

草莓果实采后 NAD 激酶活性与 NAD (H)、NADP (H) 含量及活性氧代谢的关系

顾采琴^{1, 2}, 朱冬雪³, 李 棋¹

(¹贵州大学食品科学系, 贵阳 550025; ²广州大学食品科学系, 广州 510405, ³贵州大学农业生物工程重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 【目的】研究草莓采后成熟衰老过程中NADK活性与NAD (H)、NADP (H) 及活性氧代谢和膜氧化产物变化的关系, 以探讨NADK在非跃变型果实成熟衰老过程中的作用, 为调控果实的成熟衰老提供理论依据。【方法】将从果园采回的草莓果实贮藏于不同的温度下并进行每天取样, 研究草莓果实在低温 (4℃)、常温 (20℃) 贮藏期间成熟衰老过程中NAD激酶 (NADK) 活性及其底物NAD (H)、产物NADP (H) 以及超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 、过氧化氢 (H_2O_2)、膜氧化产物丙二醛 (MDA) 含量的变化并分析NADK 与上述指标的关系。【结果】草莓果实在低温 (4℃) 贮藏时, 其NADK活性比常温 (20℃) 贮藏的高, NAD (H) 含量则相应比常温贮藏的低, NADP (H) 含量则高于常温下的; 同时, 在常温贮藏期间果实 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率和 H_2O_2 含量、膜氧化产物MDA含量均比低温贮藏的高, 暗示NADK可能通过影响NAD (H)、NADP (H) 的含量及比例来调控 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率和 H_2O_2 含量, 从而调控果实的成熟衰老。【结论】非跃变型果实草莓采后成熟衰老过程中, 保持较高的NADK活性有利于延缓果实的成熟衰老, 降低NADK活性可导致NAD和NAD (H) 含量的积累, 进而加速电子传递, 产生大量的活性氧 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 , 从而促进膜过氧化作用和积累较多的MDA, 最终导致果实衰老变质。

关键词: 草莓; 成熟衰老; NAD 激酶; NAD (H); NADP (H); 活性氧

Relationship Between NAD Kinase and NAD(H), NADP(H) and Active Oxygen during Ripening and Senescence of Postharvested Strawberry Fruit

GU Cai-qin^{1, 2}, ZHU Dong-xue³, LI Qi¹

(¹ Department of Food Science, Guizhou University, Guiyang 550025; ² Department of Food Science, Guangzhou University, Guangzhou 510405; ³ Key Laboratory of Agriculture Biology Engineer, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract: 【Objective】 Studies on the relationship between NAD Kinase and NAD(H), NADP(H) and active oxygen during ripening and senescence of post-harvested strawberry fruit were conducted to investigate the function of NADK during ripening and senescence of non-climactic fruit. 【Method】 Strawberry fruit was harvested from the orchard and stored at different temperature. The changes of NADK activity, the content of NAD(H), NADP(H), H_2O_2 and malondialdehyde(MDA), and $O_2^{\cdot-}$ production rate during ripening and senescence of post-harvested strawberry fruit at 4℃ and 20℃ were investigated by sampling everyday and analyzing the relationship between NAD Kinase and others. 【Result】 The NADK activity and the NADP(H) content of strawberry fruit at low temperature (4℃) were higher than those at 20℃, however, the NAD (H) content at 4℃ was lower than that at 20℃. Meanwhile, the $O_2^{\cdot-}$ production rate and the H_2O_2 and MDA content at 4℃ were lower than those at 20℃. The results suggested that NADK might be involved in ripening and senescence of post-harvest strawberry fruit by regulating the content and proportion of NAD (H) and NADP(H), the $O_2^{\cdot-}$ production rate and content of H_2O_2 . 【Conclusion】 Keeping high activity of NADK was beneficial to postpone the ripening and senescence of non-climactic fruit after harvested. Reducing activity of NADK led to probably accumulation of NAD and NAD (H) to promote transduction of electron, to produce large amount of active oxygen $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 , to enhance super-oxidation of membrane, to enhance accumulation of MDA and in the ripening and senescence of fruit.

