

陈 健, 陈 义, 杨立飞, 等. 不结球白菜体内硒累积量与生理损伤指标的相关性[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 424-429.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.02.028

不结球白菜体内硒累积量与生理损伤指标的相关性

陈 健¹, 陈 义², 杨立飞², 徐为民³

(1.江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095; 3.江苏省农业科学院中心实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了研究累积到作物体内的过量硒抑制作物生长的机理, 以不结球白菜 (*Brassica rapa*) 为材料, 分析了亚硒酸钠 (Na_2SeO_3) 处理不结球白菜根后, 不结球白菜地上部可食部分硒累积量与生理损伤指标变化的相关性。结果显示: 随着处理液中硒浓度的升高, 不结球白菜地上部和地下部的硒累积量显著上升, 且两部分几乎累积等量的硒; 硒处理抑制不结球白菜生长, 地上部硒累积量与鲜质量显著负相关; 硒处理刺激不结球白菜地上部丙二醛的产生, 地上部硒累积量与丙二醛含量显著正相关, 而硒处理下丙二醛含量与鲜质量显著负相关; 低浓度硒处理不影响不结球白菜叶绿素含量, 但高浓度硒处理显著降低不结球白菜叶绿素含量, 地上部硒累积量与叶绿素含量显著负相关, 然而硒处理下叶绿素含量与鲜质量无显著相关性。表明, 高浓度硒处理能够导致硒在不结球白菜体内大量累积, 进而抑制不结球白菜生长。其中的主要原因可能是硒累积到不结球白菜体内导致的氧化损伤, 而非叶绿素含量下降。

关键词: 不结球白菜; 硒累积; 氧化损伤; 叶绿素含量; 丙二醛含量

中图分类号: S636.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)02-0424-06

Correlation between selenium accumulation and physiological injury in *Brassica rapa*

CHEN Jian¹, CHEN Yi², YANG Li-fei², XU Wei-min³

(1. Institute of Food Quality Safety and Detection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 20014, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Central Laboratory, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 20014, China)

Abstract: To study the mechanism of growth inhibition induced by selenium (Se) accumulation in plants, the correlation between the Se concentration and physiological injury in the edible parts (shoots) of *Brassica rapa* with root treatment of Na_2SeO_3 were analyzed. The Se accumulations in both shoots and roots increased significantly, and the amount was close in both parts. Treatment with Se significantly inhibited the growth of *B. rapa*, and a significantly negative correlation was found between Se concentration in shoots and the fresh weight of shoots. Treatment with Se remarkably induced the production of MDA in the shoots of *B. rapa*, and Se concentration in shoots was positively correlated with MDA concentration in shoots. And the MDA concentration in shoots was negatively correlated with the fresh weight of shoots under Se treatment. Treatment with Se at low concentrations didn't change the chlorophyll content while Se at high concentrations remarkably

induced the decrease in chlorophyll content. A significantly positive correlation between Se concentration in shoots and chlorophyll content was presented, whereas no significant correlation between chlorophyll content and the fresh weight of shoots was observed. In conclusion, high concentration of Se treatment could result in the considerable accumulation of Se in *B. rapa*, which further led to the

收稿日期: 2015-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401857)

作者简介: 陈 健(1982-), 男, 山东潍坊人, 博士, 副研究员, 研究方向为植物逆境生理与生化。(E-mail) chenjian@jaas.ac.cn; (Tel) 18761881765

通讯作者: 徐为民, (E-mail) weimin0518@sina.com

growth inhibition of *B. rapa*. And the reason could be mainly attributed to the oxidative injury instead of the decrease in chlorophyll content in *B. rapa*.

