

金沙江干热河谷地区麻疯树单粒种子核糖体失活蛋白含量及其与种子性状的相关性

谢瑜, 蔡峰, 邵子静, 吉柔风, 赵欣平, 徐莺*, 陈放

(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部国家重点实验室, 成都 610064)

摘要: 对金沙江干热河谷地区麻疯树(*Jatropha curcas* L.)种子中具有抗肿瘤活性的核糖体失活蛋白 curcin 含量及其生物学性状进行研究。结果表明,用酶联免疫吸附法测定麻疯树单粒种子的 curcin 含量为 0.275~3.183 mg g⁻¹,平均(1.369±0.055) mg g⁻¹。Pearson 相关性分析表明:单粒麻疯树种子的 curcin 含量与种子其他性状的相关性均未达显著水平,但与种子质量、种仁质量及含油量存在一定程度的负相关,而与出仁率和可溶性蛋白含量存在一定的正相关,且与可溶性蛋白含量的正相关系数(0.190)和与含油率的负相关系数(-0.177)较高。这表明可在金沙江干热河谷地区开展高 curcin 含量麻疯树种质资源收集和选育工作,以及培育高含油量、高 curcin 含量的双高品种,以提高麻疯树生物燃油产业的综合效益。

关键词: 麻疯树; 核糖体失活蛋白; Curcin; 生物学性状; 金沙江干热河谷

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.05.001

Curcin Content of *Jatropha curcas* Seeds and Its Correlation with Seed Traits in Dry-hot Valley of Jinsha River

XIE Yu, CAI Feng, SHAO Zi-jing, JI Rou-feng, ZHAO Xin-ping, XU Ying*, CHEN Fang

(Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment, Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Curcin content and some seed traits of *Jatropha curcas* seed collected from Dry-hot Valley of Jinsha River were determined. The results showed that curcin content by Enzyme-linked immunosorbent assay ranged from 0.275 to 3.183 mg g⁻¹ with average of (1.369±0.055) mg g⁻¹. Pearson correlation analysis indicated that curcin content had no significant correlations with some seed traits, such as seed weight, kernel weight, oil content, seed-kernel rate and soluble protein content. There were a certain negative correlation between curcin content and seed weight, kernel weight and oil content, on the contrary, curcin content had a certain positive correlation with seed-kernel rate and soluble protein content. It suggested that germplasm collection and breeding with high curcin content of *Jatropha curcas* could perform in Dry-hot valley of Jinsha River, and breed new variety with high oil and curcin contents of *Jatropha curcas*, so as to improve comprehensive efficiency of *Jatropha curcas* bio-fuel industry.

Key words: *Jatropha curcas*; Ribosome-inactivating protein; Curcin; Biological characteristics; Dry-hot valley of Jinsha River

麻疯树(*Jatropha curcas* L.)为大戟科(Euphorbiaceae)麻疯树属多年生半肉质小乔木或大灌木^[1],主要分布在热带和亚热带地区。麻疯树种子含油

量高,品质好,因此其具有作为能源植物的开发价值^[2-3]。此外,麻疯树全株还含有多种活性成分,有着重要的农药和医药价值^[4-5]。

收稿日期: 2011-12-06 接受日期: 2012-04-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(31070301)资助

作者简介: 谢瑜, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学下游技术研究与应用。E-mail: xueyoo2000@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xuying@scu.edu.cn