Key words: Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.); Ripening and senescence; NAD kinase; NAD(H); NADP(H); Active oxygen

收稿日期: 2006-03-10; 接受日期: 2006-09-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30360069), 贵州大学博士基金项目

作者简介: 顾采琴 (1964-), 女, 贵州人, 教授, 博士, 研究方向果蔬采后生理方面的教学和科研。Tel: 020-31876152; E-mail: gucaiqin86@163.com

0 引言

【研究意义】草莓是典型的非跃变型果实, 其采后成熟衰老非常迅速, 探讨草莓采后成熟衰老过程中 NADK 活性与 NAD (H)、NADP (H) 及活性氧代谢和膜氧化产物变化的关系, 对于认识 NADK 在非跃变型果实成熟衰老过程中的作用以及为进一步调控果实的成熟衰老具有重要意义。【前人研究进展】NAD 激酶 (NADK) 是目前所发现的生物体内惟一催化 NAD 磷酸化生成 NADP 的酶^[1]。生物体内的 NAD 和 NADP 至少参与 300 多个不同的氧化还原反应。NADH、NADPH 在电子传递过程中, 均会产生 O_2^- 和 H_2O_2 , 促进膜的氧化^[2-3], 从而加速植物的衰老。生物氧化是果实成熟衰老过程中的主要生理活动之一, 大量研究表明, 活性氧代谢失调是导致果实衰老的重要原因^[4,5]。据报道, 草莓果实采后常温下 O_2^- 产生速率比低温下快^[5]; 其成熟衰老过程与 NADK 有关^[6]。

【本研究切入点】NADK 是否与活性氧代谢有关尚未见报道。【拟解决的关键问题】本研究在原有研究的基础上进一步探明草莓采后成熟衰老过程中 NADK 与活性氧代谢的关系, 以期明确 NADK 在非跃变型果实成熟衰老过程中的作用, 也为活性氧的产生和调控提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

2005 年 4 月从花溪磊庄温室大棚采回新鲜草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.), 品种为香甜。经挑选后, 将单果分别置于纸托盘的洼坑中, 每盘装约 50 个, 共装 26 盘。再将托盘分别直接放入 20℃ 和 4℃ 环境下贮藏 (每种温度下放 13 盘), 相对湿度约为 90%。每天取样 1 次, 直到果实出现轻微腐烂为止。每次随机取果 250 g, 去皮后捣碎, 混匀, 称重, 然后用液氮速冻, 放入 -80℃ 冰箱中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 NADK 活性的测定 取 10 g 草莓, 在冰浴下用 10 ml 提取液 (Tris-HCl, 50 mmol·L⁻¹, pH 7.8) 研磨, 在 4℃、39 000×g 离心 30 min, 取 0.1 ml 上清液加 0.4 ml 反应液 (0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl, 10 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 3 mmol·L⁻¹ ATP, 2 mmol·L⁻¹ NAD, pH 8.0) 于 37℃ 下保温 60 min 后, 煮沸 5 min, 经 5 000×g 离心后待用。生成物 NADP 测定参照文献正常进行。所有测定至少重复 3 次。

1.2.2 蛋白含量测定 参照 Bradford^[8] 的方法, 以 BAS 为标准蛋白。重复 3 次。

1.2.3 NADP、NADPH、NAD 和 NADH 的测定 均参照文献[7]并作适当修改: 取样液 10 μl, 加入 200 μl 混合液 (1 mol·L⁻¹ Tricine-NaH, 40 mmol·L⁻¹ EDTA, 4.2 mmol·L⁻¹ MTT, 16.6 mmol·L⁻¹ PES, 25 mmol·L⁻¹ G-6-P 或 5.0 mol·L⁻¹ 乙醇), 再加入 150 μl 0.1 mol·L⁻¹ NaCl, 于 37℃ 恒温水浴中保温 5 min, 取出放入冰浴中加入 50 μl 6-磷酸葡萄糖脱氢酶或乙醇脱氢酶, 再于 37℃ 恒温水浴中培养 40 min, 取出加入 200 μl 6 mol·L⁻¹ NaCl 溶液终止反应, 接着离心 (12 600×g, 常温 15 min), 弃掉上清液, 沉淀用 1.5 ml 95% 乙醇溶解, 待沉淀振荡完全溶解后于 570 nm 处测定 OD 值。