Key words: *Brassica rapa*; selenium accumulation; oxidative injury; chlorophyll; MDA content

硒(Se)在人体中发挥非常重要的生理功能,如调控蛋白和抗氧化活性,调控甲状腺素合成、DNA修复与合成,提高免疫等^[1-5]。适量硒亦能够对农作物生产发挥重要作用,如促进种子萌发、提升光合效率、提高抗逆性等^[6-9]。鉴于硒的这些重要功能,近年来人们加大了对硒的开采量、富硒肥的开发及使用力度^[10]。虽然中国耕地土壤中的硒水平普遍偏低,但近年来也有部分硒超标地区。如在重工业城市徐州,部分耕作层土壤中的硒含量超标3~50倍^[11]。有研究结果表明过量硒能够对农作物产生严重的胁迫作用。目前关于植物硒毒害及其机制研究才刚刚开始,如:过量硒能够通过诱导氧化胁迫反应进而抑制植物生长^[12-14];在模式植物拟南芥中的研究发现,硒能够通过干扰内源一氧化氮和生长素信号抑制根的生长^[15-16];硒能够通过诱导内源一氧化氮和抑制内源硫化氢信号诱导不结球白菜根内的氧化损伤反应,进而导致根生长受阻^[17-18]。由此看来,硒对植物的胁迫作用主要来自于其诱导的氧化胁迫反应。但以上这些报道只探讨了一定量的外源硒处理对植物毒害效应及其响应机制。而吸收到植物细胞内的硒能够与众多蛋白结合^[19-20],这很可能是导致植物硒毒害的根本原因。因此,研究植物体的硒累积量与植物毒害反应之间的相关性,将有助于进一步明确硒对作物生长的危害程度。

本试验以不结球白菜这一常见大宗蔬菜为材料,采用不同浓度硒处理不结球白菜根部后,研究地上可食部分硒的累积量与生长抑制效应和氧化损伤指标之间的相关性,旨在为高浓度硒对作物毒害效应的风险评估提供部分理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试不结球白菜(*Brassica rapa*)品种为五月慢(南京绿领种业生产)。生理生化测定相关试剂和试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验方法

1.2.1 不结球白菜幼苗培养 不结球白菜种子用1%的NaClO消毒10 min后,用蒸馏水冲洗3次。

然后将种子撒播在消毒后的蛭石上,每12 h浇灌1次清水,待幼苗长至4 cm左右时移至水培箱中,用1/2 Hoagland 营养液培养。每箱种植12棵,营养液体积为4 L。培养条件为25℃/22℃(昼/夜),光照周期14 h/10 h(光/暗),相对湿度75%,每隔6 h通氧15 min。当幼苗长至四叶期时采用亚硒酸钠(Na_2SeO_3)处理根部,设置6个 Na_2SeO_3 处理浓度:0 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、8 mg/L、12 mg/L、16 mg/L,换算为Se浓度分别为:0 mg/L、0.9 mg/L、1.8 mg/L、3.7 mg/L、5.5 mg/L、7.3 mg/L。每个浓度设置3个重复,每3 d更换1次营养液。从处理时起第30 d取样测定不同生理指标。

1.2.2 不结球白菜幼苗生物量测定 取处理后的不结球白菜植株,保留地上部分,吸干表面水分并称取质量。

1.2.3 不结球白菜幼苗丙二醛(MDA)含量测定 参照McCord等^[21]的方法,称取处理后叶片样品1.0 g至研钵中,加入少量石英砂和5 ml 10%三氯乙酸(TCA)2 ml,研磨至匀浆,再加8 ml 10%三氯乙酸进一步研磨,转入到15 ml的离心管中,以4 000 r/min离心10 min,上清液为丙二醛提取液。以蒸馏水为对照,取2 ml上清液加入2 ml 0.6%硫代巴比妥酸(TBA)溶液。摇匀,在沸水浴中反应15 min,迅速冷却后再离心。分别在532 nm、600 nm和450 nm波长下测定吸光度值 A_{532} 、 A_{600} 、 A_{450} ,根据以下公式计算MDA含量:MDA含量($\mu\text{mol/g}$,FW)=[$6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$] $\times V / (1\,000 \times W)$ 。上述计算公式中, V 表示反应液体积(ml), W 表示植物组织样品质量(g)。

