

文章编号:1000-8551(2011)02-0226-05

# 两份大麦品种单倍体细胞与植株水平耐盐性的关系

陆瑞菊<sup>1,2,3</sup> 陈志伟<sup>2,3</sup> 何婷<sup>2,3</sup> 王亦菲<sup>2,3</sup> 杜志钊<sup>2,3</sup> 高润红<sup>2,3</sup>  
邹磊<sup>2,3</sup> 黄剑华<sup>2,3</sup> 陈佩度<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095;

2. 上海市农业科学院生物技术研究所, 上海 201106; 3. 上海市农业遗传育种重点实验室, 上海 201106)

**摘要:**为了确定盐胁迫下大麦籽粒产量和萌发期生长指标与小孢子培养阶段盐胁迫下愈伤组织产量之间是否存在一致性,以2份大麦品种为供试材料,进行了以下3项研究:(1)诱导培养基中NaCl含量对小孢子培养愈伤组织产量的影响;(2)萌发液中NaCl含量对大麦种子萌发期生长指标的影响;(3)NaCl胁迫处理对大麦单株产量的影响。结果表明,诱导培养基中NaCl含量提高可降低小孢子培养愈伤组织产量,但2份品种的降幅存在明显的差异;萌发液中NaCl含量提高可降低种子发芽率、主根长度和胚芽鞘长度,2份品种间降幅上也存在明显的差异;盆栽条件下NaCl胁迫处理的大麦单株产量明显低于无NaCl的对照,2份品种间有差异。NaCl胁迫下,2份供试材料小孢子培养愈伤组织产量的相对值与种子萌发期的发芽率、主根长度和胚芽鞘长度的相对值以及单株产量的相对值存在着一定的相关,说明供试品种的耐盐性在小孢子水平与植株水平上是一致的。

**关键词:**大麦;NaCl胁迫;小孢子培养;萌发期;单株籽粒产量

## RELATIONSHIP OF NaCl TOLERANCE BETWEEN HAPLOID CELL LEVEL AND PLANT LEVEL IN TWO BARELY CULTIVARS

LU Rui-ju<sup>1,2,3</sup> CHEN Zhi-wei<sup>2,3</sup> HE Ting<sup>2,3</sup> WANG Yi-fei<sup>2,3</sup>  
DU Zhi-zhao<sup>2,3</sup> GAO Run-hong<sup>2,3</sup> HUANG Jian-hua<sup>2,3</sup> CHEN Pei-du<sup>1</sup>

(1. National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095;

2. Biotech Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106; 3. Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding, Shanghai 201106)

**Abstract:** Three independent experiments were carried out using 2 barley cultivars in order to determine whether there is a consistency in salt tolerance between plant level in terms of grain yield and seed germination and microspore level in terms of callus production, i. e. (1) effects of NaCl concentration on callus production in microspore culture; (2) effects of NaCl concentration on the traits related to seed germination at germination stage; (3) effects of NaCl stress on grain yield per plant. The results showed that the callus production was reduced with increased NaCl concentration in the medium, and there was significant difference between the two barley cultivars in the reduced extent. Germination rate, radicle and coleoptile length were also reduced with increased NaCl concentration at germination stage, and the two barley cultivars showed the difference in these parameters. In a pot experiment, it was found that the grain yield per plant was obviously reduced under salt stress relative to the control. Similarly difference could be found also between the

收稿日期:2010-12-06 接受日期:2011-02-22

基金项目:大麦现代产业技术体系项目(NYCYTX-029);上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2009)第2-1号)

作者简介:陆瑞菊(1962-),女,上海人,硕士,研究员,研究方向为作物组织/小孢子培养。E-mail:cs7@saas.sh.cn

通讯作者:陈佩度(1944-),男,上海人,博士,教授,研究方向为麦类作物遗传与育种。E-mail:pdchen@njau.edu.cn

黄剑华(1953-),男,上海人,博士,研究员,研究方向为植物细胞工程育种。E-mail:sw1@saas.sh.cn

two barley cultivars. In addition, the results showed that the relative callus production was closely associated with relative germination rate, relative radicle length, coleoptile length and relative grain yield per plant. Therefore, it may be concluded that there is a consistency in salt tolerance for barley between microspore and plant levels.