1.2.4 H_2O_2 、超氧阴离子 (O_2^-) 和丙二醛的测定参照文献[9]进行。

2 结果与分析

2.1 草莓果实采后成熟衰老过程中 NADK 活性的变化

由图 1 可见, 采后草莓果实在低温 (4℃) 下贮藏时 NADK 活性呈逐渐下降趋势, 到第 7 天时, 酶活性下降了 36.3%, 第 8 天以后又回升到起始值; 在 20℃ 下时果实 NADK 活性也表现为下降趋势, 而且酶活性始终比 4℃ 的低, 二者差异达显著水平 ($P < 0.05$), 说明低温贮藏抑制了草莓果实 NADK 活性的下降。

2.2 NAD 含量的变化

NAD 是 NADK 作用的底物, 在 NADK 催化下发生磷酸化反应生成 NADP。由图 2 可知, 采后草莓果实在 20℃ 下贮藏, 其 NAD 含量比低温 (4℃) 的高, 二者差异达显著水平 ($P < 0.05$), 两种温度下 NAD 的变化趋势与 NADK 的变化趋势相反。

2.3 NADP 含量的变化

NADP 是 NAD 磷酸化的产物。由图 3 可见, 草莓采后在低温 (4℃) 下贮藏时, 由于 NADK 活性比常温 (20℃) 贮藏的高, 所以其 NADP 的含量也相应高于常温下的, 二者差异达显著水平 ($P < 0.05$), 图 1、图 2 和图 3 均表现出较好的吻合性。

2.4 NADH 含量的变化

NADH 是 NAD 从电子传递体上获得电子后的还原态形式, 在电子传递过程中又继续将电子传给电子受体。由图 4 知, 采后草莓果实在低温 (4℃) 贮藏时 NADH 含量比常温 (20℃) 贮藏的低, 前 4 d 持续保持上升趋势, 高于初始值 23%, 第 5 天后表现下降趋势; 常温 (20℃) 下 NADH 的变化趋势与低温 (4℃)

下相似，到采后第3天，比初始值高出40%，以后则表现下降趋势。总的趋势看，常温(20℃)贮藏的NADH含量比低温(4℃)贮藏的高，二者差异达显著水平($P < 0.05$)，与图2 NAD的变化趋势一致。

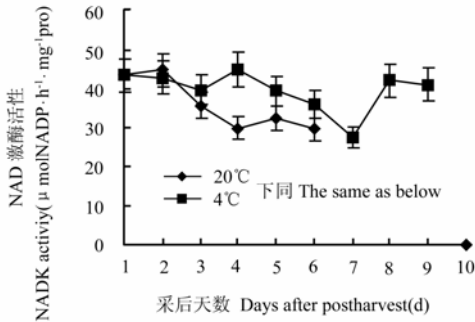


图1 草莓采后成熟衰老过程中NADK活性的变化
Fig. 1 The changes of NADK kinase activity during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

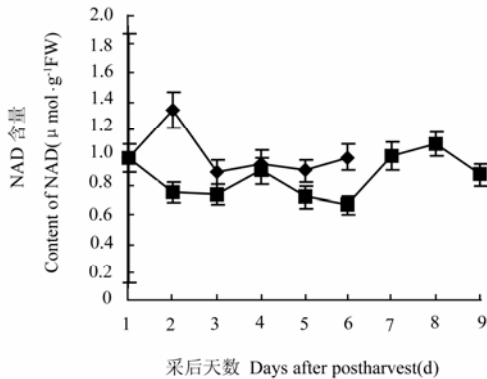


图2 草莓采后成熟衰老过程中NAD含量的变化
Fig. 2 The changes of NAD content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

