

大豆胞囊线虫胁迫下不同抗性大豆杂交后代根系蛋白质组分析

刘大伟¹ 陈立杰² 段玉玺²

(1. 东北农业大学 农学院 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 沈阳农业大学 植物保护学院 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 以高抗大豆胞囊线虫3号生理小种品种灰皮支黑豆(ZDD2315)为父本,高感大豆胞囊线虫3号生理小种品种辽豆15为母本,配制杂交组合,利用分离群体分组分析法将杂交后代分为抗池和感池。采用三氯乙酸/丙酮法提取大豆根系总蛋白质,运用双向电泳和质谱分析技术研究大豆胞囊线虫3号生理小种胁迫下不同抗性大豆杂交后代根系蛋白质组的变化。结果表明:抗池、感池分别有367、372个蛋白点在银染的2-D胶上分离,经ImageMaster 2D Platinum software对2-D胶分析后,以感池为参考胶,抗池有6个蛋白点特异表达,13个蛋白点的含量上调2倍以上,4个蛋白点的含量下调2倍以上,感池有4个蛋白点特异表达。对以上27个差异蛋白点进行MALDI-TOF-MS质谱分析,共鉴定出16个蛋白点,11个蛋白点因匹配率太低未得到鉴定。

关键词: 大豆; 大豆胞囊线虫; 双向电泳; 质谱分析

中图分类号: S432.4+5 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)05-0029-05

Proteomic Analysis of Soybean with Different Resistance Differentially Expressed Proteins Induced by *Heterodera glycines*

LIU Da-wei¹ CHEN Li-jie² DUAN Yu-xi²

(1. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Plant Protection College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: The cross was made between resistant variety Huipizhi Heidou(ZDD2315) and susceptible variety Liaodou 15 to *Heterodera glycines* race 3. Applying the F₄ separated population from the cross of Huipizhi Heidou and Liaodou 15 as test materials according to Bulk segregant analysis(BSA) to study differential proteomic. The total proteins were extracted by TCA/acetone, two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry were employed to analyze proteins extracted from roots of soybean differentially expressed induced by *Heterodera glycines*. The results showed that there were 367 and 372 protein spots isolated in silver nitrate stained 2-D gels in resistant and sensitive samples, the 2-D gels were analyzed by ImageMaster 2D Platinum software, there were 6 special protein spots, 13 twofold upper protein spots, 4 twofold lower protein spots in resistant samples, 4 special protein spots in sensitive samples. 16 protein spots were identified by MALDI-TOF-MS and blast in NCBI, and 7 protein spots were from soybean, 11 protein spots weren't identified due to the low scores.

Key words: Soybean; *Heterodera glycines*; Two-dimensional gel electrophoresis; Mass spectrometry

大豆胞囊线虫病(Soybean cyst nematode, SCN)是大豆生产中流行性、毁灭性病害之一。该病害发生的特点是分布广、危害重、传播途径多,是一种极难防治的土传病害。从世界范围来看,大豆胞囊线虫病的危害和蔓延有日趋加重的趋势,有关抗大豆

胞囊线虫的研究也越来越受到各国的重视^[1]。我国是大豆的发源地,抗大豆胞囊线虫品种资源极为丰富。因此,对现有资源进行抗大豆胞囊线虫的抗性机制研究,对于合理有效地利用我国抗大豆胞囊线虫品种资源和抗病育种具有重要意义^[2]。

收稿日期: 2013-07-11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系岗位科学家专项(CARS-04-PS13); 公益性行业科研专项(200903040); 东北农业大学博士启动基金项目(2012RCB99)

作者简介: 刘大伟(1983-),男,辽宁沈阳人,讲师,博士,主要从事大豆抗胞囊线虫研究。

通讯作者: 段玉玺(1964-),男,辽宁海城人,教授,博士生导师,主要从事植物病原线虫学研究。

目前应用蛋白质组学技术研究弯孢菌叶斑病菌侵染玉米、稻瘟病菌和白叶枯病菌侵染水稻、白粉病菌侵染黄瓜、镰孢菌和黄曲霉侵染玉米种胚等方面已有一定进展^[3-10],但在大豆与大豆胞囊线虫互作方面的研究尚少见相关报道。本研究通过双向电泳与质谱分析技术相结合,从蛋白质组学的角度研究不同抗性大豆杂交后代对大豆胞囊线虫 3 号生理小种侵染的应答反应,进而筛选出与抗性相关的差异蛋白质,为挖掘新的抗性相关基因、揭示全息化的抗病机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试大豆