**Key words:** *Hordeum vulgare* L.; NaCl stress; microspore culture; germination stage; grain yield per plant

世界上拥有大量的含盐土地,提高作物的耐盐性可以有效利用这些盐土资源<sup>[1,2]</sup>,同时提高可耕种土地面积。大麦是开拓盐荒的先锋作物,但不同大麦品种之间的耐盐性差异极大<sup>[3]</sup>,要挖掘和利用现有的大麦种质资源,就必须对材料的耐盐性进行鉴定评价,然后通过传统杂交育种和离体培养等方法对作物的耐盐性进行遗传改良<sup>[4-6]</sup>,获得耐盐性强的大麦品种,从而使其可在盐土中进行种植。进行作物耐盐性评价时,一般认为盐胁迫下的籽粒产量是最为可靠的鉴定结果,但这种鉴定方法不仅耗时、耗力,而且受环境条件的限制。而在芽、苗期进行耐盐性鉴定可以克服这些缺点,且作物芽、苗期对盐胁迫比较敏感,和成熟期耐盐性状也存在相关性,因此通常在作物芽、苗期进行耐盐性鉴定<sup>[7,8]</sup>。另外, $F_1$ 代植株的花药中含有大量的基因重组配子体,如果能够证实小孢子水平的耐盐性与植株水平耐盐性具有一致性,特别是离体培养小孢子在 NaCl 胁迫下的存活和脱分化能力与供体材料耐盐性之间的相关性,就可为大麦小孢子水平耐盐性筛选方法的研制提供理论上的支持。大麦小孢子水平耐盐性鉴定与筛选方法一旦建成,可以将小孢子培养技术与耐盐性筛选结合起来,必将提高耐盐基因重组体和突变体的筛选效率,并且获得的再生植株经过染色体加倍可以迅速获得耐盐的加倍单倍体植株,经过田间鉴定后即可获得遗传性稳定的、纯合的耐盐株系。

本研究以耐盐性存在较大差异<sup>[7,11]</sup>的大麦品种“花 11”<sup>[9]</sup>和“花 30”<sup>[10]</sup>作为供试材料,研究了盐胁迫对这 2 份品种小孢子培养愈伤组织产量、种子萌发阶段生长指标和单株籽粒产量的影响,从而揭示大麦芽期与成熟期耐盐性间的关系以及大麦在单倍体水平与二倍体水平耐盐性的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以 2008 年春季选取的大麦品种“花 11”和“花 30”的麦穗为供试材料,进行小孢子培养。

### 1.2 小孢子培养

1.2.1 提取液和培养基 以甘露醇(终浓度 60g/L),  $CaCl_2$ (终浓度 1.1g/L)和 MES(终浓度 0.976g/L)配

制提取液。以改良的 N6 培养基为基本培养基<sup>[12,13]</sup>,诱导培养基中添加 KT 0.5mg/L、2,4,5-T 1.0mg/L、麦芽糖 90g/L 和不同浓度(0、0.1、0.2 和 0.3g/L)的 NaCl。提取液和培养基均过滤灭菌。每试验 4 次重复。

1.2.2 小孢子培养 小孢子分离参照陆瑞菊等<sup>[14,15]</sup>的方法进行。选取中部小花小孢子发育处于单核早期、中期的穗子,置于 5℃ 冰箱中处理 17d。穗子用饱和漂白粉溶液消毒 15min,无菌水冲洗 3~4 次。每个试管接 10 个小孢子处于相同发育时期的穗子,倒入 15ml 提取液,用高速分散器超速旋切后,150 目筛网过滤,滤液以 100g 低速离心 5min,重复 3 次,收集小孢子。培养前将小孢子用提取液和诱导培养基各洗涤 1 次,然后用诱导培养基将小孢子密度调节至  $1.1 \times 10^5$ /ml,取 1ml 小孢子悬浮液接种于培养皿(20 × 15mm),Parafilm 封口,重复 4 次,25℃ 暗培养 28d 时称取每皿愈伤组织重量(为愈伤组织产量)。

### 1.3 发芽期耐盐性鉴定

选取 2 个大麦品种的健康种子,用 3% 双氧水( $H_2O_2$ )消毒 8min,蒸馏水冲洗 3 次,然后将种子浸泡于蒸馏水中,30℃、7h,结束后保湿过夜,等种子露白后均匀排放于铺有 2 张滤纸的 9cm 培养皿中,每皿摆放 25 粒种子,加入不同浓度的 NaCl 溶液(0、5、10、15g/L),每个处理 3 次重复,将所有培养皿置于 25℃ 恒温光照培养箱中发芽。6d 后统计发芽率、主根长度、胚芽鞘长度。

