DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201406027
吴星,黄渝岚,杨曙,等. 锰胁迫对甘蔗幼苗缺铁和失绿的影响[J]. 广西植物, 2015, 35(6):863－867
Wu X, Huang YL, Yang S, *et al*. Impact of manganese stress on chlorosis and iron-deficiency in sugarcane seedlings[J]. Guihaia, 2015, 35(6):863－867

锰胁迫对甘蔗幼苗缺铁和失绿的影响

吴 星[1], 黄渝岚[1], 杨 曙[1], 赵尊康[1], 黎晓峰[1,2*]
(1. 广西大学 农学院, 南宁 530005; 2. 亚热带生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁 530005)

摘 要: 近年来,甘蔗主产区的甘蔗幼苗出现严重的缺铁失绿问题,影响了我国甘蔗生产及食糖安全。为了揭示锰诱导甘蔗幼苗缺铁失绿机制,该研究采用水培试验法,对过多锰诱导的甘蔗幼叶失绿及其与铁素营养的关系进行了探讨。结果表明:过多锰胁迫下随着甘蔗中锰含量的增加,幼叶明显失绿。250、500、750 μmol·L^{-1}处理10 d后,幼叶中的叶绿素含量分别从对照处理的1.71 mg·g^{-1} FW下降至0.86、0.85、0.64 mg·g^{-1} FW。过多锰抑制甘蔗对铁的吸收,每株植株对铁吸收量(3.22～4.40 mg)显著减少。幼叶中铁含量(116.8～128.6 mg·kg^{-1} DW)也随着锰处理浓度的增加而显著降低。250～750 μmol·L^{-1}处理的甘蔗幼叶中铁的含量仅相当于对照处理的89.4%～81.2%。相反,锰处理后根和茎中铁的含量却显著增加。锰胁迫下幼叶中活性铁含量和活性铁与全铁比值(0.14～0.21)也显著降低。高锰胁迫下,幼叶中的活性铁含量(4.1～6.9 mg·kg^{-1} FW)相当于对照处理的25.5%～55.2%。相关分析结果显示,锰胁迫下的甘蔗叶片中活性铁含量与叶绿素含量呈显著的正相关;锰处理后幼叶中活性铁与锰含量的比值从对照的0.71下降至0.04～0.01。这说明过多的锰可诱导甘蔗幼叶失绿,而失绿与过多的锰胁迫下甘蔗对铁的吸收、运输受阻及铁的钝化有关。

关键词: 甘蔗; 失绿; 锰; 铁
中图分类号: Q945.12 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2015)06-0863-05

Impact of manganese stress on chlorosis and iron-deficiency in sugarcane seedlings

WU Xing[1], HUANG Yu-Lan[1], YANG Shu[1], ZHAO Zun-Kang[1], LI Xiao-Feng[1,2*]
(1. *Agriculture College, Guangxi University*, Nanning 530005, China; 2. *State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources*, Nanning 530005, China)

Abstract: The main sugarcane production areas of China have been suffered from sugarcane seedlings chlorosis for several years, which affected sugarcane production and threatened sugar security of China. Manganese (Mn)-induced chlorosis and its relationship to iron nutrition in sugarcane seedlings were investigated by hydroponic experiments to elucidate mechanisms for the chlorosis in plants. The results indicated that a significant chlorosis symptom was exhibited on young leaves of sugarcane seedlingswith the increase of Mn content in sugarcane under excessive Mn stress. Chlorophyll content in young leaves decreased from 1.71 mg·g^{-1} FW (control) to 0.86, 0.85, 0.64 mg·g^{-1} FW, respectively, after the sugarcane seedlings were exposed to 250, 500 or 750 μmol·L^{-1} Mn solution for 10 d. Excess Mn inhibited iron (Fe) acquisition by sugarcane seedlings, which resulted in significant decrease in Fe acquisition rate (3.22－4.40 mg per plant). Fe content (116.8－128.6 mg·kg^{-1} DW) in young leaves decreased significantly with the increase of Mn-treatment concentration. After the treatment with 250－750 μmol·L^{-1}Mn, Fe content in the leaves was equal to 89.4%－81.2% of that in control. On the contrary, excess Mn resulted in significant increase in Fe con-

