐射处理组和对照组小麦叶片差异表达蛋白鉴定结果

Table 1 Proteins responsive to UV-B radiation

点编号	蛋白功能	差异表达模式	分类学来源	Ac. 号	蛋白质分子质量/u	等电点
1	plastocyanin oxidoreductase iron-sulfur protein	上调表达	未知	gi 68566191	23 711.0	8.47
2	ribosomal protein L12 homolog	上调表达	<i>Oryza sativa</i>	gi 2331135	16 303.7	5.36
6	ribosomal protein L12 homolog	特异表达	<i>Oryza sativa</i>	gi 2331135	16 303.7	5.36
10	plastocyanin oxidoreductase iron-sulfur protein	下调表达	未知	gi 92878660	23 711.0	8.47
11	RuBisCO large subunit-binding protein subunit alpha	下调表达	<i>Avicennia marina</i>	gi 134102	57 485.4	4.83
12	ATP synthase CF1 alpha chain	上调表达	<i>Triticum aestivum</i>	gi 14017569	55 261.2	6.11

差异表达蛋白包括: Rubisco 大亚基(碳水化合物代谢和能量代谢)(11号点);核糖体蛋白(参与蛋白翻译)(2和6号点);质体蓝素(一种在叶绿体的光合作用中作为电子传递体的蛋白)(1和10号点);质子-ATP酶 α 亚基(能量代谢类蛋白)(12号点)。

3 讨论

在蛋白质组学分析中,有时会出现多个蛋白点鉴定为同一个蛋白^[20-21]。本研究中1和10号点(图3)都鉴定为质体蓝素蛋白。2和6号点都鉴定为核糖体蛋白。这可能是由于这些蛋白由相似的基因编码,或者翻译后修饰导致的。例如,1和10号点具有相同的分子质量,不同的等电点,这可能是由于翻译后修饰引起的。Casati等在玉米中发现了多个点鉴定为同一蛋白,并且这些点在UV-B处理下表现不一致,有些点上调表达了,有些点下调表达了。例如有5个点鉴定为Rubisco大亚基,其中3个点上调表达,2个点下调表达^[17],Xu等在大豆中也发现2种蛋白质表达出现类似的情况^[14]。在本研究中,1和10号点都鉴定为质体蓝素蛋白,1号点在处理组中上调表达,10号点在处理组中下调表达。本研究中还有一种情况,2和6号点同为核糖体蛋白,2号点在UV-B处理下上调表达,6号点则特异表达。

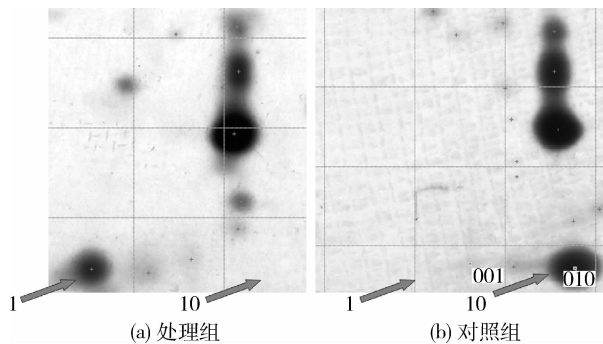


图3 1号差异点、10号差异点蛋白质电泳图谱

Fig. 3 2-DE map of spot 1 and spot 10

质体蓝素蛋白在UV-B处理下发生了差异表达。质体蓝素蛋白在光合作用中起电子传递作用,表明光合作用受到了UV-B的影响。在玉米、大豆和大麦的研究中同样发现了参与光合作用电子传递的蛋白质表达受到了影响^[15,17-18]。

差异蛋白质中有2个蛋白与光合作用密切相关,分别为ATP合成酶CF1亚基、Rubisco大亚基。

光驱动的电子传递产生质子浓度梯度,叶绿体ATP合成酶利用这种质子浓度梯度所产生的能量,将ADP和无机磷转化为ATP^[22]。Rubisco是植物进行光合作用的主要酶类之一,双向电泳结果显示,在处理组下调表达,这与前人的实验结果一致,增强UV-B辐射既抑制Rubisco活性,亦使其大、小亚基和全酶的含量降低^[23-26]。

对经过UV-B辐射增强的水稻苗期叶片进行研究,UV-B辐射增强使可溶性蛋白质含量下降^[27-28],UV-B辐射增强使水稻蛋白质分解代谢加强,可溶性蛋白质含量下降,据报道可溶性蛋白质中约有50%为RuBPCase^[29]。这可能是Rubisco下调表达的原因。

核糖体是蛋白质生物合成的场所,而核糖体蛋白是组成核糖体的重要组成部分,占细胞内总蛋白的15%^[30]。核糖体蛋白在蛋白质生物合成过程中具有关键作用,影响翻译的起始、延伸和终止,同时可以通过逆磷酸化在蛋白质合成中起调节作用^[31]。本研究结果显示分析出的2个核糖体蛋白均上调表达,这样可以促进逆境相关防御蛋白的表达。