2.5 NADPH含量的变化

NADPH也是NADP从电子传递体上获得电子后的还原态形式，继续将电子传给电子受体。由图5可见，草莓采后在低温(4℃)贮藏时，其NADPH的含量明显高于常温下的，二者差异达显著水平($P < 0.05$)，前4 d均高于初始值，呈逐渐上升趋势，最高时超出初始值35%，然后，呈下降趋势；常温(20℃)贮藏时NADPH含量总的呈下降趋势。

2.6 O₂⁻生成速率的变化

O₂⁻和H₂O₂均属活性氧，被认为是植物代谢过程中的毒副产品，能引起植物体内大分子物质如脂类、

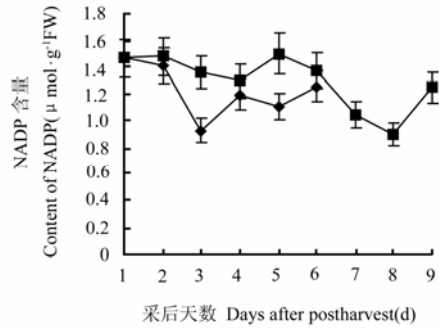


图3 草莓采后成熟衰老过程中NADP含量的变化
Fig. 3 The changes of NADP content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

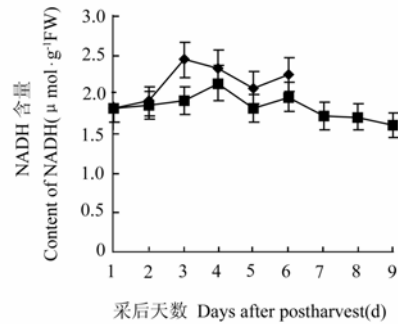


图4 草莓采后成熟衰老过程中NADH含量的变化
Fig. 4 The changes of NADH content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

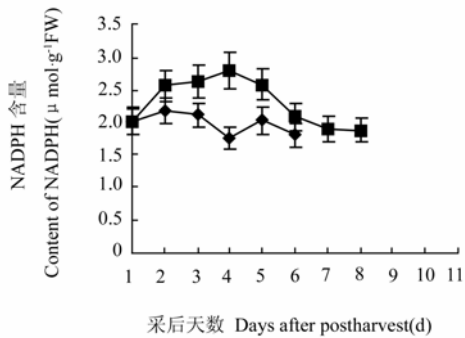


图5 草莓采后成熟衰老过程中NADPH含量的变化
Fig. 5 The changes of NADPH content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

蛋白质及DNA的损伤^[10]。由图6可见，在4℃下贮藏时，前2 d，O₂⁻的生成速率变化缓慢，第3、4天突然上升，比初始值高约30%，第5、6天下降至初始值，后期又略有上升；常温(20℃)贮藏时O₂⁻的生成速率

明显高于低温下的, 变化趋势与低温下的相似。采后前 4 d 呈上升趋势, 高峰值比初始值高出 1 倍, 然后快速下降。可见, 低温贮藏能明显抑制 O_2^- 的生成速率, 二者差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

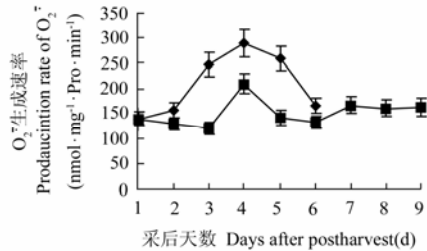


图 6 草莓采后成熟衰老过程中 O_2^- 生成速度的变化

Fig. 6 The changes of O_2^- production rate during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

2.7 H_2O_2 含量的变化

由图 7 可见, 草莓采后低温 (4°C) 贮藏时 H_2O_2 含量比常温贮藏的低, 但二者差异不明显 ($P \geq 0.05$), 随着果实的衰老, 两种温度下 H_2O_2 的含量均呈缓慢上升趋势, 但变化幅度不如 O_2^- 。可见, 草莓果实衰老过程活性氧的产生以 O_2^- 为主。