收稿日期: 2014-10-22 **修回日期**: 2015-01-27
基金项目: 国家自然科学基金(312604972013);广西自然科学基金重点项目(2012GXNSFDA053010)。
作者简介: 吴星(1985-),男,安徽萧县人,硕士研究生,研究方向为植物营养生理及调控,(E-mail)659386789@qq.com。
*通讯作者: 黎晓峰,博士,教授,主要从事植物逆境生理及植物营养学研究,(E-mail)lxf@.gxu.edu.cn。

tent in roots and stems. Moreover, both active iron content [Fe (H)] and the ratio of Fe (H) to total Fe (0.14－0.21) in young leaves under Mn stress declined significantly. Active iron content [Fe (H), 4.1－6.9 mg • kg^{-1} FW] in the leaves was equated to only 25.5%－55.2% of that in control. The results of correlation analysis showed that chlorophyll content was positive related to Fe (H) in the leaves under Mn stress. On the other hand, the ratio of Fe (H) to total Mn in young leaves after the treatment with Mn declined to 0.04－0.01 while that in control was 0.71. These results indicated that excessive Mn could induce the chlorosis in sugarcane seedlings, and the inhibition of acquisition, transportation and activation of Fe by Mn are involved in the induction of the chlorosis.

Key words: sugarcane; chlorosis; manganese; iron

甘蔗(*Saccharum officinarum*)是我国制糖工业最主要的原料,而广西是我国最大的蔗糖生产基地,甘蔗种植面积和产糖量均占全国的比例在 60% 以上。广西甘蔗产业的健康发展,对我国食糖的有效供给和国家食糖安全起到举足轻重的作用(李杨瑞等, 2010)。然而,近年来在广西甘蔗主产区酸性土壤上出现严重的甘蔗幼苗失绿的现象(龙光霞等, 2011;唐仕云等,2009)。甘蔗幼苗失绿的解决对于我国甘蔗产业的健康发展意义重大。

揭示甘蔗幼苗失绿机理是失绿问题解决的基础。我们在前期研究中发现,强酸性土壤中甘蔗幼苗失绿由过多的锰引起(龙光霞等, 2011)。过多的锰抑制叶绿素合成,阻碍光合作用,增加活性氧积累,破坏体内激素,扰乱营养元素失衡,进而诱发叶片失绿、阻碍植物生长(尹文彦等,2011;严炜等,2010;臧小平,1999;Führs *et al*., 2010)。过多的锰诱导幼叶缺铁失绿现象已在菠萝(*Ananas comosus*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、水稻(*Oryza sativa*)先后被发现(何勇强等,1996;黎晓峰等,1996;Alam *et al*., 2001)。然而,过多的锰对甘蔗幼苗失绿的诱导及相关机制的研究至今尚未见有报道。本文对锰胁迫下甘蔗幼叶叶绿素含量、植株的铁素营养及其与幼叶失绿的关系进行了探讨,旨在为揭示过多的锰诱导甘蔗幼苗失绿的机制及酸性土壤中甘蔗幼苗失绿问题的解决提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 幼苗培养

甘蔗(新台糖 22)种茎经饱和 $Ca(OH)_2$ 溶液浸泡 8～12 h 后置于育苗基质中催芽。出苗并长出 2 片真叶后,挑选长势一致的幼苗移植于 4.8 L 的黑色塑料布包裹的塑料桶中在人工温室中培养。培养室光照强度为 8 000 lx,每天光照/黑暗时间为 14 h/10 h,温度 25 ℃。培养溶液为 1 mmol • L^{-1} $CaCl_2$ 溶液,每隔 3 d 更换培养液,每 1 h 通气 15 min。1 周后以 1/5 Hoagland 营养液预培养幼苗。培养液中含 5 μmol • L^{-1} EDTA-Fe、1 μmol • L^{-1} $MnCl_2$。