### 1.4 单株产量鉴定

单株籽粒产量试验于 2009-2010 年大麦正常生长季节在中国科学院植物生理生态所玻璃大棚内进行。挑选大小均匀、籽粒饱满的种子播种于直径为 30cm 的塑料盆钵中,每盆播种 5 粒,出苗后每盆定苗 3 株。每盆装土 5kg,土壤中含有有机质 34.5g/kg、全氮 2.42g/kg、速效氮 37.35mg/kg。设对照和 NaCl 胁迫 2 个处理,胁迫处理按 20g/盆加入 NaCl。每个处理 4 次重复。拔节期施尿素(0.375g/盆),于成熟时测定植株的单株产量。

### 1.5 数据分析及性状相对值计算

使用 Excel 2003 软件进行数据统计和分析。

性状相对值 = 低氮胁迫性状值 / 正常供氮性状值。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaCl 对大麦小孢子培养愈伤组织产量的影响

从表 1 可以看出,花 11 愈伤组织产量虽然随着诱导培养基中 NaCl 浓度的升高而下降,但统计检验表明差异不显著。花 30 的愈伤组织产量随着诱导培养基中 NaCl 浓度的升高而急剧下降,培养基中 NaCl 含量达到 0.1 g/L 时,愈伤组织产量从 133.5 mg 下降为 78.0 mg,下降幅度达 41.6%。表明“花 30”小孢子培养过程对 NaCl 相当敏感,诱导培养基中 NaCl 含量达到 0.1 g/L 时就严重影响愈伤组织的形成,而花 11 的小孢子则对诱导培养基中 0.1~0.3 g/L NaCl 不敏感。

表 1 不同浓度的 NaCl 对大麦小孢子培养愈伤组织产量的影响

Table 1 Effect of NaCl concentration callus production of two barley varieties in microspore culture

材料 material	诱导培养基中 NaCl 浓度 NaCl concentration in induction medium (g/L)			
	0	0.1	0.2	0.3
花 11 Hua 11	208.8 ± 18.3A	181.3 ± 19.1A	199.8 ± 28.0A	181.3 ± 22.8A
花 30 Hua 30	133.5 ± 35.0B	78.0 ± 8.9C	76.5 ± 13.7C	55.3 ± 14.6C

注:途中数据为均值 ± 标准差,同行不同字母代表在 0.01 水平差异显著。下表同。

Note: Data are means ± SE. Data with different letters in the same row showed significant difference at  $P = 0.01$  level. The same as following tables.

表 2 NaCl 浓度对供试材料种子萌发及生长的影响

Table 2 Effects of NaCl concentration on seed germination and seedling growth

性状 trait	供试材料 material	萌发液中 NaCl 浓度 NaCl concentration in germination solution (g/L)			
		0	5	10	15
发芽率 germination rate (%)	花 11 Hua 11	93.3 ± 6.1 AB	93.3 ± 4.6 AB	93.3 ± 4.6 AB	88.0 ± 6.9 AB
	花 30 Hua 30	100.0 ± 0.0 A	92.00 ± 4.0 AB	86.67 ± 2.3 B	80.0 ± 4.0 B
主根长度 radicle length (cm)	花 11 Hua 11	6.8 ± 0.2 A	6.0 ± 0.2 B	2.9 ± 0.4 D	1.7 ± 0.0 E
	花 30 Hua 30	7.0 ± 0.4 A	4.2 ± 0.5 C	2.3 ± 0.1 D	1.5 ± 0.1 E
胚芽鞘长度 coleoptile length (cm)	花 11 Hua 11	2.4 ± 0.0 BC	3.1 ± 0.0 A	3.1 ± 0.1 A	2.3 ± 0.1 C
	花 30 Hua 30	2.5 ± 0.1 B	3.0 ± 0.1 A	3.1 ± 0.1 A	2.1 ± 0.1 D

### 2.4 花 11 和花 30 不同倍性水平和不同生长发育时期的耐盐性

比较 2 个品种大麦小孢子在 NaCl 胁迫培养下的相对愈伤组织产量,不难看出,在 3 种不同浓度 NaCl 胁迫压(0.1、0.2 和 0.3 g/L),花 11 的相对愈伤组

### 2.2 NaCl 浓度对大麦种子萌发指标的影响

表 1 显示,5~15 g/L NaCl 对花 11 的萌发几乎没有影响,在 5 和 10 g/L NaCl 中的发芽率与对照一样,都为 93.3%,而在 NaCl 为 15 g/L 时,“花 11”的发芽率才略有下降,但与对照相比差异不显著。花 30 的发芽率随着 NaCl 浓度的增加而下降,NaCl 浓度为 10 g/L 时,花 30 的发芽率较对照下降了 13.3%,差异达极显著水平。

