

# 水稻苗期响应光强日变化的分子行为生态初探\*

林文雄 余高镜 熊君 陈婷

(福建农林大学农业生态研究所 福州 350002)

**摘要** 本研究以常规优质稻“佳辐占”为材料,应用差异蛋白组学的方法研究福建省光照最强月份(7月份)水稻秧苗功能叶响应光强日变化的分子机制。结果表明:共有7个蛋白质发生表达丰度的日变化,经质谱分析与功能鉴定,预测了6个蛋白质,分别是叶绿体光合系统I反应中心亚基II-类蛋白(蛋白点1)、核苷单磷酸激酶b(蛋白点2)、含Lon保守区的蛋白酶类蛋白(蛋白点3)、推定的还原酶(蛋白点4)、分子伴侣(蛋白点5)和倍半萜环化酶1(蛋白点6),其中,除蛋白点2、3在午间表达丰度增强之外,其余均下降,揭示了水稻功能叶蛋白质响应光强日变化的分子行为生态学特性。

**关键词** 水稻 光抑制 光强日变化 差异蛋白组学 分子行为生态特性

中图分类号: Q948; S312 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2009)01-0115-05

## Primarily study on molecular behavior ecology of rice seedling in response to daily change in sunlight intensity

LIN Wen-Xiong, YU Gao-Jing, XIONG Jun, CHEN Ting

(Institute of Agroecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract** Commonly cultivated high quality elite rice cultivar “Jiafuzhan” was used to study molecular behavior ecological mechanisms in functional leaves of rice seedlings through investigation on their response to daily changes in sunlight intensity (from 6: 00 to 18:00). The results reveal 7 proteins with regular patterns of daily change in expression abundance and 6 of them are successfully identified and predicted. The proteins are chloroplast photosystem I reaction center subunit II - proteinoid (spot 1 protein), UMP/CMP kinase b (spot 2 protein), OSJNBa0027P08.12 protein (spot 3 protein), putative reductase (spot 4 protein), putative chaperonin (spot 5 protein) and putative sesquiterpene cyclase 1 (spot 6 protein). Expression abundance of all identified proteins drop at mid-day (12:00 ~ 14:00), except for spots 2 and 3 proteins. This implies that the molecular behavior ecological properties are related to differentially expressed protein abundance in functional rice leaves in response to changes in daylight.

**Key words** Rice, Photoinhibition, Daily pattern of sunlight intensity, Differential proteomics, Molecular behavior ecological mechanism

(Received March 30, 2008; accepted May 18, 2008)

光是光合作用的动力, 过高或过低均会导致作物光合能力下降。长江中下游地区水稻生育期间常因强光高温而导致光合作用的光抑制, 且每隔2~3年又会因连阴雨的强光造成严重减产。因此, 研究水稻对高低光强的适应性是水稻稳产、高产的关键生理问题<sup>[1]</sup>。在晴天, 照射在植物叶片上的太阳光强度从早到晚逐渐变化, 植物的光合作用也呈相应的动态变化, 光合日变化是植物维持光合机构内不同组分对环境条件响应的一种平衡能力<sup>[1,2]</sup>。有关

高等植物光合作用日变化已有不少报道, 如光合速率、叶绿素、荧光非化学猝灭和叶绿素荧光参数等的日变化。近年来, 诸多学者研究了水稻在盆栽或自然条件下叶绿素荧光日变化的光适应特性及与光合生产力和产量的关系, 取得了一些可喜结果, 指出在中午强光高温条件下, 水稻品种的PSII反应中心发生了可逆失活, 这可能是中午发生光合下调的生理原因之一<sup>[1,3-12]</sup>。但其更深层次的分子机制还未曾涉及。本研究拟在前人研究基础上, 应用差异蛋