1.2 锰处理

预培养 1 周后的幼苗,分别浸入至添加 0、250、500、750 μmol • L^{-1} $MnCl_2$ 的 1/5 Hoagland 营养液,以 0.1 mol • L^{-1} HCl 调至 pH 值 4.5。基础培养液含 1 μmol • L^{-1} Mn。每隔 2 d 更换营养液一次。每个处理 3 次重复。处理 24 d 后收获植株,称重,分析幼叶(＋2 叶及以上叶)叶绿素、活性铁、Mn 含量。样品烘干后,分别测定根、茎、叶中的锰、铁含量,计算植株对铁的吸收量。培养 34 d 后观察叶色,拍照对照及 Mn(750 μmol • L^{-1})处理植株。

1.3 分析方法

铁、锰含量的测定-红外消煮(HNO_3、$HClO_4$ 百分浓度比为 5 ∶ 2)－原子吸收分光光度法(ZEEnit 700P,德国耶拿公司)(文建成等, 2010);叶绿素－分光光度法(吴凯朝等,2011)。

1.4 统计分析

用 Duncan 新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 过多的锰诱导甘蔗幼叶失绿

250、500、750 μmol • L^{-1} Mn 处理 24 d 后甘蔗幼叶中 Mn 含量显著增加(图 1),分别达到对照处理(0 μmol • L^{-1} Mn)的 14.0、18.7、21.9 倍。Mn 处理后随着植株中 Mn 含量的增加,幼叶叶色褪淡,叶绿素含量显著降低。而且,随着锰处理浓度的升高和处理时间的延长而加重。锰处理 10 d 后,幼叶中叶绿素含量已有降低的趋势。250、500、750 μmol • L^{-1}锰处理的叶绿素含量仅为(0.86±0.04)、(0.85±0.09)、(0.64±0.10) mg • g^{-1} FW,分别相当于对照(1.71±0.05) mg • g^{-1} FW 的 50.4%、49.9%、37.5%(图 2)。锰处理 34 d 后,甘蔗幼叶叶色进一步褪淡,

+1～+2 叶的叶片明显黄化(图 3)，脉间失绿，叶脉保持绿色。可见，过多的锰诱导甘蔗幼叶失绿。

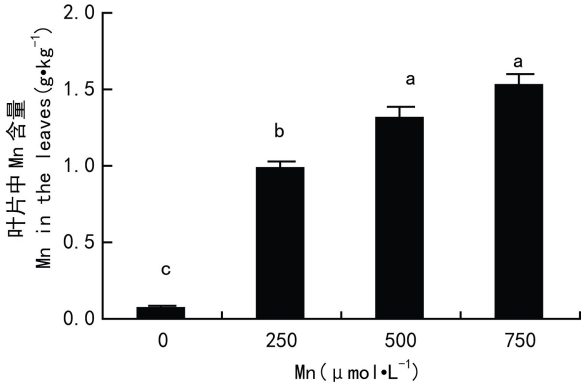

图 1　锰（Mn）胁迫下甘蔗幼叶中的锰含量
不同字母表示差异显著（$P<0.05$），下同。

Fig. 1　Mn content in young leaves of the sugarcane under excess stress　Columns with different letters are significantly different at $P<0.05$ level, the same below.

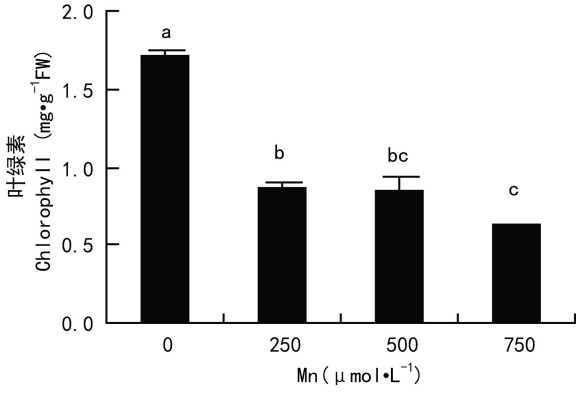

图 2　过多的锰对幼叶叶绿素含量的影响

Fig. 2　Effects of excessive Mn on chlorophyll in young leaves

2.2 锰对甘蔗铁吸收和分布的影响

过多的 Mn 显著抑制甘蔗对铁的吸收(图 4)。由图 4 可知，250、500 μmol • L⁻¹锰处理 24 d 后，甘蔗铁的吸收量每株分别为(4.40±0.45)、(3.98±0.45) mg，与对照(4.86±0.57) mg 相比每株少 0.46、0.88 mg。锰处理浓度增加至 750 μmol • L⁻¹后，每株植株铁吸收量(3.22±0.03) mg 显著低于对照处理。