主根长度受 NaCl 的影响很大。NaCl 浓度为 5 g/L 时,不管是花 11 还是花 30,主根长度都明显下降,但花 30 的主根长度明显短于花 11,花 11 的下降幅度为 11.8%,花 30 的下降幅度则高达 40.0%。在 10 和 15 g/L NaCl 浓度下,不管是花 11 还是花 30,主根长度下降得最多,但两者主根长度差异不显著。

胚芽鞘长度受 NaCl 浓度的影响与主根长度不同,在 5 和 10 g/L NaCl 浓度下,2 个供试材料胚芽鞘长度为 3.0~3.1 cm,明显大于对照。但在 15 g/L NaCl 中,花 30 胚芽鞘的生长明显受到抑制,长度明显短于对照;花 11 的胚芽鞘长度则与对照无明显差异,但显著大于花 30,二者差异极显著。

### 2.3 NaCl 胁迫对大麦成熟期单株籽粒产量的影响

从表 3 可以看出,NaCl 胁迫严重影响供试材料的单株籽粒产量。NaCl 胁迫下的单株籽粒产量与对照相比明显下降,花 11 的下降幅度为 21.6%,花 30 的下降幅度高达 63.7%,花 30 的下降幅度明显大于花 11。

织产量总是高于花 30 (图 1)。萌发期也是如此,在 NaCl 胁迫下(5、10 和 15 g/L),花 11 种子的相对发芽率、相对主根长度和相对胚芽鞘长度总是高于花 30 (图 2)。比较花 11 和花 30 成熟期的单株籽粒产量,花 11 的相对值也高于花 30 (图 3)。因而无论是小孢

子发育时期还是萌发期或成熟期,花 11 的耐盐性总是大于花 30,说明小孢子培养愈伤组织产量与萌发期指标和籽粒产量一样,可以作为耐盐性状的筛选指标,同时也表明大麦小孢子水平的耐盐性与植株水平的耐盐性存在一致性。

表 3 盆栽试验中 NaCl 胁迫下大麦成熟期单株籽粒产量

Table 3 Effects of NaCl stress on grain yield per plant of two barley varieties in pot experiment

材料 material	盆钵中 NaCl 浓度 NaCl content in pot(g/pot)	
	0	20
花 11 Hua 11	3.7 ± 0.2 A	2.9 ± 0.2 B
花 30 Hua 30	4.4 ± 0.4 A	1.6 ± 0.3 B

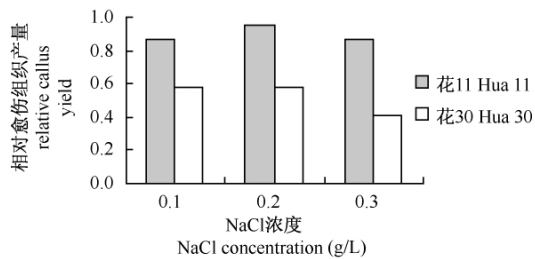


图 1 盐胁迫下花 11 和花 30 小孢子培养的相对愈伤组织产量

Fig. 2 Relative callus yield of mircospore culture of hua11 and Hua30 under NaCl stress

### 3 讨论

种子萌发阶段的耐盐性对植株能否存活和进一步的生长发育至关重要<sup>[16-18]</sup>,很多研究者将种子萌发阶段的耐盐性作为该作物耐盐性的重要指标<sup>[19-21]</sup>,种子萌发阶段的耐盐性就是植株水平的耐盐性<sup>[22,23]</sup>。利用大麦小孢子培养技术来证实单倍体细胞水平与植株水平的耐盐性之间的一致性研究还未见报道。依据本研究结果,不难看出 NaCl 胁迫对供试品种小孢子培养的愈伤组织形成、萌发期的相关指标如发芽率、主根长度和胚芽鞘长度等以及成熟期的单株籽粒产量皆有明显的抑制作用;抑制程度在 2 个大麦品种间存在明显的差异;同一供试品种在小孢子培养的愈伤组织形成、萌发期的相关生长指标以及成熟期的单株籽粒产量对 NaCl 胁迫的反应存在一致性,这一结果表明单倍体细胞水平与植株水平的耐盐性是一致的。