\* 国家自然科学基金项目(30571103)和教育部生态学博士点基金项目(20050389004)资助

林文雄(1957~), 男, 博士, 教授, 主要从事作物生理与分子生态学研究。E-mail: wenxiong181@163.com

收稿日期: 2008-03-30 接受日期: 2008-05-18

白组学的观点和方法研究水稻功能叶对光强日变化适应的分子行为生态特性, 以期为水稻高光效育种提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试品种与取样方法

供试水稻品种为福建省推广的常规优质稻“佳辐占”。试验于 2005 年 7 月在厦门集美科研基地进行, 该基地 7 月份日平均气温 28.3℃, 日平均最高气温为 38.5℃, 太阳辐射强度为 63.72 kJ·cm<sup>-2</sup>。种子催芽后采用直播方式进行田间播种与管理, 5 叶期后, 定株并标记 100 株秧龄相同、长势相似的秧苗供随机取样。在自然条件下, 分别于 6: 00、10: 00、12: 00、16: 00、17: 00、18: 00 取同一叶位的功能叶并分别收藏于-80℃冰箱中备用。

### 1.2 蛋白质提取与双向电泳

#### 1.2.1 蛋白质提取

样品提取: 用 TCA/丙酮法提取叶片蛋白质<sup>[13]</sup>, 具体作法是取 1 g 左右叶片放于研钵中并加入 10%PVP, 液氮研磨成粉末, 加入 5 mL 10%TCA(三氯乙酸: 10% 纯 TCA, 90%丙酮, 0.07%巯基乙醇)重悬沉淀, 使细胞壁破裂, 放在-20℃沉淀过夜, 4℃下 18 000 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min, 弃上清, 沉淀用预冷的丙酮重悬, 于-20℃下沉淀 1 h, 4℃下 18 000 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min, 弃上清, 真空干燥所得的沉淀于-20℃保存待用。

样品裂解: 称取蛋白质干粉按 15 μL·mg<sup>-1</sup>的比例用 CHAPS 提取液 [9 mol·L<sup>-1</sup> 尿素, 1%二巯苏糖醇 (DTT), 4%CHAPS, 2%Ampholine (pH 5~8)] 于超声波清洗器中 20℃超声处理 10×1.5 min, 每次超声处理间隔期间震荡 30 s, 25℃下 12 000 r·min<sup>-1</sup>离心 20 min, 取上清备用。

定量分析: 参照李兆伟等<sup>[14]</sup>的方法进行定量, 先用 CHAPS 配置不同浓度 (10~40 μg·μL<sup>-1</sup>, 4 个梯度) 牛血清蛋白, 做标准曲线, 以 BRANDFORD 工作液 (425 mL 水+15 mL 乙醇+30 mL 磷酸+30 mL BRANDFORD 贮存液)做对比, 每个样品取出 10 μL 溶解, 在 OD595 下测量, 参照标准曲线计算蛋白浓度。

#### 1.2.2 双向电泳

##### (1) 第一向——等电聚焦(IEF)电泳

管状 IEF 胶的制备: 取尿素 2.06 g, 加入 0.75 mL 超纯水, 0.75 mL 10%NP-40, 0.25 mL Ampholine 混合液(pH3.5~10 pH5~8=1:3), 0.5 mL 丙烯酰胺单体储液 (28.38%丙烯酰胺, 1.62%N, N-甲叉双丙烯酰胺); 25℃水浴超声处理使之溶解并去除溶液中的空气, 1 000 r·min<sup>-1</sup>离心 20 s 去除气泡, 加入 8 μL

10%过硫酸铵和 1.5 μL TEMED; 混合后立即灌入长 21 cm、内径为 1.5 mm 的玻璃管中, 胶长 18 cm, 垂直放置, 顶部覆盖 10 μL 超纯水, 室温聚合 2 h 以上。待胶聚合后, 除去覆盖的水, 用微量进样器将蛋白质溶液加到胶的顶部, 上样量为 170 μg; 覆盖 10 μL 5 mol·L<sup>-1</sup> 尿素溶液, 加入电极缓冲液至管口, 随即进行电泳。