选用抗病品种灰皮支黑豆(ZDD2315)为父本,感病品种辽豆 15 号为母本,配制杂交组合,冬季在海南加代繁殖,以 F₄ 为试验材料。

1.2 供试线虫

大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines* Ichinohe) 采自沈阳农业大学感染大豆胞囊线虫 3 号生理小种的大豆试验地,采用改良的淘洗-过筛法从采取的土样中分离胞囊,在体视解剖镜下挑取新鲜饱满成熟的褐色胞囊。胞囊先用 0.5% NaClO 溶液消毒 3 min,再用无菌水冲洗 3 次,干燥后 4℃ 保存备用。

1.3 抗性鉴定

大豆种子催芽后播种于装有灭菌壤土、砂土混合土的陶盆中,在豆苗三叶期接种,每株大约 2 000 粒卵,于温室 24~30℃ 下生长,经 35 d 后扣盆,调查根系上的胞囊数量,进行抗性鉴定,利用分离群体分组分析法(BSA)将杂交后代分为抗池和感池。大豆胞囊线虫的抗性指标根据每株根上胞囊数划分为 0~4,共 5 个级别:0 = 无胞囊(免疫);1 = 1~5(抗病);2 = 6~10(中抗);3 = 11~30(感病);4 = 30 个以上(高感)。

1.4 蛋白质提取

采用三氯乙酸-丙酮法提取大豆根系总蛋白质。具体步骤如下:取适量大豆根系样品,放入预冷的研钵中,加入 10% 的 PVP,在液氮低温环境下研磨至浅色粉末;将粉末放入 50 mL 离心管中,加入粉末体积 10 倍的 10% TCA-丙酮,再加入 DTT 至终浓度为 30 mmol/L,混匀后 -20℃ 沉淀至少 2 h,20 000 r/min 离心 15 min,去上清;向沉淀加入其 4 倍体积的冷丙酮和终浓度为 30 mmol/L 的 DTT,混匀后 -20℃ 沉淀 30 min,20 000 r/min 离心 15 min,去上清,重复此步骤 1 次;再向沉淀加入其 4 倍体积的 80% 冷丙酮和终浓度为 30 mmol/L 的 DTT,混匀后

-20℃ 沉淀 30 min,20 000 r/min 离心 15 min,去上清;沉淀用冷冻抽干机抽干残余丙酮,制备成蛋白干粉,于 -70℃ 冰箱保存备用。

1.5 蛋白质样品裂解

取适量得到的干燥沉淀加入蛋白裂解液(7 mol/L 尿素、2 mol/L 硫脲、4% NP-40、20 mmol/L Tris-HCl),再加入终浓度分别为 1 mmol/L 的 PMSF、2 mmol/L 的 EDTA,混匀 5 min 后再加入终浓度为 10 mmol/L 的 DTT,冰浴超声 10 min,35 000 r/min 超速离心 30 min,取上清,加入 0.5% 核酸酶冰上酶解 30 min,即为所要的蛋白液。

1.6 一向电泳

胶条型号为 24 cm 长,pH 值为 4~7,胶条蛋白上样量为 150 μg。等电聚焦在 Protean IEF cell(Bio-Rad)中进行,聚焦程序如下:无电压水化 8 h;50 V,4 h,快速;500 V,1 h,快速;1 000 V,1 h,快速;10 000 V,1 h,线性;10 000 V,90 000 Vh,快速;500 V 保护电压若干小时。

1.7 二向电泳与染色

将等电聚焦好的 IPG 胶条进行平衡,先用含有 1% DTT 的平衡缓冲液 I 摇荡浸泡 15 min,然后用清水冲洗,再用含有 2.5% IAM 的平衡缓冲液 II 摇荡浸泡 15 min。

SDS-PAGE 电泳:分离胶浓度为 12%,电泳条件为 10 mA/gel 1 h,20 mA/gel 10~12 h。

参照已报道的凝胶银染方法,采用改进的银染方法对双向电泳凝胶进行染色。具体方法如下:将凝胶在含 10% 乙酸和 40% 乙醇的溶液中固定 30 min;在 0.2% 硫代硫酸钠溶液中致敏 30 min;用去离子水冲洗 3 次,每次 10 min;在 0.25% AgNO₃ 溶液中染色 20 min;用去离子水冲洗 2 次,每次 1 min;在含 2.5% Na₂CO₃ 和 0.02% 甲醛溶液中显影;在 1.46% EDTA 溶液中定影 10 min;然后将凝胶在 1% 乙酸中于 4℃ 保存。