锰胁迫环境下，甘蔗根系和茎中铁的含量显著增加(表 1)。从表 1 看出，250～750 μmol • L⁻¹锰处理后，根中铁含量增加至(260.0±7.30)～(290.0±5.73) mg • kg⁻¹DW，而茎中铁含量增加至(108.7±5.41)～(132.8± 5.70) mg • kg⁻¹ DW，分别比对照

图 3　对照(CK)及锰处理后幼叶黄化的甘蔗（Mn）

Fig. 3　Sugarcane with chlorosis leaves after treatment with excessive Mn (Mn) or not(CK)

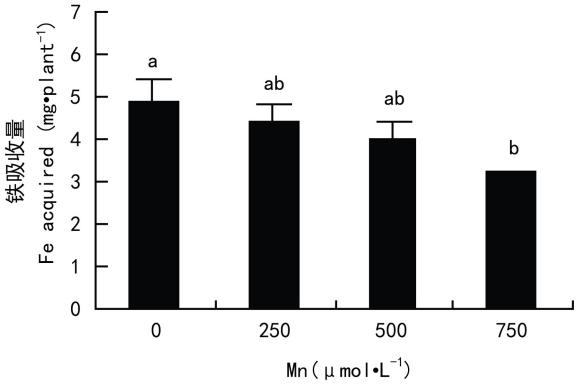

图 4　锰对铁吸收的影响

Fig. 4　Effect of Mn on Fe aquisition.

表 1　锰胁迫下甘蔗不同器官中铁含量（μmol • kg⁻¹ DW）

Table 1　Fe content in organs of sugarcane under Mn stress

Mn (μmol • L⁻¹)	根 Root	茎 Stem	老叶 Old leaf	幼叶 Young leaf
0	248.0±4.3d	107.5±1.5c	234.6±3.7a	143.9±1.9a
250	260.0±7.3c	108.7±5.4c	229.6±5.6a	128.6±3.1b
500	271.9±7.7b	117.4±5.2b	189.2±2.3b	125.1±5.4b
750	290.0±5.7a	132.8±5.7a	152.4±5.0c	116.8±3.5c

处理的高 4.84%～16.94%和 0.93%～23.15%。然而，Mn 胁迫环境下，叶片中铁的含量均显著降低。250、500、750 μmol • L⁻¹锰处理后，幼叶中铁的含量分别下降至(128.6±3.13)、(125.1±5.44)、(116.8±3.48) mg • kg⁻¹ DW，均显著低于对照(143.9±1.90) mg • kg⁻¹。这说明过多的锰增加铁在根、茎中的沉积而减少铁在叶片中的分布。

2.3 过多的锰对幼叶铁活性的影响

过多锰胁迫下甘蔗幼叶活性铁的含量显著降

低，且有随着锰处理浓度增加而降低的趋势(图 5)。250～500 μmol·L^{-1}锰处理后，幼叶中活性铁与铁含量之比 Fe(H)/Fe 和对照处理的相当(表 2)。当锰处理浓度增至 750 μmol·L^{-1}时，Fe(H)/Fe(0.14±0.02)比值显著降低。这说明过多的锰不仅使甘蔗幼叶中活性铁含量降低，而且导致铁活性降低。在锰胁迫下甘蔗幼叶中的活性铁含量与叶绿素含量呈直线正相关(图 6)。可见，过多锰胁迫下，甘蔗叶片失绿与叶片中活性铁含量减少密切相关。