参数设置: 阴极缓冲液为 50 mmol·L<sup>-1</sup> NaOH, 阳极缓冲液为 25 mmol·L<sup>-1</sup>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 28℃下电泳。电压设置为 300 V×0.5 h、400 V×0.5 h、500 V×0.5 h、600 V×0.5 h、800 V×16 h、1 500 V×1 h。

##### (2) 第二向——SDS-PAGE 电泳

平衡: 第一向等电聚焦完成后, 取出玻璃管, 用双蒸水清洗后, 用注射器靠水压轻轻挤出胶条, 置于培养皿内, 直接进行第二向电泳或放于-70℃暂存。进行第二向电泳前将胶条用平衡液[60 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 6.8), 2%SDS, 5%巯基乙醇, 10%甘油, 0.05%溴酚蓝]平衡 15 min, 更换新鲜配置的平衡液再次平衡 20 min, 立即进行第二向聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)电泳。

第二向电泳: 凝胶规格为 190 mm×190 mm×1.5 mm, 分离胶为 10%聚丙烯酰胺凝胶 (预实验证明 10%胶较 12%胶对根系蛋白的分辨效果更好), 用 1%琼脂糖(电泳缓冲液配置)封闭; 电泳槽加入电极缓冲液 (25 mmol·L<sup>-1</sup> Tris, 192 mmol·L<sup>-1</sup>0.1%SDS), 7~9 mA (每板胶)恒流进行电泳, 电泳温度保持在 10℃, 待溴酚蓝离底部 1 cm 即可停止电泳, 一般电泳耗时 12~14 h。

#### 1.2.3 银染

按李兆伟等<sup>[14]</sup>的方法修改后进行银染: 将跑完第二向电泳的凝胶从玻璃板剥离, 放入固定液 (50%甲醇, 5%乙酸) 固定 30 min, 50%甲醇溶液洗 30 min, 超纯水浸泡过夜, 以 30%乙醇、2 g·L<sup>-1</sup> 硫代硫酸钠、0.5 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸钠、5 mL·L<sup>-1</sup> 戊二醛 (如进行质谱分析则不加) 增敏, 水洗 3×5 min, 2.5 g·L<sup>-1</sup> 硝酸银、0.4 mL·L<sup>-1</sup> 甲醛银染 20 min, 水洗 2×1 min, 25 g·L<sup>-1</sup> 碳酸钠、0.2 mL·L<sup>-1</sup> 甲醛显色 5~10 min, 水洗 2×1 min, 5%乙酸停显。

#### 1.2.4 蛋白质表达图谱的建立及差异点的确定

凝胶银染后使用 Umax powerlook 扫描仪扫描, 构建蛋白质表达图谱; 借助 ImageMaster 软件分析, 当两两之间的差量值大于 1.5 时, 认为具有显著性差异。确定差异蛋白点后, 从胶上挖取差异点。

#### 1.2.5 蛋白质点胶内酶解及肽段提取

脱银: 将蛋白质点从胶上挖下, 切成 0.6~1 mm<sup>3</sup> 的方块放入 PCR 管中; 加入工作液 (1:1 混合 30 mmol·L<sup>-1</sup> 铁氰化钾与 100 mmol·L<sup>-1</sup> 硫代硫酸钠)

并旋涡震荡,直至褐色消失;加入纯水震荡清洗 3 次,中止反应;加入  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{HCO}_3$  孵育两次,每次 5 min,弃上清;真空干燥 1 h。

**胶内消化:** 加入新鲜配制的  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{DTT}$  ( $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵配制)溶液,  $57^\circ\text{C}$  孵育 1 h;冷却至室温,吸去残液。加入等体积  $55 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碘乙酰胺 ( $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵配制)溶液,避光孵育 1 h,不时震荡;弃上清,加入  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵溶液,震荡混匀,室温静置 5 min,重复 1 次;加入乙氰,震荡混匀,室温静置 5 min,重复 1 次;真空干燥 1 h;加入  $15 \mu\text{L}$  消化液 [ $12.5 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  胰酶 ( $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵配制)溶液],混匀,  $4^\circ\text{C}$  放置 30 min;吸出多余的液体,加入  $10 \mu\text{L}$   $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵溶液,  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 s,  $37^\circ\text{C}$  酶切  $12 \text{ h}^{[15]}$ 。