1.2.4 不结球白菜幼苗叶绿素含量测定 参照刘绚霞等^[22]的方法,称取处理后叶片样品0.2 g至研钵中,加入5 ml 95%乙醇(添加少量碳酸钙及石英砂)研磨成匀浆,再用10 ml左右的95%乙醇稀释,用滤纸过滤到体积为25 ml容量瓶中,最后定容至刻度并摇匀。然后用光径为1 cm的比色皿,以95%乙醇为空白,分别在波长663 nm、645 nm下测定吸光度 A_{663} 、 A_{645} 。根据以下公式计算叶绿素含量:叶绿素a含量(mg/g ,FW)=($12.70A_{663} - 2.69A_{645}$) \times

$V/(1\ 000 \times W)$; 叶绿素 b 含量 (mg/g, FW) = $(22.70A_{645} - 4.68A_{663}) \times V/(1\ 000 \times W)$; 总叶绿素含量 (mg/g, FW) = $(20.20A_{645} + 8.02A_{663}) \times V/(1\ 000 \times W)$ 。上述计算公式中, V 表示反应液体积 (ml), W 表示植物组织样品质量 (g)。

1.2.5 不结球白菜幼苗硒含量测定 参照 Huang 等^[23] 的方法, 取新鲜的根和叶用去离子水冲洗 3 次后擦干, 在 60 °C 下烘干至恒质量。称取 0.20 g 左右的样品放入消化管中, 每个处理 3 次重复, 加入 10 ml 的 $HNO_3:HClO_4(4:1, \text{体积比})$ 混合, 封口并放置在 80 °C 消化炉中消化过夜。消化后的样品用去离子水定容到 25 ml 的容量瓶中。硒浓度采用氢化物-原子荧光光谱法测定。

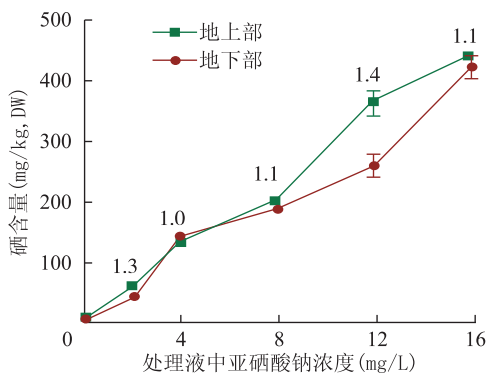
1.3 统计分析

每个结果采用 3 次重复的平均值 \pm 标准差表示, 首先采用 SPSS 2.0 对试验数据进行单因素方差分析 (ANOVA), 然后进行 F 检验检测不同处理之间的差异显著性。采用 Excel 中的“CORREL”程序和回归检验来分析两组变量之间的相关性, 相关系数 r 值位于 $-1.00 \sim -0.80$ 或 $+0.80 \sim +1.00$, 且 $P < 0.05$, 则表示两组变量之间成显著负相关或显著正相关。

2 结果

2.1 硒处理后不结球白菜体内硒累积量的变化

随着处理液中硒浓度的升高, 不结球白菜地下部和地上部的硒累积量逐渐上升 (图 1)。在处理液亚硒酸钠浓度为 2 mg/L、4 mg/L、8 mg/L、12 mg/L、



图中每一个图标上方的数字表示地上部与地下部硒含量的比值。

图 1 不同浓度硒处理对不结球白菜体内硒累积的影响

Fig.1 Effects of Se treatments at different concentrations on Se accumulation in *Brassica rapa*

16 mg/L 的情况下, 不结球白菜地下部硒累积量分别为 44.8 mg/kg, DW、142.2 mg/kg, DW、191.8 mg/kg, DW、262.3 mg/kg, DW、424.5 mg/kg, DW, 地上部硒累积量分别为 59.6 mg/kg, DW、136.5 mg/kg, DW、204.5 mg/kg, DW、370.0 mg/kg, DW、446.6 mg/kg, DW。