2.8 MDA 含量的变化

由图 8 可见, 草莓在低温 (4°C) 贮藏时, MDA 的含量比常温贮藏的低, 整个贮藏期变化较平缓。常温 (20°C) 下, 前 3 d MDA 的含量保持上升趋势, 第 3 天高于初始值约 30%, 之后下降, 贮藏第 6 天与低温下的接近。可见, 常温贮藏时草莓果实膜脂过氧化作用比低温下的强, 二者差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

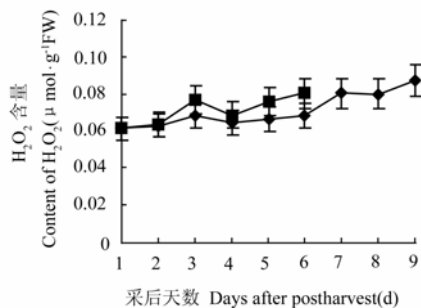


图 7 草莓采后成熟衰老过程中 H_2O_2 含量的变化

Fig. 7 The changes of H_2O_2 content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

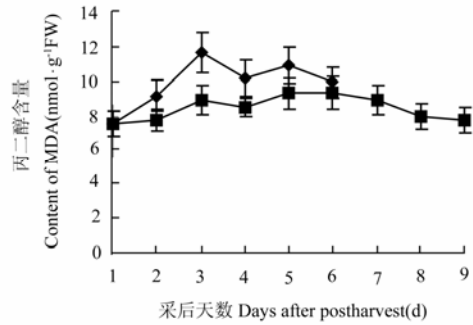


图 8 草莓采后成熟衰老过程中 MDA 含量的变化

Fig. 8 The changes of MDA content during ripening and senescence of postharvest strawberry fruit

3 讨论

非跃变型果实草莓成熟过程与多种生理生化变化有关^[11]。图 1 结果表明, 草莓果实采后成熟衰老过程中 NADK 活性呈下降趋势, 而低温 (4°C) 贮藏的比常温 (20°C) 贮藏的果实保持较高的 NADK 活性, 这暗示保持较高的 NADK 活性有利于延缓果实的成熟衰老, 这可能是低温延缓草莓采后成熟衰老的原因之一。NAD 激酶是受钙调素 (CaM) 激活的重要酶之一^[12], 因此草莓在低温下贮藏后期 NADK 活性回升可能与草莓 CaM 含量的升高^[5]有关, 其生理机制有待于进一步探讨。

NADK 催化 NAD 与 ATP 生成 NADP^[1]。NAD 与 NADP 是细胞溶质中起关键作用的氧化剂, 它们含量的改变不仅引起细胞氧化还原状态的改变, 而且引起细胞信号转导途径的改变^[13]。NAD 主要参与糖酵解 (EMP) 和三羧酸循环 (TCA), NADP 则主要参与磷酸戊糖途径 (ppp)^[14]。有研究表明, NAD 能促进三羧酸循环中苹果酸的氧化^[15]。图 2、图 3 显示, 低温贮藏的 NAD 含量比常温贮藏的低, NADP 含量则比常温贮藏的高, 由此可推测低温可能诱导了草莓的 ppp 途径提高, 常温下的呼吸则可能以 EMP、TCA 途径为主, 这与高温能提高甜樱桃休眠芽 EMP 比率、降低 ppp 比率、低温下 ppp 途径得以活化的结论相似^[16]。由于 EMP 和 TCA 是呼吸作用的主干线, ppp 是支路, 所以, 低温下草莓呼吸若以 ppp 途径为主, 其呼吸强度必定比常温下以 EMP、TCA 为主要途径的呼吸强度低^[17], 呼吸消耗少, 相应贮藏寿命得以延长。可见, NADK 通过改变草莓的 NAD 与 NADP 比例可能改变其呼吸途径, 从而改变呼吸代谢速率。