1.8 图像采集与分析

图像采集采用 UMAX PowerLook 2100XL 扫描仪,图像分析采用 Amersham 公司的二维分析软件 ImageMaster 2D Platinum software(Version 5.0, Institute of Bioinformatics, Swiss)。与参考胶比较,特异表达、表达量上调或者下调 2 倍以上被认为是差异表达的蛋白质点。

1.9 MALDI-TOF-MS 分析

利用德国 Bruker 公司的 Ultraflex TOF 质谱仪对差异表达的蛋白质点进行基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)分析。将所得到的肽

片段质量数据通过 MASCOT 搜索引擎检索,检索数据库为 NCBI nr(美国国家生物技术信息中心)。

2 结果与分析

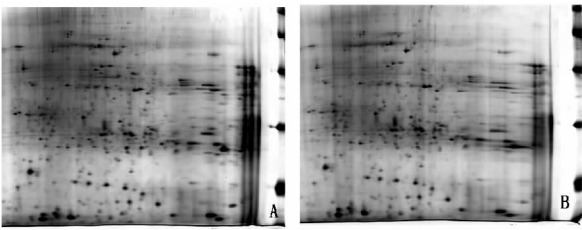
2.1 抗、感池大豆根系双向电泳图谱的比较

采用三氯乙酸/丙酮法提取大豆根系蛋白质后,经等电聚焦(IEF: 24 cm、pH 值 4~7 IPG 胶条)和 12% SDS-PAGE 分离,银染后得到抗池、感池大豆根系的双向电泳图谱(图 1),排除大豆胞囊线虫 3 号生理小种的背景干扰,抗池共有 367 个蛋白点在 2-D 胶上分离,感池共有 372 个蛋白点在 2-D 胶上分离。经 ImageMaster 2D Platinum software 对 2-D 胶分析后,以感池为参考胶,抗池有 6 个蛋白点特异表达,13 个蛋白点的表达量上调 2 倍以上,4 个蛋白点的表达量下调 2 倍以上,感池有 4 个蛋白点特异表达。

2.2 抗、感池差异蛋白点的质谱鉴定

在 3 次重复胶的同一位置都出现的蛋白点被认为

为是同一个蛋白点,通过比较分析抗、感池之间的 2-DE 凝胶图谱,从银染的凝胶上分别切取每个差异表达的蛋白点,凝胶胶内原位酶解消化后,进行 MALDI-TOF-MS 分析,对抗、感池差异表达的 27 个蛋白点进行鉴定。其中 16 个蛋白点的 PMF 数据通过 Swiss-Prot 和 NCBI 数据库搜索,有与其匹配后呈显著相关性的蛋白质(得分值>71),鉴定结果见表 1,其余 11 个蛋白点因匹配率太低而未得到鉴定(得分值≤71)。



A. 抗池; B. 感池。
A. Resistant samples; B. Sensitive samples.

图 1 抗、感池大豆根系的双向电泳图谱

Fig. 1 2-DE map of resistant and sensitive samples

表 1 抗、感池差异蛋白点的质谱鉴定结果

Tab. 1 Identification of differentially expressed proteins in soybean by MALDI-TOF

蛋白点 Spot number	蛋白质名称 Protein name	登录号 Accession number	得分 Score	等电点 pI	分子量/kDa MW	物种 Species
7	Hypothetical protein SORBIDRAFT_04g012541	gi242064906	79	5.27	69.535	<i>Sorghum bicolor</i>
14	Unknown	gi255642211	85	6.07	32.549	<i>Glycine max</i>
53	Unknown	gi255627117	78	4.11	16.964	<i>Glycine max</i>
71	Unknown	gi255626437	122	6.06	19.846	<i>Glycine max</i>
116	Hypothetical protein SORBIDRAFT_04g012541	gi242064906	77	6.10	26.766	<i>Sorghum bicolor</i>
117	Trypsin inhibitor p20	gi5381209	127	5.78	26.807	<i>Glycine max</i>
118	Xylem serine proteinase 1 precursor putative	gi255562528	84	5.58	26.807	<i>Ricinus communis</i>
173	Triosephosphate isomerase	gi77540216	200	6.72	30.928	<i>Glycine max</i>
187	Triosephosphate isomerase	gi77540216	130	6.06	32.525	<i>Glycine max</i>
195	Predicted protein	gi168053979	72	5.38	33.196	<i>Physcomitrella patens</i>
204	Caffeoyl coenzyme A 3-O-methyltransferase 2	gi91771911	82	4.73	33.658	<i>Leucaena leucocephala</i>
224	ATPase alpha subunit	gi114216086	88	5.56	34.892	<i>Scapania nemorea</i>
243	Homeobox-like protein	gi54306618	87	5.16	37.476	<i>Fragaria ananassa</i>
284	Unknown	gi255646893	150	5.66	40.470	<i>Glycine max</i>
296	putative RNA polymerase III	gi29788820	96	5.58	41.329	<i>Oryza sativa Japonica</i>
340	ATP synthase beta chain	gi226493589	114	5.34	57.681	<i>Zea mays</i>