2.2 硒处理对不结球白菜地上部生长的抑制作用

从图 2A 可见, 高浓度 (5.5~7.3 mg/L) 硒处理的不结球白菜叶脉附近轻度黄化。图 2B 显示, 与对照相比, 0.9 mg/L 硒处理对地上部鲜质量无显著影响, 随着处理液中硒浓度的不断增加, 不结球白菜地上部鲜质量开始显著下降。1.8 mg/L、3.7 mg/L、5.5 mg/L、7.3 mg/L 硒处理的地上部鲜质量分别比对照下降了 41%、53%、54%、87%。相关分析结果 (图 2C) 显示, 地上部硒累积量与地上部鲜质量之间呈显著线性负相关 ($r = -0.940\ 0, P = 0.005\ 0$)。

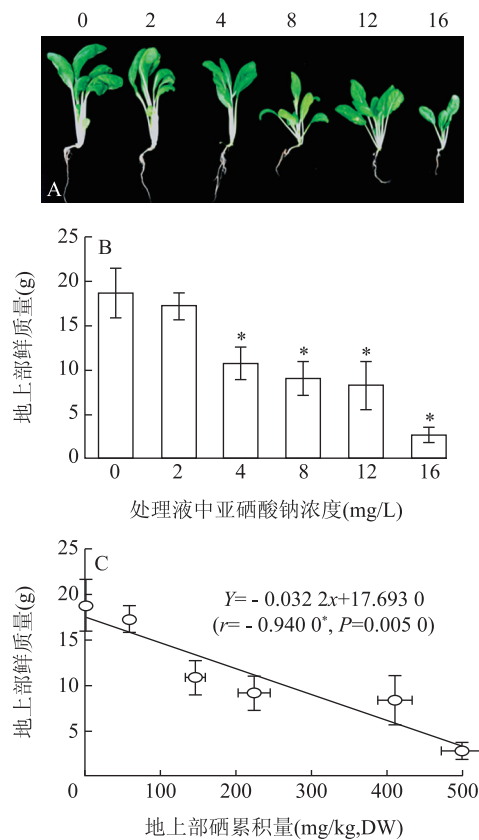


图 A 中数值代表处理液中亚硒酸钠浓度; 图 B 中的 * 表示处理与对照差异显著 ($P < 0.05$)。图 C 中的 * 表示相关达 0.05 显著水平。

图 2 不同浓度硒处理对不结球白菜地上部鲜质量的影响

Fig.2 Effects of Se treatments at different concentrations on shoot growth of *B. rapa*

2.3 硒处理对不结球白菜地上部的氧化损伤

MDA 含量表示植物细胞的脂质过氧化程度,是反映环境胁迫诱导植物氧化损伤程度的重要指标^[24]。在本研究中,与对照相比,0.9 mg/L 硒处理引起不结球白菜地上部 MDA 含量轻微下降。而 3.7 mg/L、5.5 mg/L、7.3 mg/L 硒处理的地上部 MDA 含量则显著高于对照(图 3A)。不结球白菜地上部 MDA 含量与硒的累积量之间呈显著正相关($r=0.920\ 0^*$, $P=0.026\ 0^*$)(图 3B)。不结球白菜地上部 MDA 含量与鲜质量之间呈显著负相关($r=-0.950\ 0^*$, $P=0.016\ 0^*$)(图 3C)。