**萃取:** 冷却至室温,  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 s,收集消化液于新离心管中;用  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碳酸氢铵溶液提取,收集萃取液于同一离心管中;用 5%TFA/50%乙氰提取 3 次,收集萃取液于同一离心管中;乙氰提取两次,收集萃取液于同一离心管中;真空干燥大约 3 h。

**上样:**  $200 \mu\text{L}$  40%乙氰/0.1%TFA 中加入 2 mg HCCA 配制过饱和液,超声波震荡 5 min,  $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,取上清液至新管中,每次新鲜配制。用  $2 \mu\text{L}$  0.5%TFA 溶解肽段,取  $1 \mu\text{L}$  样品加入等体积基质 HCCA 饱和溶液,混合均匀,上样  $1 \mu\text{L}$  至点样刚板。

### 1.2.6 MALDI-TOF/MS (基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱)分析

MALDI-TOF/MS 分析在厦门大学生命科学学院分析测试中心质谱室进行。质谱样品使用德国 BRUKER 公司的 ReFlexTMIII MALDI-TOF 质谱仪进行分析,采用反射模式,离子源加速电压 1 为 20 kV, 2 为 23 kV, N2 激光波长 337 nm,脉冲宽度为 3 ns,离子延迟提取 2000 ns,真空度  $1.9 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ ,质谱信号单次扫描累加 50 次,并用标准 Mark 峰作为外标校正质谱峰,正离子谱检测。获得肽质量指纹图谱后进行表峰,得到质谱分析数据。

### 1.2.7 数据库查询及蛋白质鉴定

质谱分析所得数据去除杂质峰值后,通过 Matrix Science (Matrix Science, London, UK)网站 (<http://www.matrixscience.com>) 提供的 MASCOT 软件 ([http://www.matrixscience.com/cgi/search\\_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=PMF](http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=PMF)) 进行查询。查询条件: 对表现  $pI$  值及分子量未做要求;肽片段分子量最大容许误差范围为 1.0 Da,蛋白种属选择水稻 (*Oryza sativa*),不完全裂解位点 1 个,碘乙酰胺处理,分别交换 MSDB 和

NCBIInr 数据库链进行查询。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻功能叶对光强日变化响应的蛋白质双向图谱构建

通过银染得出蛋白 2D 图谱 (图 1),通过 Image-Master 软件分析,在等电点 3~11 和分子量为 14~97 KD 范围内,手工除去杂点后,检出 800~1000 个蛋白点。原则上,不同检测时间的同一蛋白点间表达丰度差值达到 1.5 倍,即认为表达量有差异,据此,检测出 7 个蛋白点表达量呈明显的日变化,分别标记为 1 到 7 号,便于肽指纹图谱的分析与蛋白质鉴定。其表达模式见表 1。

表 1 差异蛋白日变化的表达模式

Tab.1 Expression patterns of differential proteins in rice leaves in response to daily sunlight changes

蛋白点 Protein spot	表达变化模式 Dynamic expression pattern
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

表达变化模式的 1、2、3、4、5、6 分别代表白天 6 个不同时段。1,2,3,4,5,6 in expression patterns refer to 6 testing time courses in day time respectively (i.e. 6: 00, 10: 00, 12: 00, 14: 00, 16: 00, 18: 00)。

