

学校编码：10384

分类号_____密级_____

学号：21620110153936

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

外源钙调控四种木本植物生长发育和酸
雨抗性机制的差异蛋白质组学研究

Comparative Proteomic Analysis on Differential
Responses of Growth, Development and Tolerance of Woody
Plants to Simulated Acid Rain under Various Calcium
Levels

胡文君

指导教师姓名：郑海雷教授

专业名称：植物学

论文提交日期：2014年4月25日

论文答辩时间：2014年5月22日

学位授予日期：2014年月日

答辩委员会主席：_____

评 阅 人：_____

2014年5月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(环境植物学与植物分子生物学)课题(组)的研究成果,获得(国家自然科学基金(30930076, 30770192, 30670317, 30271065, 39970438)、教育部博士点基金(20070384033)、留学回国人员科研启动基金(2008-890)、厦门大学新世纪优秀人才支持计划(X07115)、长江学者启动基金和教育部博士研究生学术新人奖基金)课题(组)经费或实验室的资助,在(郑海雷 教授)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

缩略词	I
摘要.....	I
Abstract.....	III
第 1 章 绪 论	1
1.1 森林生态系统中的钙 (Ca) 平衡动态.....	1
1.2 Ca 在植物体内的分布及功能.....	2
1.2.1 Ca 在植物体内的分布概况	2
1.2.2 植物体内 Ca 的存在形态	2
1.2.3 Ca 在植物体中的生物学功能	4
1.3 酸雨概况.....	10
1.3.1 酸雨的危害现状.....	10
1.3.2 酸雨对森林生态系统的影响.....	11
1.3.3 酸雨对植物个体水平的影响.....	12
1.4 酸雨对 Ca 平衡的影响.....	12
1.4.1 酸雨造成森林生态系统土壤中 Ca 的流失	12
1.4.2 酸雨引起 Ca 流失导致森林衰退	13
1.4.3 酸雨引起 Ca 平衡失调对植物生理的影响	14
1.4.4 外源补 Ca 对酸雨胁迫的缓解作用	15
1.5 蛋白质组学研究进展.....	15
1.5.1 蛋白质组学的概念和发展现状.....	15
1.5.2 蛋白质组学在植物生长发育和抗逆研究中的应用.....	18
1.6 立题依据及研究意义.....	19
第 2 章 不同外源 Ca 培养条件下木本植物的蛋白组学研究.....	21
2.1 前言	21
2.2 材料与方法.....	22
2.2.1 木本植物材料培养与处理.....	22

2.2.2 主要仪器设备与试剂.....	23
2.2.3 木本植物生理指标的测定.....	24
2.2.4 蛋白提取、双向电泳及质谱分析.....	24
2.2.5 数据处理和统计分析.....	28
2.3 结果与分析.....	28
2.3.1 马尾松在不同 Ca 处理下的结果与分析.....	28
2.3.2 南方红豆杉在不同 Ca 处理下的结果与分析.....	38
2.3.3 枫香在不同 Ca 处理下的结果与分析.....	45
2.3.4 木荷在不同 Ca 处理下的结果与分析.....	54
2.4 讨论.....	62
2.4.1 物质代谢相关蛋白在不同 Ca 条件下的表达差异.....	62
2.4.2 光合作用和能量相关蛋白在不同 Ca 条件下的表达差异.....	63
2.4.3 转录翻译和信号转导相关蛋白在不同 Ca 条件下的表达差异.....	65
2.4.4 结构防御和激素响应相关蛋白在不同 Ca 条件下的表达差异.....	66
2.5 小结.....	67
第 3 章 木本植物响应酸雨的蛋白组学研究.....	69
3.1 前言.....	69
3.2 材料与方法.....	70
3.2.1 木本植物材料培养与处理.....	70
3.2.2 主要仪器设备与试剂.....	70
3.2.3 木本植物生理指标的测定.....	70
3.2.4 蛋白提取、双向电泳及质谱分析.....	70
3.2.5 生理数据处理和统计分析.....	70
3.3 酸雨胁迫下马尾松和南方红豆杉的结果与分析.....	71
3.3.1 模拟酸雨对马尾松和南方红豆杉相关生理指标的影响.....	71
3.3.2 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉蛋白差异表达.....	71
3.3.3 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉差异蛋白的功能分类.....	73
3.3.4 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉上调和下调表达的蛋白数目.....	74
3.3.5 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉差异蛋白的亚细胞定位.....	74