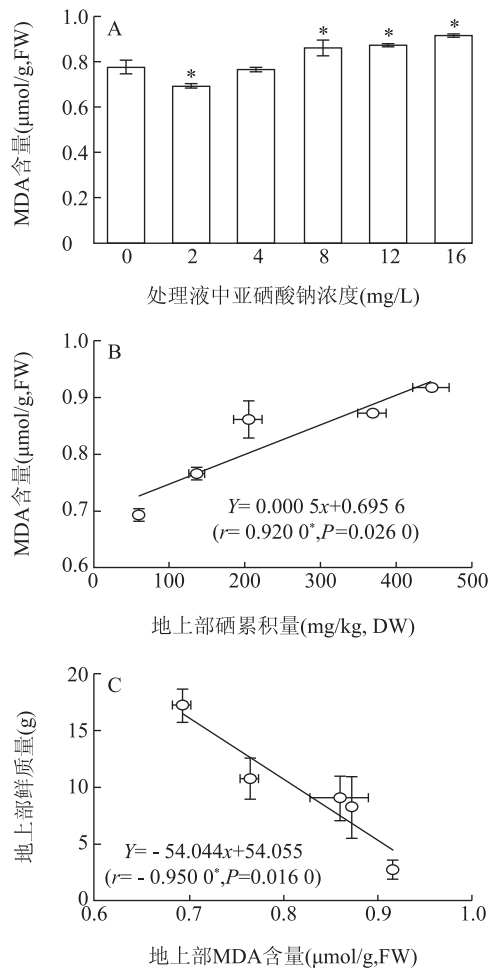


图 A 中的 * 表示处理与对照差异显著 ($P < 0.05$); 图 B 和图 C 中的 * 值表示相关达 0.05 显著水平。

图 3 不同浓度硒处理对不结球白菜地上部丙二醛含量的影响

Fig.3 Effect of Se treatment at different concentrations on MDA content in the shoots of *B. rapa*

2.4 硒处理对不结球白菜地上部叶绿素含量的影响

如图 4A 所示,不结球白菜叶绿素的组成中叶绿素 a 的含量较高,而叶绿素 b 的含量相对较低。与对照相比,0.9~3.7 mg/L 硒处理的叶绿素含量无显著变化。但高浓度硒处理(5.5 mg/L 和 7.3 mg/L)导致叶绿素 a 含量显著下降,分别比对照下降了 34% 和 44%。同样高浓度硒处理(5.5 mg/L 和 7.3 mg/L)的叶绿素 b 量分别比对照下降了 39% 和 42%。不结球白菜地上部叶绿素含量与地上部硒累积量之间呈显著负相关($r=-0.940\ 0^*$, $P=0.005\ 0$)(图 4B)。不结球白菜地上部叶绿素含量与鲜质量之间无显著相关性($r=0.790\ 0$, $P=0.114\ 0$)(图 4C)。

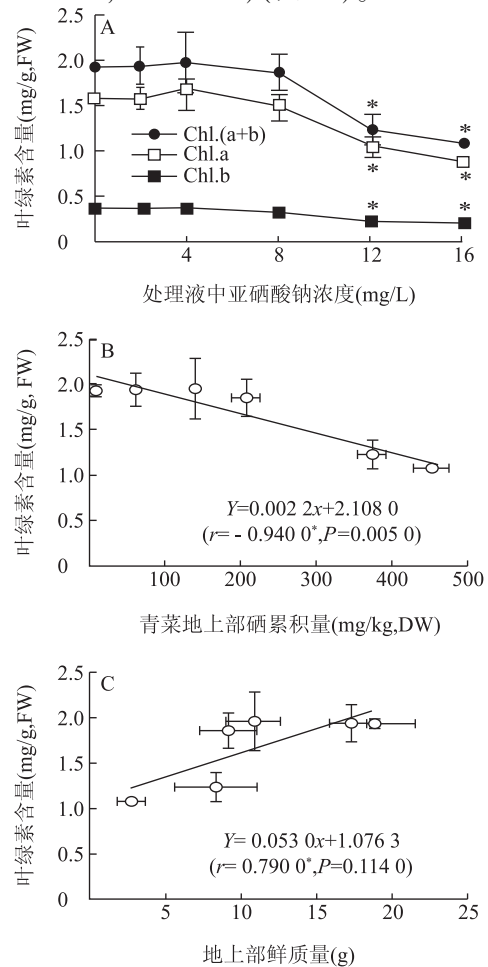


图 A 中的 * 表示处理与对照差异显著 ($P < 0.05$); 图 B 和图 C 中的 * 值表示相关达显著水平。

图 4 不同浓度硒处理对不结球白菜地上部叶绿素含量的影响

Fig.4 Effects of Se treatments at different concentrations on chlorophyll contents in the shoots of *B. rapa*