### 2.2 水稻功能叶对光强日变化响应的差异蛋白质谱分析与功能鉴定

质谱分析及鉴定结果见表 2。由表 2 可知,响应自然光强日变化的 7 个叶片蛋白发生了明显的表达丰度变化,其中 6 个蛋白质的功能得到了鉴定,分别为叶绿体光合系统 I 反应中心亚基 II-类蛋白 (蛋白点 1)、核苷单磷酸激酶 b (蛋白点 2)、含 Lon 保守区的蛋白酶类蛋白 (蛋白点 3)、推定的还原酶 (蛋白点 4)、分子伴侣 (蛋白点 5) 和倍半萜环化酶 1 (蛋白点 6)。从表 1 可以看出,蛋白点 1 有 3 个表达高峰,分别位于 10:00、14:00、18:00;蛋白点 2 和 3 有 2 个表达高峰,分别位于午间光照强度最强的 12:00 和 14:00;蛋白点 4 则从 6:00 到 16:00 表

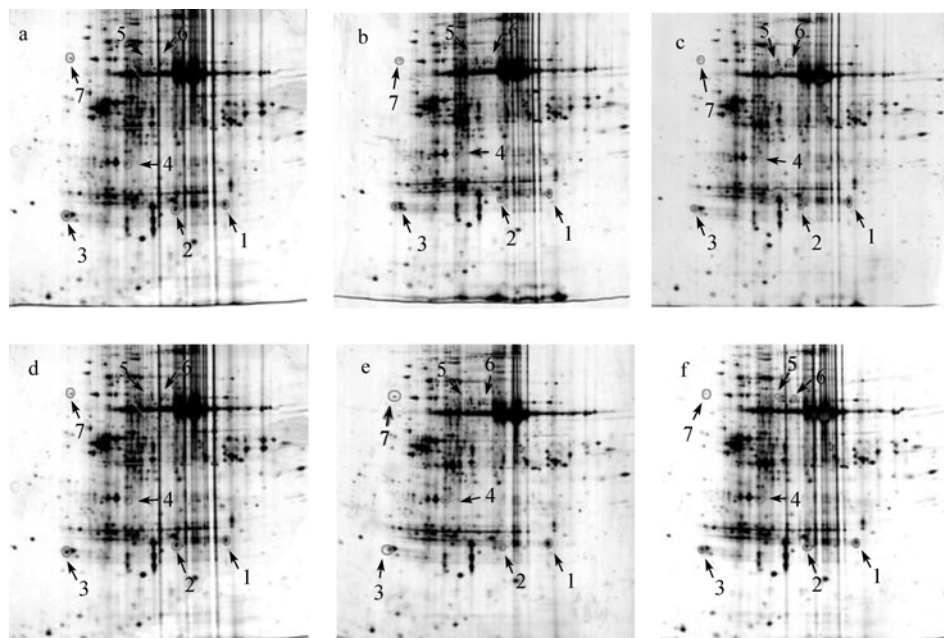


图 1 6: 00(a)、10: 00(b)、12: 00(c)、14: 00(d)、16: 00(e)和 18: 00(f)叶片蛋白 2D 图谱

Fig.1 2D maps of protein spots in leaves detected at 6 : 00(a),10 : 00(b),12 : 00(c),14 : 00(d),16 : 00(e) and 18 : 00(f) respectively

表 2 差异点质谱分析初步鉴定结果

Tab.2 Identification of proteins of rice leaves by using MALDI-TOF/MS and database searching

蛋白点号 Protein spot No.	分子量 Molecular mass (D)	等电点 <i>pI</i>	匹配率 Matched rate	序列覆盖率 Sequence coverage rate(%)	鉴定的蛋白名称 Identification
1	22 020	9.72	4/13	23	叶绿体光合系统 I 反应中心亚基 II -类蛋白 Chloroplast photosystem I reaction center subunit II- proteinoid
2	23 210	5.43	3/10	23	核苷单磷酸激酶 b UMP/CMP kinase b
3	22 775	5.01	4/17	27	含 Lon 保守区的蛋白酶类蛋白 OSJNBa0027P08.12 protein
4	29 582	5.63	3/9	24	推定的还原酶 Putative reductase
5	61 550	6.61	5/10	14	推定的分子伴侣 Putative chaperonin
6	70 182	5.52	3/8	9	推定的倍半萜环化酶 I Putative sesquiterpene cyclase I