核糖体失活蛋白(Ribosome-inactivating proteins, RIPs)是一类广泛存在于植物和真菌中的蛋白毒素,作用于真核细胞核糖体,抑制蛋白质合成^[6]。根据一级结构的不同, RIPs分为单链(I型)和双链(II型)两种^[7]。I型RIP分子量约26~30 kD,多数为碱性和糖蛋白^[8],如天花粉蛋白(trichosanthin)^[9]、美洲商陆(*Phytolacca Americana*)抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein, PAP)^[10]等。II型RIP由类似于I型RIP的A链和具有凝集素特性的B链组成,两条肽链通过二硫键连接。蓖麻(*Ricinus communis*)毒蛋白(ricin)^[11]和相思子(*Abrus precatorius*)毒蛋白(abrin)^[12]是最早发现的II型RIP。研究表明许多I型RIP以及II型RIP的A链对肿瘤细胞的杀伤作用远强于对正常细胞的杀伤作用,与肿瘤细胞专一性单克隆抗体一起制成的免疫毒素可以专一性的杀伤肿瘤细胞^[13-14]。另外,多数植物RIPs还具有抗人免疫缺陷病毒(HIV)^[5]、抗寄生虫^[11]和真菌^[4]的作用。

Stirpe从麻疯树种仁中分离出毒蛋白(curcin),且对无细胞系统的蛋白合成有强烈抑制作用^[15]。Barbieri阐明curcin属于I型RIP^[16]。林娟证明curcin是一种RNA N-糖苷酶^[17],具有抗肿瘤活性^[18]。魏琴报道离体条件下curcin能抑制多种农作物真菌菌丝生长和孢子产生^[19]。刁明苏报道curcin的毒性远小于ricin^[20]。

目前对于包括curcin在内的RIPs的研究主要集中于结构、活性和作用机制等领域,对于其在不同生物个体中含量的变异性报道较少。辜小萍利用酶联免疫法测定了麻疯树种子、脱油饼粕和脱毒饼粕中的curcin含量^[21],然而以单粒种子为对象来检测不同个体中curcin含量差异,并分析其与其他性状相关性的研究尚未见报道。对麻疯树种子curcin含量的研究,对于麻疯树高curcin含量的种质资源收集以及提高麻疯树生物燃油产业的综合效益具有重要意义。

金沙江干热河谷地区位于我国西南部,其气候和土壤等自然条件非常适合麻疯树生长,有大量的野生麻疯树种群分布,而且天然更新良好^[22-23],具有丰富的麻疯树遗传资源。因此,我们对该地区麻疯树种子中的curcin含量以粒为单位进行调查,对每一颗种子的基本性状及curcin含量进行了定量分析,同时对单颗麻疯树种子之间的差异进行了详细的调查和分析,探讨了curcin含量与种子质量、

种仁质量、出仁率、含油量及可溶性蛋白含量间的相关性,为培育高油、高curcin含量的双高品种提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 材料、仪器和试剂

在金沙江干热河谷地区采集当年生的麻疯树(*Jatropha curcas*)种子,自然晾干后贮存于干燥皿中,室温放置3个月使种子含水量趋于一致。随机挑选成熟、质地饱满、外部无病虫害、无损伤的麻疯树种子用于实验。

96孔酶标板(美国Corning公司);酶标记二抗:山羊抗兔IgG-HRP(北京中杉金桥公司);N,N,N',N'-TMB(四甲基联苯胺)显色液(美国Amresco);NMI-20Analyst核磁共振分析仪(上海纽迈科技有限公司);SpectraMax M2/M2e型多功能酶联免疫分析仪(美国Molecular Devices公司);其它试剂均为市售分析纯。所有溶液均以Milli-Q超纯水(美国Millipore A10型纯水仪)配制。

1.2 种仁curcin含量的测定

参照辜小萍等的间接ELISA法^[22]并进行了优化。curcin标准品来源于麻疯树种仁,经过蛋白层析系统(AKTA purifier 10 UPC, GE Healthcare)纯化,纯度>95%。采用BCA蛋白分析试剂盒(Thermo公司)测定curcin标准品浓度(具体步骤参照试剂盒说明书)。用此标准品免疫新西兰大白兔制备curcin多克隆抗体,经过Hitrap rProtein A FF (GE Healthcare)亲和层析纯化,抗体效价达到25万。