3 讨论

目前对于植物硒毒害及其作用机制研究才刚刚起步,已有研究结果显示硒处理能够引起植物生长受阻和氧化胁迫反应^[12-18]。但对于硒胁迫下,植物体内的硒累积量、氧化损伤、生长抑制之间的相关性尚不明确。本研究首次对此进行了探索性研究,推断硒引起不结球白菜的生长抑制效应来自于累积到不结球白菜体内的硒引起的氧化胁迫反应。

硒在不结球白菜体内的累积量分析显示,虽然对根部进行硒处理,但地上部和地下部却能够累积几乎等量的硒,且累积量较大。说明不结球白菜对硒的吸收和转运效率非常高,远大于其他重金属元素(如镉、汞、铅)等。原因可能在于硒是植物的必需微量元素,植物对硒具备高效的吸收和转运体系。已有报道显示植物中硒分别与硫元素和硅元素共用一套高效的转运蛋白^[25-26]。不结球白菜地上部硒累积量与鲜质量呈显著负相关,说明在不结球白菜体内大量累积的硒是导致不结球白菜生长受阻的重要原因。另外,本研究结果还显示不结球白菜地上部硒累积量与MDA含量呈显著正相关,表明累积到不结球白菜体内的硒直接导致了氧化损伤的产生。而MDA含量与鲜质量呈显著负相关,说明硒累积诱导的氧化损伤对不结球白菜生长抑制的贡献率较大。叶绿素的分析结果显示,高浓度硒处理的叶绿素含量显著下降,这与表型照片中叶片黄化相对应。地上部硒累积量与叶绿素含量成显著负相关,说明累积到不结球白菜体内的高浓度硒直接抑制了叶绿素的合成。然而我们认为硒累积诱导的叶绿素合成受阻并非导致不结球白菜生长抑制的主要因素,因为硒胁迫下叶绿素含量与鲜质量之间无显著相关性。综合上述结果,我们推论:虽然硒在植物体内的大量累积能够同时导致氧化损伤和叶绿素下降,但只有氧化损伤才是硒胁迫引起植物生长抑制的主要因素之一。这也就解释了硒毒害导致多种植物产生氧化损伤这一普遍现象的原因。

吸收到植物体内的过量硒如何导致氧化损伤?虽然我们前期的研究结果显示硒很可能通过调控内源一氧化氮和硫化氢信号来发挥作用^[16-18],但根本原因可能是硒与某些蛋白的相互作用导致的。在动物细胞内,某些蛋白中的半胱氨酸能够被硒代半胱氨酸替代,从而影响蛋白活性与功能^[27]。生物体内

的过氧化物酶类是清除过量活性氧进而缓解氧化损伤的重要功能酶之一^[28],而硒代过氧化物酶属于硒代蛋白中占比重较大的一族蛋白^[29]。有研究结果显示,谷胱甘肽过氧化物酶中的半胱氨酸被硒代化后,其清除过氧化氢的活性严重下降^[30]。植物中关于硒毒害机理研究才刚刚起步,其中是否存在与上述动物中类似的作用机理还需要进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] STEINBRENNER H, SIES H. Protection against reactive oxygen species by selenoproteins [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2009, 1790(11): 1478-1485.
- [2] KÖHRLE J, GÄRTNER R. Selenium and thyroid [J]. *Best practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009, 23(6): 815-827.
- [3] SEO Y R, SWEENEY C, SMITH M L. Selenomethionine INDUCTION of DNA repair response in human fibroblasts [J]. *Oncogene*, 2002, 21(23): 3663-3669.
- [4] BROOME C S, MCARDLE F, KYLE J A, et al. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 80(1): 154-162.
- [5] 邹慧, 劳雪芬, 李丹丹, 等. 富硒女贞子对乳腺上皮细胞增殖活性的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(5): 212-216.
- [6] 王玉凤, 徐暄, 孙其文. 硒浸种对番茄种子萌发的影响 [J]. *湖北农业科学*, 2009, 10: 2461-2463.
- [7] 王淑珍, 赵喜茹, 王喜枝, 等. 叶面喷施亚硒酸钠对大蒜光合作用及产量品质的影响 [J]. *中国农学通报*, 2008, 24(4): 294-297.
- [8] KUMAR M, BIJO A, BAGHEL R S, et al. Selenium and spermine alleviate cadmium induced toxicity in the red seaweed *Gracilaria dura* by regulating antioxidants and DNA methylation [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 51: 129-138.
- [9] DJANAGUIRAMAN M, PRASAD P, SEPPANEN M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 999-1007.
- [10] KAVLAK G, GRAEDEL T E. Global anthropogenic selenium cycles for 1940-2010 [J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2013, 73: 17-22.
- [11] HUANG S, HUA M, FENG J, et al. Assessment of selenium pollution in agricultural soils in the Xuzhou district, northwest Jiangsu, China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21: 481-487.
- [12] PACIOLLA C, D E LEONARDIS S, DIPIERRO S. Effects of selenite and selenate on the antioxidant systems in *Senecioscandens* L. [J]. *Plant Biosystems*, 2011, 145: 253-259.