3.4 讨论	84
3.4.1 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与代谢相关蛋白的不同变化.....	84
3.4.2 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与细胞结构相关蛋白的不同变化....	85
3.4.3 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与蛋白质合成和修饰相关蛋白的不同变化.....	86
3.4.4 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与光合和能量产生相关蛋白的不同变化.....	86
3.4.5 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与胁迫和防御相关蛋白的不同变化	88
3.4.6 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与激素响应相关蛋白的不同变化....	88
3.4.7 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与信号转导相关蛋白的不同变化....	89
3.4.8 酸雨处理下马尾松和南方红豆杉与转录相关蛋白的不同变化.....	90
3.5 小结	91
3.6 酸雨胁迫下枫香和木荷的结果与分析	92
3.6.1 模拟酸雨对枫香和木荷相关生理指标的影响.....	92
3.6.2 酸雨处理下枫香和木荷蛋白差异表达.....	93
3.6.3 酸雨胁迫下枫香和木荷差异蛋白的功能分类和亚细胞定位.....	95
3.6.4 酸雨胁迫下枫香和木荷差异蛋白上调和下调表达的数目.....	97
3.6.5 酸雨胁迫下枫香和木荷差异蛋白的变化趋势.....	97
3.7 讨论	107
3.7.1 酸雨处理下枫香和木荷与物质代谢相关蛋白的不同变化.....	107
3.7.2 酸雨处理下枫香和木荷与光合和能量产生相关蛋白的不同变化.....	108
3.7.3 酸雨处理下枫香和木荷与胁迫和防御相关蛋白的不同变化.....	109
3.7.4 酸雨处理下枫香和木荷与信号转导相关蛋白的不同变化.....	110
3.7.5 酸雨处理下枫香和木荷与转录和翻译过程相关蛋白的不同变化.....	110
3.7.6 酸雨处理下枫香和木荷与激素响应相关蛋白的不同变化.....	111
3.8 小结	112
第 4 章 不同 Ca 条件下木本植物响应酸雨的蛋白组学研究	114
4.1 前言	114
4.2 材料及方法	114

4.2.1 木本植物材料培养与处理.....	114
4.2.2 主要仪器设备与试剂.....	115
4.2.3 木本植物生理指标的测定.....	115
4.2.4 蛋白提取、双向电泳及质谱分析.....	115
4.2.5 生理数据处理和统计分析.....	115
4.3 结果与分析.....	115
4.3.1 马尾松在不同 Ca 处理下响应酸雨的结果和分析.....	115
4.3.2 南方红豆杉在不同 Ca 处理下响应酸雨的结果和分析.....	129
4.3.3 枫香在不同 Ca 处理下响应酸雨的结果和分析.....	136
4.3.4 木荷在不同 Ca 处理下响应酸雨的结果和分析.....	146
4.4 讨论.....	153
4.4.1 物质代谢和能量途径相关蛋白在不同 Ca 浓度条件下响应酸雨的差异.....	153
4.4.2 光合作用相关蛋白在不同 Ca 浓度条件下响应酸雨的表达差异.....	155
4.4.3 细胞修复和防御相关蛋白在不同 Ca 条件下响应酸雨的表达差异.....	156
4.4.4 转录和翻译相关蛋白在不同 Ca 条件下响应酸雨的表达差异.....	159
4.4.5 信号转导和细胞离子平衡相关蛋白在不同 Ca 条件下响应酸雨的表达差异.....	160
4.5 小结.....	162
第 5 章 总结与展望.....	164
5.1 结论.....	164
5.2 展望.....	165
参考文献.....	168
研究生期间发表的论文及获奖.....	188
致 谢.....	191