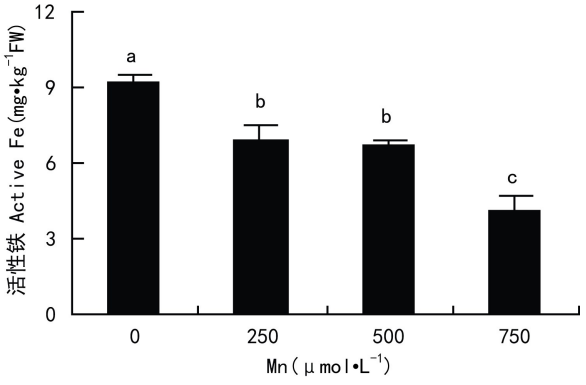

图 5 过多的锰对甘蔗幼叶活性铁含量的影响
Fig. 5 Effects of excessive Mn on the content of active iron in younger leaves

表 2 过多的锰对幼叶铁活性与全铁、锰比值的影响
Table 2 Effects of excessive Mn on Fe (H)/Fe and Fe (H)/Mn in younger leaves

比值 Ratio	Mn (μmol·L^{-1})			
	0	250	500	750
Fe(H)/Fe	0.21±0.01a	0.20±0.02a	0.20±0.01a	0.14±0.02b
Fe(H)/ Mn	0.71±0.07a	0.04±0.00b	0.02±0.00b	0.01 ±0.00b

3 讨论与结论

本研究发现，过多的锰抑制甘蔗对铁的吸收，增加铁在甘蔗根系和茎中的沉积，减少铁向叶片的运输和累积，从而可诱导甘蔗幼叶失绿。锰胁迫下油菜根、茎、叶中的锰含量显著增加，而茎、叶中的铁含量显著降低(曾琦等，2004)。由于 Mn^{2+}、Fe^{2+}离子半径相似、电价相同，锰铁的拮抗作用可能是 Mn 影响植物铁吸收的重要因素(臧小平，1999)。生长介质中过多的锰不仅减少水稻铁的吸收，还增加铁在水稻根系的沉积(黎晓峰等，1996)。过多的锰也增加棉花根系中铁的含量(张西科等，1994)。可见，在

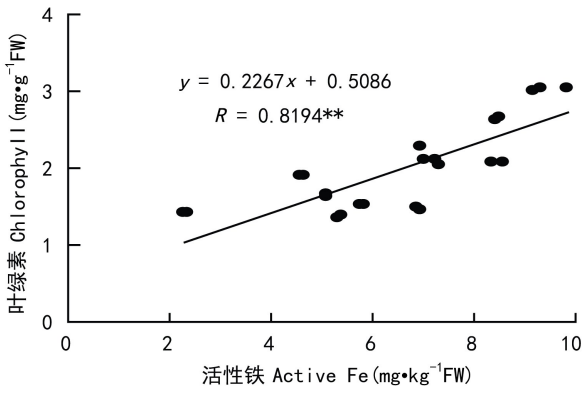

图 6 叶绿素与幼叶活性铁含量的相关性
Fig. 6 Relationship between chlorophyll content and active Fe in the younger leaves

锰胁迫下，甘蔗幼苗铁吸收受阻及铁在根系中的沉积可能是甘蔗幼叶失绿的主要因素。

铁是叶绿素合成必需的营养元素。锰处理能降低水稻叶片活性铁水平(黎晓峰等，1996)。本研究表明，过多的锰胁迫下，甘蔗叶片中的铁含量显著降低，活性铁含量也显著减少。叶片中活性铁含量与叶绿素含量呈显著正相关。可见，过多的锰胁迫下幼叶失绿可能与叶片中铁含量及活性降低引起的叶绿素合成受阻有关。

植物正常生长发育需要维持体内正常的铁锰平衡，锰在植株体内的毒性取决于体内铁锰的比值，体内活性铁与全锰的比值能更好地反映这种关系(黎晓峰等，1996)。本研究表明，在过多的锰胁迫下，甘蔗幼叶活性铁与全锰含量的比值极显著降低，说明甘蔗幼叶中铁锰平衡被破坏。Fe(H)/Mn 的比值与铁素营养关系密切(黎晓峰等，1996)。本研究发现，锰胁迫导致甘蔗幼叶 Fe(H)/Mn 的比值极显著降低。柑橘叶片 Fe(H)/Mn 的比值与失绿的关系明显(黎晓峰等，1996)。可见，过多的锰胁迫下幼苗缺铁黄化可能与植株中铁锰平衡失调有关。由此可推断，增加铁的供应、调控植株的铁锰平衡是克服酸性土壤中锰过多引起的失绿问题的可能途径。