蛋白点 117 被初步鉴定为胰蛋白酶抑制剂(Trypsin inhibitor p20)。蛋白酶抑制剂是一类能够抑制蛋白水解酶活性的物质,根据抑制的蛋白酶类型,可将其分为丝氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸和金属蛋白酶抑制剂。植物蛋白酶抑制剂能抑制蛋白酶活性,在调控蛋白酶参与的生理生化活动中起着重要的作用,而蛋白酶参与了昆虫的食物消化、病原菌的侵染与扩展等过程。因此,植物蛋白酶抑制剂在植物抗虫、抗病过程中起着重要作用。大豆胰蛋白酶

抑制剂(Trypsin inhibitor)主要由 Kunitz 胰蛋白酶抑制剂(KTI)和 Bowman-Birk 胰蛋白酶抑制剂(BBI)组成,均属于丝氨酸蛋白酶抑制剂类型。其中,大豆 Kunitz 胰蛋白酶抑制剂是优势种,在种子形成过程中进行优势表达,叶、根、茎中有少量存在。

蛋白点 118 被初步鉴定为木质部丝氨酸蛋白酶(Xylem serine proteinase 1 precursor putative)。丝氨酸蛋白酶是一类以丝氨酸为活性中心的重要蛋白水解酶,在生物有机体中起着重要而广泛的生理作用,

它们通过对蛋白酶原的激活或抑制而起调节因子作用。丝氨酸蛋白酶在胚胎发育、组织重建、细胞分化、血管形成和病原侵入等过程中都发挥着重要的作用。

蛋白点 173、187 被初步鉴定为丙糖磷酸异构酶 (Triosephosphate isomerase, TPI), 它是糖酵解过程中催化磷酸二羟丙酮与 3-磷酸甘油醛之间可逆反应的一种异构酶, 其催化功能高度保守。虽然 TPI 是高活性的酶, 但只在少数组织中少量表达。在高等植物中, TPI 有 2 种存在方式, 一种在细胞质中参与糖酵解, 另一种则是在叶绿体中参与卡尔文循环 (Calvin cycle)。TPI 在卡尔文循环中也占有重要地位。TPI 广泛存在于动植物、藻类和微生物细胞中。目前, 已从人、鼠、牛、菠菜、生菜、番茄、血吸虫、果蝇、蚊子、黄粉虫、大肠杆菌等多种生物体中克隆了 TPI 基因, 并成功实施了体外表达。

蛋白点 204 被初步鉴定为咖啡酰辅酶 A 甲基转移酶 (Caffeoyl coenzyme A 3-O-methyltransferase 2, CCoAOMT), 它是一类 S-腺苷-L-甲硫氨酸 (SAM) 甲基转移酶, 以咖啡酰辅酶 A 为底物, 将 S-腺苷甲硫氨酸上的甲基基团转移到木质素单体的苯环碳 3 位置上, 形成阿魏酰辅酶 A, 是木质素生物合成途径中一类重要的甲基转移酶。CCoAOMT 基因参与愈创木基 (G) 和紫丁香基 (S) 木质素的生物合成, 抑制 CCoAOMT 表达会使植物中木质素含量普遍降低, 且伴随组分的改变, G 和 S 木质素同时降低, 且 G 木质素下降幅度大于 S 木质素, 导致 S/G 比值增加^[11]。植物在遇到病虫害危害时, 与木质素合成有关的酶活性都呈上升趋势, 不同抗性品种之间酶的活性存在差异, 而且木质素的组成与正常条件下木质素的组成也有所不同。