NADH是NAD获得电子后的还原态形式,作为电子供体进一步参与电子传递。同理,NADP与NADP(H)的关系亦如此。研究认为,植物处于氧化胁迫时,NADPH在平衡植物细胞氧化还原方面起很重要的作用^[18]。通常NADH、NADPH的含量高低可被分别用来评价糖酵解和PPP途径代谢的强弱^[19]。NADH、NADPH在电子传递过程中,均会产生 O_2^- 和 H_2O_2 ,促进膜的氧化^[2,3]。有报道表明,在玫瑰培养细胞中,加入NADH和酚类化合物(如水杨酸)能刺激 H_2O_2 的产生^[20]。但NADH比NADP(H)传递电子的速率快^[2]。有研究观察到,当NADPH含量下降时,导致细胞的抗氧化机理遭到破坏,引起细胞逐渐死亡或凋亡^[21]。图4、图5结果显示,常温下NADH含量比低温下高,而NADP(H)却比低温下低,这可能导致常温下草莓电子传递的速率比低温下快,抗氧化能力降低,产生的活性氧也比低温下多,图6、图7的结果显示,草莓采后常温下活性氧 O_2^- 的产生速率和 H_2O_2 含量均比低温下高,进一步证明了这一结论。这些结果表明,当NADH和NADPH的比例发生变化时,细胞的氧化速率也随之改变。

O_2^- 和 H_2O_2 均可引起细胞膜发生过氧化和植物体内大分子物质如脂类、蛋白质及DNA损伤^[9]。最近,人们发现 O_2^- 也是植物细胞死亡过程中的信号分子,它在植物体死亡区的积累已有人观察到^[22]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,其含量的高低反映了膜发生过氧化的程度。研究结果(图8)表明,由于常温下草莓的 O_2^- 、 H_2O_2 含量比低温下的高,相应MDA含量亦高,因此,常温下膜受损程度和果实衰老程度也相应比低温下的高。

4 结论

非跃变型果实草莓采后成熟衰老过程中,保持较高的NADK活性有利于延缓果实的成熟衰老,降低NADK活性可导致NAD和NAD(H)含量的积累,进而加速电子传递,产生大量的活性氧 O_2^- 和 H_2O_2 ,从而促进膜过氧化作用,积累较多的MDA,最终导致果实衰老变质。

References

- [1] Mcguinness E T, Butler J R. NAD kinase -a review. *International Journal of Biochemistry*, 1985, 17(1): 1-11.
- [2] 孙大业, 郭艳林, 马力耕. 细胞信号转导. 北京: 科学出版社, 1999: 91-103, 195-200.
- [3] Sun D Y, Guo Y L, Ma L G. *Cell Signal Transduction*. Beijing: Science Press, 1999: 91-103, 195-200. (in Chinese)
- [4] Peter S, Claudia P, Gittea F. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. *Plant Physiology*, 2001, 125: 1591-1602.
- [5] 王爱国. 植物的氧代谢. 见: 余叔文, 汤章诚. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1998.
- [6] Wang A G. The oxygen metabolism of plant. In: Yu S W, Tang Z C. *Plant Physiology and Molecular Biology*. Beijing: Science Press, 1998. (in Chinese)
- [7] 关军锋, 高敏, 樊秀彩, 顾采琴, 李广敏, 张继澍. 草莓果实成熟衰老与 Ca^{2+} 、CaM、 Ca^{2+} -TAPase和活性氧代谢的关系. 中国农业科学, 2002, 35: 1385-1389.
- [8] Guan J F, Gao M, Fan X C, Gu C Q, Li G M, Zhang J S. Relationship between maturation, senescence and Ca^{2+} , CaM content, Ca^{2+} -ATPase, and active oxygen metabolism in strawberry fruits. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35: 1385-1389. (in Chinese)
- [9] 顾采琴, 关军锋, 席均芳, 李广敏. 草莓和番茄果实采后NAD激酶、NADP磷酸酶活性变化的研究. 中国农业科学, 2002, 35: 1381-1384.
- [10] Gu C Q, Guan J F, Xi Y F, Li G M. Changes of activities in NAD kinase and NADP phosphatase in postharvested tomato and strawberry fruits. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35 (11): 1381-1384. (in Chinese).
- [11] Gibon Y, Larher F. Cycling assay for nicotinamide adenine dinucleotides: NaCl precipitation and ethanol solubilization of the reduced tetrazolium. *Analytical Biochemistry*, 1997, 251: 153-157.
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [13] 吕成群, 黄宝灵. 渗透胁迫下钙对巨尾桉苗木生长和保护酶及膜脂过氧化的影响. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(1): 63-68.
- [14] Lu C Q, Hang B L. Effect of calcium on the growth, the protective enzymes activity and membrane lipid peroxidation in *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* seedlings under osmotic stress. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2004, 12 (1): 63-68. (in Chinese)
- [15] 田敏, 饶龙兵, 李纪元. 植物细胞中的活性氧及其生理作用. 植物生理学通讯, 2005, 41: 235-241.
- [16] Tian M, Rao L B, Li J Y. Reactive oxygen species (ROS) and its physiological functions in plant cells. *Plant Physiology*