综上表明，生长介质中过多的锰会减少植株对铁的吸收和铁向叶片的运输，同时降低叶片中铁的含量和活性，引起植株中锰铁平衡失调，导致甘蔗幼叶缺铁失绿。

参考文献：

Alam S, Kamei S, Kawai S. 2001. Amelioration of manganese toxicity in barley with iron[J]. *J Plant Nutr*, **24**(9): 1 421－1 433

Chen ZJ(陈志坚), Yan W(严炜), Sun LL (孙丽莉), *et al*. 2011. E*ffects of manganese toxicity on plant growth*, *acquisition* of iron and magnesium in *Stylosanthes guianensis* seedling(锰毒对柱花草苗期生长及铁镁吸收的影响)[J]. *Chin J Trop Crops*, **32**(1):142－146

Führs H, Behrens C, Gallien S, *et al*. 2010. Physiological and proteomic characterization of manganese sensitivity and tolerance in rice(*Oryza sativa*)in comparison with barley(*Hordeum vulgare*)[J]. *Ann Bot*, **105**: 1 129－1 140

He YQ (何勇强), Lu SN (陆申年), Li GB (黎耿碧). 1996. The manganese toxicity to pineapple in lateritic red earth from deserted manganese mine district in pot experiment(废矿还耕锰矿区土壤上菠萝锰毒害的研究)[J]. *Agro Environ Prot*, **15**(1): 15－18

Li XF (黎晓峰), Gu MH (顾明华), Bai HY (自厚义), *et al*. 1996. Studies on the relationship between iron nutrition and manganese toxicity in paddy rice(水稻锰毒与铁素营养关系的研究)[J]. *J Guangxi Agric Univ*, **15**(3):190－194

Li YR(李杨瑞), Mao LX(毛吕祥), Tang QZ(唐其展), *et al*. 2010. Summing up the proceedings of international workshop on declining cane sugar production in Asian countries 2008－2009: reasons and remedies("2008－2009 亚洲国家蔗糖产量降低的原因及应对措施"国际学术研讨会综述)[J]. *Guangxi Agric Sci*, **41**(1): 80－84

Long GX (龙光霞), Huang YL (黄瑜岚), He H (何红), *et al*. 2011. Characterizing nutrient status of soils causing chlorosis in sugarcane seedlings(甘蔗幼苗失绿的土壤营养特性初探)[J]. *J S Agric Sci*, **42**(8):931－934

Tang SR(唐仕云), Tan YM (谭裕模), Yang RZ (杨荣仲), *et al*. 2009. Effect of trace element fertilizer on yellow and white seedling of ratoon cane(喷施微肥对宿根甘蔗黄白苗的影响)[J]. *J Anhui Agric Sci*, **37**(30):14 648－14 649

Wen JC (文建成), Tang L(汤利) , Tan XL(谭学林), *et al*. 2010. Variation of Fe and Zn concentrations in japonica rice grown at varied environments and different levels of fertilizer application(种植环境和施氮水平影响粳稻稻米铁、锌矿质元素含量)[J]. *Crops*, **1**: 61－65

Wu KC(吴凯朝), Liang J(梁俊), Wei LP(韦莉萍), *et al*. 2011. Effects of nitrogen fixing bacteria on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sugarcane at elongating stage(内生固氮菌对甘蔗伸长期光合生理特性的影响)[J]. *Guihaia* , **31**(5): 668－673

Yan W (严炜), Liu GD (刘国道), Tian J (田江). 2010. Effects of manganese availability on acquisition and distribution of manganese, iron and phosphorus in soybean *Glycine max* (L.) Merr.(锰有效性对大豆锰、铁和磷吸收及其分布的影响)[J]. *Plant Physiol Comm*, **46**(9): 923－927

Yin W (尹文彦), Yao YA (姚银安). 2011. Effects of Mn toxicity on contents of mineral elements in grape plants(锰毒害对葡萄植株矿质元素含量的影响)[J]. *Guizhou Agric Sci*, **39**(7): 213－215