Content

Abbreviations	I
Chinese abstract.....	I
English abstract.....	III
Chapter 1. Introduction.....	1
1.1 Calcium dynamics in forest ecosystem.....	1
1.2 Calcium distribution in plants and its functions.....	2
1.2.1 Calcium distribution in plants.....	2
1.2.2 Calcium existing form in plants.....	2
1.2.3 Calcium functions in plants	4
1.3 Overview of acid rain.....	10
1.3.1 Present situation of acid rain pollution	10
1.3.2 Influences of acid rain on forest ecosystem.....	11
1.3.3 Influences of acid rain on individual plant	12
1.4 Acid rain affects the changes of calcium dynamic balance	12
1.4.1 Acid rain causes calcium depletion in forest ecosystem.....	12
1.4.2 Calcium depletion caused by acid rain result in forest decline.....	13
1.4.3 Effects of calcium imbalance caused by acid rain on plant physiology	14
1.4.4 Exogenous calcium alleviate acid rain stress.....	15
1.5 Proteomics.....	15
1.5.1 Concept and development status of proteomics.....	15
1.5.2 Proteomics research on plant growth and development and stress resistance	18
1.6 Basis and significance of this research	19
Chapter 2 Proteomic study on woody plants under different calcium levels	21
2.1 Introduction	21
2.2 Materials and methods	22
2.2.1 Material culture and treatments	22
2.2.2 Main instruments, equipments and reagents.....	23

2.2.3 Determination of the physiological indexes of woody plants.....	24
2.2.4 Protein extraction, two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry analysis.....	24
2.2.5 Data processing and statistical analysis	28
2.3 Results and analysis	28
2.3.1 Results and analysis of <i>P. massoniana</i> under different calcium treatments	28
2.3.2 Results and analysis of <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under different calcium treatments.....	38
2.3.3 Results and analysis of <i>L. formosana</i> under different calcium treatments .	45
2.3.4 Results and analysis of <i>S. superba</i> under different calcium treatments.....	54
2.4 Discussion.....	62
2.4.1 Changes in material metabolism related proteins under different calcium treatments.....	62
2.4.2 Changes in photosynthesis and energy related proteins under different calcium treatments	63
2.4.3 Changes in transcription, translation and signal transduction related proteins under different calcium treatments.....	65
2.4.4 Changes in cell defense and hormone response related proteins under different calcium treatments.....	66
2.5 Brief summary.....	67
Chapter 3 Comparative proteomic analysis on differential responses of woody plants to simulated acid rain	69
3.1 Introduction	69
3.2 Materials and methods	70
3.2.1 Material culture and treatments	70
3.2.2 Main instruments, equipments and reagents.....	70
3.2.3 Determination of the physiological indexes of woody plants.....	70
3.2.4 Protein extraction, two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry analysis.....	70
3.2.5 Data processing and statistical analysis	70
3.3 Results and analysis in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress.....	71
3.3.1 Physiological changes of <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i>	

under acid rain stress.....	71
3.3.2 Differentially expressed proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	71
3.3.3 Functional category distribution of the identified proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	73
3.3.4 Number of protein spots up-regulated and down-regulated in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	74
3.3.5 Subcellular location model of acid rain stress response in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i>	74
3.4 Discussion.....	84
3.4.1 Different changes in metabolism related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress.....	84
3.4.2 Different changes in cell structure related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress.....	85
3.4.3 Different changes in protein synthesis and modification related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	86
3.4.4 Different changes in photosynthesis and energy production related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress.....	86
3.4.5 Different changes in stress and defense related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	88
3.4.6 Different changes in hormone response related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	88
3.4.7 Different changes in signal transduction related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress	89
3.4.8 Different changes in transcription related proteins in <i>P. massoniana</i> and <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> under acid rain stress.....	90
3.5 Brief summary	91
3.6 Results and analysis in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	92
3.6.1 Physiological changes of <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress.....	92
3.6.2 Differentially expressed proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	93
3.6.3 Functional category distribution and subcellular location of the identified	

proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress.....	95
3.6.4 Number of protein spots up-regulated and down-regulated in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	97
3.6.5 Comparison of the number of protein spots involved in various biological processes in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	97
3.7 Discussion.....	107
3.7.1 Different changes in material metabolism related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	107
3.7.2 Different changes in photosynthesis and energy production related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress.....	108
3.7.3 Different changes in stress and defense related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress.....	109
3.7.4 Different changes in signal transduction related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	110
3.7.5 Different changes in transcription and translation related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	110
3.7.6 Different changes in hormone response related proteins in <i>L. formosana</i> and <i>S. superba</i> under acid rain stress	111
3.8 Brief summary	112
Chapter 4 Proteomic study in woody plants in response to acid rain under different calcium levels.....	114
4.1 Introduction	114
4.2 Materials and methods	114
4.2.1 Material culture and treatments	114
4.2.2 Main instruments, equipments and reagents.....	115
4.2.3 Determination of the physiological indexes of woody plants.....	115
4.2.4 Protein extraction, two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry analysis.....	115
4.2.5 Data processing and statistical analysis	115
4.3 Results and analysis	115
4.3.1 Results and analysis of <i>P. massoniana</i> response to acid rain under different calcium treatments	115
4.3.2 Results and analysis of <i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i> response to acid rain	

under different calcium treatments	129
4.3.3 Results and analysis of <i>L. formosana</i> response to acid rain under different calcium treatments	136
4.3.4 Results and analysis of <i>S. superba</i> response to acid rain under different calcium treatments	146
4.4 Discussion.....	153
4.4.1 Changes in material metabolism and energy-related proteins under different calcium and acid rain treatments.....	153
4.4.2 Changes in photosynthesis related proteins under different calcium and acid rain treatments.....	155
4.4.3 Changes in cell rescue and defense related proteins under different calcium and acid rain treatments	156
4.4.4 Changes in transcription and translation related proteins under different calcium and acid rain treatments.....	159
4.4.5 Changes in signal transduction and cellular ion homeostasis related proteins under different calcium and acid rain treatments.....	160
4.5 Brief summary	162
Chapter 5 Conclusion and prospects	164
5.1 Conclusion.....	164
5.2 Prospects	165
Reference	168
Publications and awards	188
Acknowledgements	191

缩略词

2-DE	2-D gel electrophoresis	凝胶双向电泳
ABA	abscisic acid	脱落酸
AR	acid rain	酸雨
APX	ascorbate peroxidase	抗坏血酸过氧化物酶
Ca	calcium	钙
CBB	coomassie brilliant blue	考马斯亮蓝
CHS	chalcone synthase	查尔酮合酶
CaM	calmodulin	钙调素
CS	cysteine synthase	半胱氨酸合成酶
CAO	chlorophyllide a oxygenase	叶绿素a氧化酶
CDPK	calcium dependent protein kinase	钙依赖性蛋白激酶
DHAR	dehydroascorbate reductase	脱氢抗坏血酸还原酶
DTT	dithiothreitol	二硫苏糖醇
FW	fresh weight	鲜重
GA	gibberellin	赤霉素
GS	glutamine synthetase	谷氨酰胺合成酶
GA	gibberellin	赤霉素
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
GDH	glutamate dehydrogenase	谷氨酸脱氢酶
GR	glutathione reductase	谷胱甘肽还原酶
GSK	glycogen synthase kinase	糖原合成酶激酶
GSH	glutathione	谷胱甘肽

GBSS	granule-bound starch synthase	颗粒结合型淀粉合成酶
GST	gultathione S transferases	谷胱甘肽S-转移酶
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
H ₂ O ₂	hydrogen peroxide	过氧化氢
HSP	heat shock protein	热激蛋白
ICS	isochorismate synthase	异分支酸合酶
MDA	malondialdehyde	丙二醛
MW	molecular weight	分子量
NO	nitric oxide	一氧化氮
PMF	peptide mass fingerprinting	肽指纹图谱
PMSF	phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
Pn	net photosynthetic rate	净光合速率
POD	peroxidase	过氧化物酶
PSI	photosystem I	光系统I
PSII	photosystem II	光系统II
PI	isoelectric point	等电点
ROS	reactive oxygen species	活性氧
RuBisCO	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase	核酮糖二磷酸羧化酶加氧酶
SOD	superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
TPx	thioredoxin peroxidase	硫氧还蛋白过氧化物酶
TCA cycle	tricarboxylic acid cycle	三羧酸循环
ZFP	zinc finger protein	锌指蛋白

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

廈門大學博碩士論文摘要庫