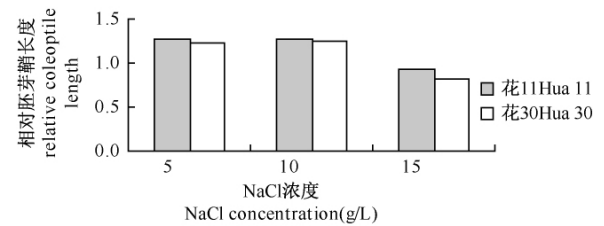
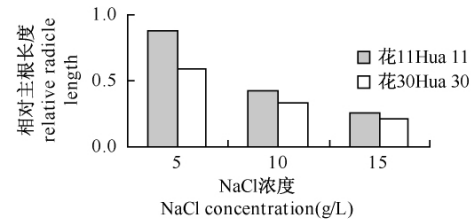
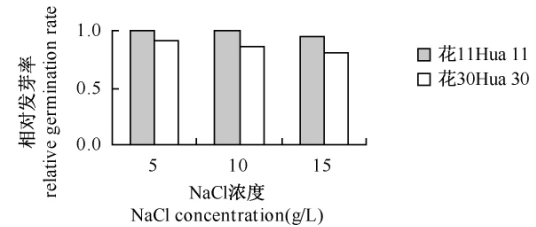


图 2 盐胁迫下花 11 和花 30 萌发期的相对性状

Fig. 2 Relative traits of Hua11 and Hua 30 at germination stage under NaCl stress

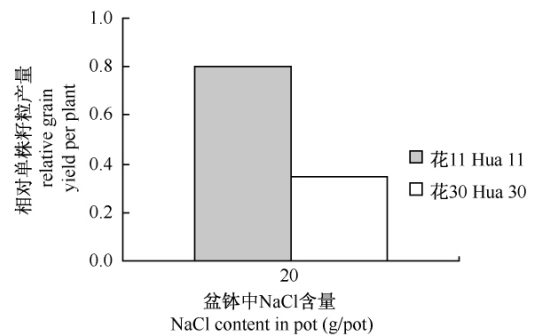


图 3 盐胁迫下花 11 和花 30 成熟期相对单株籽粒产量

Fig. 3 Relative grain yield per plant of Hua 11 and Hua 30 under NaCl stress

曾有学者利用二倍体组织(细胞)培养系统,在多种植物上得出了细胞水平耐盐性与植株水平耐盐性相一致的观点<sup>[24-28]</sup>,也已在多种植物上证实了离体培养的细胞、组织对逆境胁迫反应与供试材料植株水平存在一致性<sup>[29-31]</sup>,这种一致性为利用细胞、组织培养手段改良目标作物提供了理论上的支持。本研究则表明,高度分化的大麦单倍体小孢子在离体培养过程中的耐盐性与供试品种植株水平的耐盐性存在关联。