Zang XP (臧小平). 1999. Manganese in soils and manganese toxicity to plants(土壤锰毒与植物锰的毒害)[J]. *Chin J Soil Sci*, **30**(3): 139－141

Zhang XK(张西科), Zhang FS(张福锁), Mao DR(毛达如). 1994. Reasearch progress of manganese toxicity in plants(植物锰中毒研究进展)[J]. *Prog Soil Sci*(土壤学进展), **20**(5):13－21

Zeng Q (曾琦), Geng MJ (耿明建), Zhang ZJ (张志江), *et al*. 2004. Effects of Mn toxicity on the content of Mn , Ca , Fe and the activities of POD and CAT in *Brassica napus* at Seedling Stage(锰毒害对油菜苗期 Mn、Ca、Fe 含量及 POD、CAT 活性的影响)[J]. *J Huazhong Agric Univ*, **23**(3): 300－303

(上接第 847 页 Continue from page 847)

novel type of inorganic pyrophosphatase [J]. *Biochim Biophys Acta*, **1 810**(2):178－185

Ohi MD, Vanderkooi CW, Rosenberg JA, *et al*. 2003. Structural insights into the U-Box, a domain associated with multi-ubiquitination[J]. *Nat Struct Biol*, **10**(4):250－255

Pace DA, Fang J, Cintron R, *et al*. 2011. Overexpression of a cytosolic pyrophosphatase (*TgPPase*) reveals a regulatory role of PP(i) in glycolysis for *Toxoplasma gondii*[J]. *Biochem J*, **440**(2):229－240

Qin XM(秦新民), Li HM(李惠敏), Xue MN(薛妙男), *et al*. 2004. Two-dimensional electrophoresis of self and non-self pollinated pollen tube proteins of Shatianyu(沙田柚自交,异交花粉管蛋白的双向电泳分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **24**(6):566－569

Qin XM(秦新民), Xiong J(熊军), Yang J(阳晶), *et al*. 2008. Construction and analysis of suppression subtractive hybridization library related to gametophytic self-incompatibility in style of *Citrus grandis* var. *shatianyu*(沙田柚配子体自交不亲和花柱消减文库的构建及分析)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), **16**(5):425－429

Qin XM(秦新民), Mo HN(莫花浓), Shi JP(石菁萍), *et al*. 2009. Immunogold localization of S 1-RNase in pollen tube of *Citrus grandis* var. *shatianyu*(沙田柚花粉管 S1-RNase 免疫胶体金定位研究)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **40**(5):483－485

Rudd JJ, Franklin FCH, Lord JM, *et al*. 1996. Increased phosphorylation of a 26 kD pollen protein is induced by the self incompatibility response in *Papaver rhoeas* [J]. *Plant Cell*, **8**(4):713－724

Rudd JJ, FranklinTong VE. 2003. Signals and targets of the self-incompatibility response in pollen of *Papaver rhoeas*[J]. *J Exp Bot*, **54**(380):141－148

Takayama S, Isogai A. 2005. Self-incompatibility in plants[J]. *Ann Rev Plant Biol*(S1040-2519), **56**:467－489

Xue MN(薛妙男), Chen TT(陈腾土), Yang JH(杨继华). 1995. Observations on self and cross-compatibility in Shatianyu(沙田柚自交和异交亲和性观察)[J]. *Acta Hortic Sin*(园艺学报), **22**(2):127－132

Xue MN(薛妙男), Li YP(李义平), Zhang XH(张杏辉), *et al*. 2001. Immuno-gold localization of recognition prorein in the self-pollination style of Shatianyu(沙田柚自交花柱中识别蛋白的免疫金定位)[J]. *Acta Hortic Sin*(园艺学报), **28**(1):59－61

Yang JH(杨继华), Rao GR(尧桂荣), Xue MN(薛妙男). 2001. Purification and amino-terminal sequencing of style S-glycoproteins in *Cituus grandis* var. *shatianyu*(沙田柚花柱 S-糖蛋白的纯化和 N-端序列测定)[J]. *J Guangxi Norm Univ*(广西师范大学学报), **19**(1):72－79