蛋白点 224 被初步鉴定为 ATP 酶 α 亚基 (ATPase alpha subunit), ATPase 是一种跨膜蛋白, 为维持细胞内外各种离子的正常浓度起着重要的作用。ATP 酶活性的提高, 增强细胞对植物激素的敏感性。ATP 酶能分解 ATP 成为 ADP 和无机磷酸, 同时释放出自由能。它在能量代谢、物质的吸收和运输等生理功能上具有重大意义。

蛋白点 243 被初步鉴定为同源框类似蛋白 (Homeobox-like protein)。科学家们发现决定果蝇节段和节段数量的 *Antennapedia* (Antp) 基因和 *Fushitarazu* (ftz) 基因中含有一段 180 bp 的高度保守序列, 称之为同源框 (Homeobox), 将含有同源框序列的基因称为同源框基因 (Homeobox gene), 它编码的蛋白质作为转录调节因子调节细胞的发育和分

化, 控制基因的表达形式。

蛋白点 296 被初步鉴定为 RNA 聚合酶 III (Putative RNA polymerase III)。真核生物转录由 3 种 RNA 聚合酶来完成, 分别为 RNA 聚合酶 I、II 和 III, 它们专一性转录不同基因, RNA 聚合酶 I 转录产物为各种 rRNA, RNA 聚合酶 II 转录产物为 mRNA 前体, 而 RNA 聚合酶 III 则转录各种小分子量 RNA, 如 tRNA、5S rRNA、U6 RNA 和 7S LRNA 等。RNA 聚合酶 III 转录产物数量巨大, 在 RNA 转录后加工、蛋白质翻译和蛋白质运输过程中都发挥着重要作用, 与细胞生长和分裂密切相关。RNA 聚合酶 III 是最大的一种 RNA 聚合酶, 由 17 个亚基构成, 它的活性受到严格的调节以维持细胞生长的需要^[12]。

蛋白点 340 被初步鉴定为 ATP 合酶 β 亚基 (ATP synthase beta chain)。ATP 合酶是生物体内能量代谢的关键酶, 参与氧化磷酸化和光合磷酸化反应, 广泛存在于叶绿体、线粒体和细菌中。在线粒体中通过呼吸作用产生了一种高能小分子腺苷三磷酸 (ATP), 它是能量的载体分子, ATP 合酶是催化合成 ATP 的关键酶, 而位于 ATP 合酶上的 β 亚基是催化中心。

在这些被鉴定的蛋白点中, 有 7 个属于未知蛋白或预测蛋白, 蛋白点 14、53、71、284 为 unknown, 蛋白点 195 为 predicted protein, 蛋白点 7、116 为 hypothetical protein SORBIDRAFT_04g012541, 有关它们的性质和功能尚不清楚, 有待于进一步认识。

3 讨论

随着后基因组时代的到来, 蛋白质组学研究已经广泛应用于植物病理学的研究。病原物侵入寄主后, 植物与病原物的互作过程是一个动态的过程, 植物抵御病害的一系列防御反应是许多蛋白质相互作用共同完成的^[13]。蛋白质是生命现象的直接体现者, 对蛋白质结构和功能进行研究, 同时结合基因组学的研究将直接阐明生命在生理和病理条件下的变化机制^[14]。国内外已有研究证实蛋白质组学技术是筛选植物抗性相关蛋白和基因的重要手段^[15], 对揭示植物抗病性的全息机制具有明显的优势。

王雪^[16]以高抗大豆胞囊线虫品种哈尔滨小黑豆为父本, 感病品种辽豆 10 为母本, 配制杂交组合, 通过对杂交后代抗池、感池的双向电泳分析和质谱鉴定, 共有 6 种蛋白得到鉴定, 它们分别与能量代谢、光合作用、防卫反应、基因调控及信号传导等途径有密切关系。黄秀丽等^[17]研究不同抗性玉米自交系对玉米弯孢菌侵染应答反应差异蛋白分析时发现,

玉米萌发素类似蛋白 GLP 和翻译起始因子 eIF-5A 与玉米对玉米弯孢菌叶斑病的抗性关系密切。范海延等^[18]通过对黄瓜抗病品系 R17 和黄瓜感病品系 S17 应答白粉病胁迫的蛋白质组学研究表明, 黄瓜应答白粉病胁迫的蛋白质主要有与信号转导和物质运输相关的蛋白质、与抗逆性相关的蛋白质、与光合作用和呼吸作用代谢有关的蛋白质、与核染色体转录翻译相关的蛋白质和未知功能蛋白等。