参 考 文 献

- [1] Farman J C, Murgatroyd R J, Silnickas A M, et al. Ozone photochemistry in the antarctic stratosphere in summer[J]. Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society, 1985, 111:1013-1025
- [2] Crutzen P J, Müller R, Brühl C, et al. On the potential importance of the gas phase reaction $\text{CH}_3\text{O}_2 + \text{ClO} \rightarrow \text{ClOO} + \text{CH}_3\text{O}$ and the heterogeneous reaction $\text{HOCl} + \text{HCl} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Cl}_2$ in "ozone hole" chemistry [J]. Geophysical Research Letters, 1992, 19:1113-1116
- [3] Madronich Sasha, McKenzie Richard L, Caldwell Martyn M. Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface [J]. AMBIO, 1995, 24:143-152
- [4] Teramura A H, Sullivan J H. Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants [J]. Photosynthesis Research, 1994, 39:463-473
- [5] 许莹. UV-B辐射增强对水稻生长发育及产量的影响[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2006
- [6] 郑有飞, 蔺蔚民, 李秀芬, 等. 紫外辐射增强对大豆影响的进一步分析[J]. 环境科学学报, 1998, 18:549-552
- [7] 王传海, 阎阔忠, 严培截, 等. UV-B增加对小麦及玉米物候发育影响的初步研究[J]. 中国农业科学, 2004, 20:80-83
- [8] 周青, 黄晓华, 马育国, 等. 紫外辐射胁迫对小麦生长的影响[J]. 农业环境保护, 2001, 20:94-96
- [9] 王传海, 郑有飞, 何都良, 等. 小麦不同指标对紫外辐射 UV-B

- 增加反应敏感性差异的比较[J]. 中国农学通报, 2003, 19: 43-45
- [10] Nedunchezian N, Annamalinathan K, Kulandaivelu G, et al. Ultraviolet-B (280-320 nm) enhanced radiation induced changes in chlorophyll-protein complexes and polypeptide composition of chloroplasts in *Vigna unguiculata* seedlings grown at various temperatures[J]. Photosynthetica, 1995, 31: 21-29
- [11] Terence M Murphy, Lawrence A Wright Jr, Judith B Murphy. Inhibition of protein in cultured tobacco cells by radiation[J]. Photochemistry and Photobiology, 1975, 21: 219-225
- [12] Nedunchezian N, Annamalinathan K, Kulan-daivelu G, et al. Induction of heat shock-like proteins in *Vigna siriensis* seedlings growing under UV-B enhanced radiation [J]. Physiologia Plantarum, 1992, 85: 503-506
- [13] 李元, 王勋陵. 紫外辐射增加对春小麦生理、产量和品质的影响[J]. 环境科学学报, 1998(5): 504-509
- [14] 冯国宁, 安黎哲, 冯虎元, 等. 增强 UV-B 辐射对菜豆蛋白质代谢的影响[J]. 植物学报, 1999, 41: 833-836
- [15] Xu Chenping, Sullivan H Joe, Garrett M Wesley, et al. Impact of solar Ultraviolet-B on the proteome in soybean lines differing in flavonoid contents[J]. Phytochemistry, 2008, 69: 38-48
- [16] Du Hongmei, Liang Yu, Pei Kequan, et al. UV Radiation-responsive proteins in rice leaves: A proteomic analysis[J]. Plant Cell and Physiology, 2011, 52: 306-316
- [17] Casati Paula, Zhang Xing, L Alma, et al. Burlingame analysis of leaf proteome after UV-B irradiation in maize lines differing in sensitivity[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2005, 4: 1673-1685
- [18] Kaspar Stephanie, Matros Andrea, Mock Hans-Peter. Proteome and flavonoid analysis reveals distinct responses of epidermal tissue and whole leaves upon UV-B radiation of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings [J]. Journal of Proteome Research, 2010, 9: 2402-2411
- [19] Song X, Ni Z F, Yao Y Y, et al. Identification of differentially expressed proteins between hybrid and parents in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling leaves[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118: 213-225
- [20] Bahrman Nasser, Negroni Luc, Jaminon Odile, et al. Wheat leaf proteome analysis using sequence data of proteins separated by two-dimensional electrophoresis[J]. Proteomics, 2004, 4: 2672-2684
- [21] Donnelly E Bryna, Madden D Robin, Ayoubi Patricia, et al. The wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf proteome[J]. Proteomics, 2005, 5: 1624-1633
- [22] Mills D A, Richter M L. Nucleotide binding to the isolated subunit of the chloroplast ATP synthase[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1991, 266: 7440-7444
- [23] Allen D J, McKee I F, Farage P K, et al. Analysis of the limitation to CO₂ assimilation on exposure of leaves of two *Brassica napus* cultivars to UV-B [J]. Plant, Cell & Environment, 1997, 20: 633-640
- [24] Ferreira R M, Franco E, Teixeira A R, et al. Covalent dimerization of ribulose biphosphate carboxylase subunit S by UV radiation[J]. Biochemistry Journal, 1996, 15: 227-234
- [25] Jordan B R, He J, Chow W S, et al. Changes in mRNA levels and poly-peptide subunits of ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase in response to supplementary ultraviolet-B radiation[J]. Plant, Cell & Environment, 1992, 15: 91-98
- [26] 刘成. 增强 UV-B 辐射对萌发初期绿豆幼苗生长和光合作用的影响[D]. 西安: 陕西师范大学, 2004: 24-25
- [27] 唐莉娜. 水稻对 UV-B 辐射增强的生理响应及其抗性动态遗传的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2003: 45-46
- [28] Baaionny F M, Van T K, Biggs R H. Some morphological and biochemical characteristics of C₃ and C₄ plants irradiated with UV-B[J]. Physiologia Plantarum, 1978, 42: 29-32
- [29] Steinback K E. Proteins of the chloroplast [J]. The Biochemistry and Nuclei Acids Academic, 1981, 6: 303-319
- [30] Mager W H. Control of ribosomal protein gene expression[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1988, 949: 1-15
- [31] Popescu C Sorina, Tumer E Nilgun. Silencing of ribosomal protein L3 genes in *N. tabacum* reveals coordinate expression and significant alterations in plant growth, development and ribosome biogenesis[J]. The Plant Journal, 2004, 39: 29-44

责任编辑: 袁文业