- [12] AGGARWAL M, SHARMA S, KAUR N, et al. Exogenous proline application reduces phytotoxic effects of selenium by minimising oxidative stress and improves growth in bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings [J]. Biological Trace Element Research, 2011, 140: 354-367.
- [14] Accumulation of selenium in *Ulva* sp. and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites [J]. Aquatic Toxicology, 2012, 122-123: 222-231.
- [15] LEHOTAI N, KOLBERT Z, PETÖ A, et al. Selenite-induced ormonal and signalling mechanisms during root growth of *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63: 5677-5687.
- [16] 陈 义, 陈 健, 吕文静, 等. 硒通过调控小白菜幼苗根内 NO 与 H₂S 信号诱导 BrRbohG1/BrRbohG2 表达 [J]. 江苏农业学报, 2015, 31(1): 149-157.
- [17] CHEN Y, MO H Z, ZHENG M Y, et al. Selenium inhibits root elongation by repressing the generation of endogenous hydrogen sulfide in *Brassica rapa* [J]. PLoS ONE, 2014, 9(10): e110904.
- [18] CHEN Y, MO H Z, HU L B, et al. The endogenous nitric oxide mediates selenium-induced phytotoxicity by promoting ROS generation in *Brassica rapa* [J]. PLoS ONE, 2014, 9(10): e110901.
- [19] SILVA M, ARRUDA M. Identification of selenium in the leaf protein of sunflowers by a combination of 2D-PAGE and laser ablation ICP-MS [J]. Microchimica Acta, 2012, 176: 131-136.
- [20] FANG Y, CATRON B, ZHANG Y, et al. Distribution and in vitro availability of selenium in selenium-containing storage protein from selenium-enriched rice utilizing optimized extraction [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 9731-9738.
- [21] McCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. Journal of Biological Chemistry, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [22] 刘绚霞, 董振生, 刘创社, 等. 油菜叶绿素提取方法的研究 [J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 62-63.
- [23] HUANG S, HUA M, FENG J, et al. Assessment of selenium pollution in agricultural soils in the Xuzhou District, Northwest Jiangsu, China [J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21: 481-487.
- [24] KEUNEN E, REMANS T, BOHLER S, et al. Metal-induced oxidative stress and plant mitochondria [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12: 6894-6918.
- [25] WHITE P, BOWEN H, PARMAGURU P, et al. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(404): 1927-1937.
- [26] ZHAO X Q, MITANI N, YAMAJI N, et al. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice [J]. Plant Physiology, 2010, 153: 1871-1877.
- [27] JOHANSSON L, GAFVELIN G, ARNER E S J. Selenocysteine in proteins—properties and biotechnological use [J]. Biochim Biophys Acta (BBA)—General Subjects, 2005, 1726: 1-13.
- [28] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48: 909-930.
- [29] REEVES M A, HOFFMAN P R. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2009, 66(15): 2457-2478.
- [30] ROCHER C, LALANNE J L, CHAUDIERE J. Purification and properties of a recombinant sulfur analog of murine selenium-glutathione peroxidase [J]. European Journal of Biochemistry, 1992, 205: 955-960.

(责任编辑:陈海霞)