- Communications*, 2005, 41: 235-241. (in Chinese)
- [11] 顾采琴, 朱冬雪. 草莓成熟过程中生理生化特性的变化. 山地农业生物学报, 1998, 17: 345-348.
Gu C Q, Zhu D X. The physiologic and biochemical changes of strawberry during maturation. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 1998, 17: 345-348. (in Chinese)
- [12] Roberts D M, Harmon A C. Calcium modulated proteins: targets of intracellular calcium signal in high plant. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 1992, 43: 375-414.
- [13] Graham N. Metabolic signalling in defence and stress: the central roles of soluble redox couples. *Plant Cell & Environment*, 2006, 29: 409-425.
- [14] Zerez C R, Moul D E, Gomez E G. Negative modulation of *Escherichia coli* NAD kinase by NADPH and NADH. *Journal of Bacteriol*, 1987, 169 (1): 184-188.
- [15] Shugaev A G. Developmental changes in the NAD content in sugar-beet root mitochondria and their effect on the oxidative activity of these organelles. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2001, 48: 582-587.
- [16] 李霞, 李宪利, 高东升, 杨秀萍, 李萌. 温度对休眠期甜樱桃芽呼吸代谢影响的研究. 落叶果树, 2004, (3): 1-4.
Li X, Li X L, Gao D S, Yang X P, Li M. Influence of temperature on respiratory metabolism of sweet cherry dormant buds. *Deciduous Fruits*, 2004, (3): 1-4. (in Chinese)
- [17] Vicente A R, Martínez G A, Chaves A R, Civello P M. Influence of self-produced CO₂ on postharvest life of heat-treated strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 27: 265-275.
- [18] Raquel V, Corpas F J, Alfonso C, Gómez-Rodríguez M V, Mounira C, Pedrajas J R, Ana F O, Del Río L A, Barroso J B. The dehydrogenase-mediated recycling of NADPH is a key antioxidant system against salt-induced oxidative stress in olive plants. *Plant Cell and Environment*, 2006, 29: 1449-1459.
- [19] Blenkinsop R W, Copp L J, Yada R Y, Marangoni A G. Effect of chlorpropham (CIPC) on carbohydrate metabolism of potato tubers during storage. *Food Research International*, 2002, 35: 651-655.
- [20] Murphy T M, Auh C K. The superoxide synthases of plasma membrane preparations from cultured rose cells. *Plant Physiology*, 1996, 110: 621-629.
- [21] Klaidman L K, Mukherjee S K, Adams J J D. Oxidative changes in brain pyridine nucleotides and neuroprotection using nicotinamide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1525: 136-148.
- [22] Hensley K, Robinson K A, Gabbita S P, Salsman S, Floyd R A. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28: 1456-1462.

(责任编辑 曲来娥)