本研究以抗病品种灰皮支黑豆和感病品种辽豆 15 的 F₄ 为材料, 利用双向电泳技术在抗、感池中各检测到近 400 个蛋白点, 筛选到 27 个差异表达的蛋白点。通过质谱鉴定, 结合数据库搜索比对, 共有 16 个蛋白点得到鉴定。但目前还不能确定这些差异蛋白在寄主抗性机制中的直接功能, 还需要进一步通过基因功能分析才能最后确定这些蛋白及其编码基因在大豆抗大豆胞囊线虫侵染过程中的作用。随着大豆基因组或蛋白质组数据库的日益完善, 将会有更多的与抗性相关的蛋白或基因被挖掘, 更能全面的揭示大豆抗胞囊线虫的本质。

参考文献:

- [1] 吴海燕, 远方, 陈立杰, 等. 大豆胞囊线虫病与大豆抗胞囊线虫机制的研究 [J]. 大豆科学, 2001, 20(4): 285 - 289.
- [2] 段玉玺, 陈立杰, 远方, 等. 大豆抗大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性机制研究 [J]. 莱阳农学院学报, 2004, 21(2): 118 - 121.
- [3] Campo S, Carrascal M, Coca M, et al. The defense response of germinating maize embryos against fungal infection: A proteomics approach [J]. Proteomics, 2004, 4(2): 383 - 396.
- [4] Chen Z Y, Brown R L, Damann K E, et al. Identification of unique or elevated levels of kernel proteins in aflatoxin-resistant maize genotypes through proteome analysis [J]. Phytopathology, 2002, 92(10): 1084 - 1094.
- [5] Chen Z Y, Robert L B, Cleveland T E. Evidence for an association in corn between stress to tolerance and resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination [J]. African Journal of Biotechnology, 2004, 3(12): 693 - 699.
- [6] Chivasa S, Simon W J, Yu X L, et al. Pathogen elicitor-induced changes in the maize extracellular matrix proteome [J]. Proteomics, 2005, 5(18): 4894 - 4904.
- [7] Hirotsato K, Kiyoshi I, Setsuko K. A proteomics approach towards understanding blast fungus infection of rice grown under different levels of nitrogen fertilization [J]. Proteomics, 2001, 1(9): 1162 - 1171.
- [8] Mahmood T, Jan A, Kakishima M, et al. Proteomic analysis of bacterial-blight defense-responsive proteins in rice leaf blades [J]. Proteomics, 2006, 6(22): 6053 - 6065.
- [9] Wang Y, Yang L, Xu H, et al. Differential proteomic analysis of proteins in wheat spikes induced by *Fusarium graminearum* [J]. Proteomics, 2005, 5(17): 4496 - 4503.
- [10] Zhou W, Eudes F, Laroche A. Identification of differentially regulated proteins in response to a compatible interaction between the pathogen *Fusarium graminearum* and its host, *Triticum aestivum* [J]. Proteomics, 2006, 6(16): 4599 - 4609.
- [11] 倪志勇, 吕萌, 范玲. 棉花咖啡酰辅酶 A-O-甲基转移酶基因的克隆及特征分析 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(6): 1083 - 1091.
- [12] 郭晓强, 周强. 一种 RNA 聚合酶 III 的负调节因子 [J]. 生命的化学, 2008, 28(1): 553 - 555.
- [13] Kim S T, Yu S, Kim S G, et al. Proteome analysis of rice blast fungus (*Magnaporthe grisea*) proteome during appressorium formation [J]. Proteomics, 2004, 4(11): 3579 - 3587.
- [14] 范海延, 陈捷, 邵美妮, 等. 白粉病菌胁迫下黄瓜 R17 抗病品系叶片蛋白质组分析 [J]. 园艺学报, 2009, 36(6): 829 - 834.
- [15] 陈捷, 徐书法, 黄秀丽, 等. 玉米几种重要病害蛋白质组学研究进展 [J]. 植物病理学报, 2007, 37(5): 449 - 455.
- [16] 王雪. 大豆抗胞囊线虫机制及与抗性相关的差异蛋白质组学研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2009.
- [17] 黄秀丽, 刘力行, 翟羽红, 等. 不同抗性玉米自交系对玉米弯孢菌侵染应答反应差异蛋白分析 [J]. 自然科学进展, 2008, 18(10): 1169 - 1174.
- [18] 范海延, 陈捷, 曲波, 等. 应答白粉病菌胁迫的黄瓜 S17 叶片功能蛋白质组学初步分析 [J]. 植物病理学报, 2009, 39(6): 650 - 652.