本研究揭示,NaCl 胁迫下 2 份供试品种在发芽

率、主根长度和胚芽鞘长度等几个指标上存在较大的差异,尤其是这种差异与供试材料小孢子培养过程中对 NaCl 胁迫的敏感性以及 NaCl 胁迫下的单株籽粒产量存在一致性。小孢子是一类高度分化型细胞,培养的小孢子经历脱分化和再分化形成植株的过程是细胞全能性学说的有力证据<sup>[32,33]</sup>。本研究证实了 NaCl 胁迫下游离小孢子培养的脱分化能力(愈伤组织产量)与供试基因型植株水平的耐盐能力(苗期生长指标、单株籽粒产量)存在密切联系,即供试基因型植株水平的耐盐能力可以影响小孢子培养过程中愈伤组织形成的能力。可以推测,不同基因型植株水平的耐盐能力可以在单倍体细胞培养过程中(单套基因水平)得以表达。小孢子离体培养的愈伤组织产量反映了供试材料在离体培养条件下单倍体细胞的存活和脱分化 2 个细胞反应程序,小孢子脱分化过程中对 NaCl 敏感性的差异主要源于供试材料固有耐盐能力,还是 NaCl 胁迫后细胞脱分化的能力,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Christiansen M N. World environmental limitation to food and fiber culture. In: Breeding plants for less favorable environment [C]. MN Christiansen and CF Lewis Edition, New York, Wiley, 1982:1-11
- [2] Flowers T J. Improving crop salt tolerance [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(396): 307-319
- [3] 乔海龙,沈会权,陈和,陈健,陶红,陈晓静. 大麦盐害及耐盐机理的研究进展[J]. 核农学报, 2007, 21(5): 527-531
- [4] Munns R, James R A. Screening methods for salt tolerance: a case study with tetraploid wheat [J]. Plant and Soil, 2003, 253: 201-218
- [5] Ashraf M. Breeding for salinity tolerance in plant [J]. Crit Rev Plant Sci, 1994, 13: 17-42
- [6] 高玉红,李云. 植物离体培养筛选耐盐突变体的研究[J]. 核农学报, 2004, 18(6): 448-452
- [7] 郎淑平,陆瑞菊. 不同大麦品种发芽期的耐盐性比较研究[J]. 上海农业学报, 2008, 24(4): 83-87
- [8] 申玉香,乔海龙,陈和,陈建,沈会权,傅伟. 几个大麦品种(系)的耐盐性评价[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 752-757
- [9] 陆瑞菊,黄剑华,何南杨,龚来庭,王亦菲,孙月芳,周润梅. 应用小孢子离体培养技术培育大麦新品系[J]. 麦类作物学报, 2002, 22(4): 88-90
- [10] 黄剑华,陆瑞菊. 早熟高产优质大麦花-30 的选育[J]. 中国农学通报, 2000, 16(1): 41
- [11] 杜志钊,邹磊,张艳敏,陈志伟,何婷,黄剑华. NaCl 处理对大麦种子萌发后生长量和相关生理生化指标的影响[J]. 上海农业学报, 2010, 26(2): 34-37
- [12] Chu C C, Hill R D, Brule-babel A L. High frequency of pollen embryoid formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* L. on monosaccharide containing media [J]. Plant Science, 1990, 66: 255-262
- [13] Chu C C, Hill R D. An improved anther culture method for obtaining higher frequency of pollen embryoids in *Triticum aestivum* L. [J]. Plant Science, 1988, 55: 175-181
- [14] 陆瑞菊,黄剑华,孙月芳,王亦菲,周润梅. 秋水仙碱对大麦离体培养小孢子存活与成苗的影响[J]. 植物生理学报, 2001, 27(2): 135-140
- [15] Lu Ruiju, Wang Yifei, Sun Yuefang, Shan Lili, Chen Peidu, Huang Jianhua. Improvement of isolated microspore culture of barley (*Hordeum vulgare* L.): the effect of floret co-culture [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2008, 93: 21-27
- [16] Greenway H, Munns R. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes [J]. Annu Rev Plant Physiol, 1980, 31: 149-190
- [17] Khan A A. Preplant physiological seed conditioning [J]. Hort Rev, 1992, 13: 131-181
- [18] Ahmadi S H, Ardekani J N. The effect of water salinity on growth and physiological stages of eight Canola (*Brassica napus*) cultivars [J]. Irrig Science, 2006, 25(1): 11-20
- [19] Gholamali Akbari, Seyed Ali Mohammad Modarres Sanavy, Saeed Yousefzadeh. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2007, 10(15): 2557-2561
- [20] Khan A A, Rao S A, McNeilly T. Assessment of salinity tolerance based upon seedling root growth response functions in maize (*Zea mays* L.) [J]. Euphytica, 2003, 131(1): 81-89
- [21] Ashraf M, Rauf H. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: growth and ion transport at early growth stages [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2001, 23(4): 407-414
- [22] Li Y J, Song X L, Yang X H, Li J, Li X G, Zhu Y Q, Sun X Z, Wang Z L. Effects of seed soaking with glycinebetaine on the salt tolerance of cotton seedlings [J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(2): 305-310
- [23] Xia Y, Lin B, Zhang F S, Li J, Hu H J. Studies of mechanism of maize salt-resistance affected by foliar leaching [J]. Acta Agronomica Sinica, 2001, 27(3): 397-403
- [24] Nabors M W, Gibbs S E, Bernstein C S, Meis M E. NaCl-tolerant tobacco plants from cultured cells [J]. Z Pflanzenphysiol, 1980, 97: 13-17
- [25] Orton T J. Comparison of salt tolerance between *Hordeum vulgare* and *H. jubatum* in whole plants and callus cultures [J]. Z Pflanzenphysiol, 1980, 98: 105-118
- [26] Gulati A, Jaiwal P K. Cellular and whole plant responses of *Vigna radiata* to NaCl stress [J]. Biologia Plantarum, 1994, 36(2): 301-307
- [27] McCoy T J. Tissue culture evaluation of NaCl-tolerance in *Medicago* species: Cellular versus whole plant response [J]. Plant Cell Rep, 1987, 6: 31-34

(下转第 241 页)