达丰度不断增强,到 18: 00 则下降;蛋白点 5 则表现为 10: 00、14: 00 和 16: 00 3 个时段表达丰度增强,其余时间下降;蛋白点 6 只有 10: 00 表达丰度增强;蛋白点 7(未知蛋白)只有在 6: 00 和 12: 00 表达丰度较弱,其余 4 个时段均表现为表达丰度增强。由此可见,午间较强的光照条件有抑制蛋白点 1、5、6 和 7 蛋白质表达的趋势,而对蛋白点 2、3、4 的表达则呈促进作用。

### 3 结论与讨论

上述分析表明,水稻功能叶蛋白质对光强日变化有明显的分子适应特性,经 2D 图谱构建与差异蛋白质检测,发现 7 个差异表达的蛋白质参与了光强日变化的分子适应过程,生物信息学分析鉴定出 6 个已知功能的蛋白质,它们分别是叶绿体光合系统 I 反应中心亚基 II -类蛋白(蛋白点 1)、核苷单磷酸

激酶 b(蛋白点 2)、含 Lon 保守区的蛋白酶类蛋白(蛋白点 3)、推定的还原酶(蛋白点 4)、分子伴侣(蛋白点 5)和倍半萜环化酶 I(蛋白点 6),共同承担了光抑制与光适应的分子生态学过程。

研究表明,光合作用分别由两部分组成,分别是光合系统 I 和光合系统 II。本实验中,蛋白点 1 蛋白(叶绿体光合系统 I 反应中心亚基 II -类蛋白)是与光系统 I 结合最为紧密的一个蛋白,它是光系统 I 中的比较重要的多肽物质,可促进光系统 I 反应中心的电子聚合,在它的电子吸引下,光系统 I 可以与铁氧化蛋白有效结合。图 2 A 和 B 是该蛋白的 3D 结构预测图,在图中可以看到,铁、镁、钙离子是该蛋白不可或缺的一部分,而这些离子可以明显促进光系统 I 中电子的传递。在表 1 中,该蛋白在 10: 00 和 14: 00 的丰度有明显上调,这两个时段中间的 12: 00 丰度却下调。

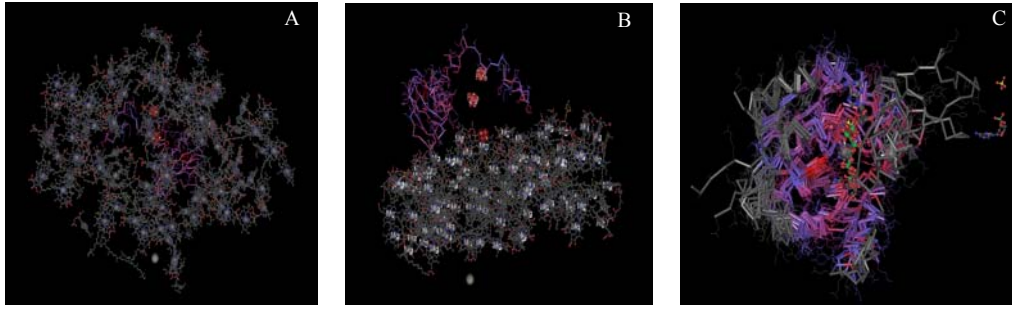


图 2 蛋白点 1(A, B)、2(C)的 3D 预测图

Fig.2 The 3-D predicted structures of protein spot 1 ( A, B ) and protein spot 2 ( C )

蛋白 2 是核苷单磷酸激酶, 这类蛋白主要参与核酸代谢, 其 3D 结构见预测图 2 C。从表 1 可看出, 12: 00 之前, 该蛋白丰度明显上调, 中午时合成保持在一定水平, 14: 00 ~ 16: 00 时合成下调, 并维持此浓度到 18: 00。

蛋白 3(OSJNBa0027P08.12 protein)与蛋白质的稳定性相关, 这是一个含 Lon 保守区的蛋白酶类蛋白, 参与蛋白质的降解。本实验中, 此蛋白 6: 00 ~ 12: 00 合成增强, 中午一直维持此浓度, 午后到傍晚蛋白合成持续下调。

蛋白 4 (推定的还原酶)与蛋白的氧化还原作用有关。该蛋白在 6: 00 ~ 10: 00 无明显变化, 10: 00 左右合成开始一路上调, 16: 00 ~ 18: 00 合成下调。

蛋白 5(推定的分子伴侣)参与蛋白合成过程中的多肽正确折叠和跨膜运输, 对多肽的稳定性起着重要作用。该蛋白除在中午 12: 00 合成下调外, 其他时间浓度一直都很稳定。

蛋白 7(推定的倍半萜化酶 1)是一个次生代谢中的植保素合成相关酶。此蛋白在 6: 00 ~ 10: 00 合成上调, 中午合成下调, 14: 00 又恢复到原始水平, 并维持该水平一直到 18: 00。

由此可见, 光抑制作用与上述蛋白点 2、3、4 在午间强光下表达量上调, 及其与光合作用密切相关的 4 个蛋白表达量下调有关。

## 参考文献

- [1] 匡廷云, 卢从明, 李良璧, 等. 作物光能利用效率与调控[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 200-250
- [2] Geiger D. R., Servaites J. C. Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in  $C_3$  plant[J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 1994, 45: 235-256
- [3] 季本华, 焦德茂. 水稻抗光破坏能力与 D1 蛋白和叶黄素循环的关系[J]. *科学通报*, 2000, 45(5): 510-515
- [4] 季本华, 朱素琴, 焦德茂. 午间强光下籼粳杂种稻的叶黄素循环和  $CO_2$  交换特性[J]. *中国水稻科学*, 2000, 14(3): 149-156
- [5] 焦德茂, 季本华, 童红玉, 等. 水稻籼粳亚种杂交 1 代光合光抑制特性[J]. *植物学报*, 1994, 36(3): 190-196
- [6] 焦德茂, 季本华, 严建民, 等. 水稻对高低光强的适应特性[J]. *作物学报*, 1996, 22(6): 668-672
- [7] 焦德茂, 李霞, 黄雪清, 等. 不同高产水稻品种生育后期叶片光抑制、光氧化和早衰的关系[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(5): 487-492
- [8] 季本华, 焦德茂. 光抑制条件下水稻籼粳亚种及其正反 F1 杂种的 PS II 光化学效率和  $CO_2$  交换特点[J]. *植物学报*, 1999, 41(5): 508-514
- [9] 李霞, 刘友良, 焦德茂. 不同高产水稻品种叶片的荧光参数的日变化和光适应特性的关系[J]. *作物学报*, 2002, 28(2): 145-153
- [10] 林植芳, 彭长连, 林桂珠.  $C_3$ 、 $C_4$  植物叶片叶绿素荧光猝灭日变化和对光氧化作用的响应[J]. *作物学报*, 1999, 25(3): 284-290
- [11] Aro E., Virgin I., Anderson B. Photoinhibition of photosystem II, inactivation, protein damage and turnover [J]. *Biochem. Biophys. Acta*, 1993, 1143: 113-119
- [12] Baker N. R., Bowyer J. R. Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field[M]. UK: Bios Scientific Publishers, 1998: 1-464
- [13] 王经源, 陈舒奕, 梁义元, 等. ISO-DALT 双向电泳方法的优化与改进[J]. *福建农林大学学报*, 2006, 35(2): 187-190
- [14] 李兆伟, 熊君, 李振方, 等. 水稻灌浆期叶鞘蛋白质差异表达分析[J]. *作物学报*, 2008, 34(4): 619-626
- [15] Peng X. X., Ye X. T., Wang S. Y. Identification of novel immunogenic proteins of shigella flexneri 2a by proteomic methodologies[J]. *Vaccine*, 2004, 22: 2750-2756