1.3 种子质量、种仁质量以及出仁率

用精度为0.001 g的电子天平测定麻疯树单粒种子及剥壳后种仁质量,重复测量3次,取平均值。种子出仁率为单粒种仁质量与种子质量之比的百分数。

1.4 含油量

麻疯树种子含油量的测定依据雷蕾^[24]的方法。采用NMI-20Analyst核磁共振仪测定,射频单元为NM-2010,软件包括NMI20和WinNMR两个部分。仪器的参数选择:室温22℃,检测腔温度为36℃,样品管直径为1.3 cm,高度为20 cm,脉冲序列为硬脉冲回波,采样点数为1024,带宽为100.00 kHz,

RG1(增益细调)为 50, RG2(增益粗调)为 5, TR(重复时间)为 800 ms, 回波时间为 7000 μ s, 扫描次数 NS=16。以麻疯籽热轧成品油为标准样品定标, 制作标准曲线。将各粒种子质量输入程序中, 经核磁扫描后, 根据射频信号和标准曲线自动得到各粒种子的含油量。

1.5 种仁中可溶性蛋白含量

采用改良 Lowry 法蛋白分析试剂盒(Thermo 公司)测定蛋白质浓度, 具体步骤参照试剂盒说明书。

1.6 数据分析

采用 SPSS17.0 软件进行数据统计分析。根据组距确定的方法^[25], 对各测试性状值进行分组, 统计各性状的频率分布, 并对各性状间进行 Pearson 相关性分析。

表 1 麻疯树种仁中的 curcin 含量

Table 1 Curcin content in *Jatropha curcas* kernels

	含量 Content (mg g^{-1})	比浓度 Specific concentration ($\mu\text{g mg}^{-1}$)
均值 Mean	1.369 \pm 0.055	61.542 \pm 3.232
众数 Mode	1.327	45.325
中位数 Median	1.294	55.887
变幅 Min.~Max.	0.275~3.183	12.105~185.194
极差 Range	2.908	173.089
方差 Variance	0.285	1002.778
标准差 Standard deviation	0.534	31.667
变异系数 Coefficient of variation (%)	39.01	51.46
偏度系数 Skewness	0.566	1.392
峰度系数 Kurtosis	0.832	2.959

标准曲线的方程为 $y=0.0059x-0.0415$, 相关系数 $R^2=0.9985$ 。

The regression equation of standard curve was $y=0.0059x-0.0415$, liner correlation $R^2=0.9985$.

2.2 麻疯树种子的其他性状

麻疯树种子的其他性状特性见表 2。5 项性状中, 出仁率为 51.17%~73.76%, 变异系数为 6.03%, 变异程度最低; 可溶性蛋白含量为 7.38~74.63 mg g^{-1} , 变异系数为 36.67%, 其变异程度最高, 然而可溶性蛋白的变异程度仍然低于 curcin 含量及 curcin 比浓度(表 1)。可溶性蛋白偏度为正值, 说明与标准正态分布相比, 其峰偏向较小数值方向, 而其它 4 项性状的偏度系数均为负值, 说明与标准正态分布相比, 其分布峰偏向较大数值方向。5 项性状中种子质量、种仁质量和出仁率的峰度系

2 结果和分析

2.1 麻疯树种仁的 curcin 含量

采用酶联免疫法测定的单颗麻疯树种仁的 curcin 含量的统计值见表 1。种仁的 curcin 含量变幅为 0.275~3.183 mg g^{-1} , 均值为(1.369 \pm 0.055) mg g^{-1} , 变异系数高达 39.01%。考虑到麻疯树种仁在研磨过程中会发生材料损失, 故将 curcin 含量换算为与可溶性蛋白的比浓度以减少误差。curcin 比浓度为 12.105~185.194 $\mu\text{g mg}^{-1}$, 均值为(61.54 \pm 3.23) $\mu\text{g mg}^{-1}$, 变异系数为 51.46%, 变异程度较前者更大。这两个值的偏度系数均为正值, 说明与标准正态分布相比, 其峰偏向较小数值方向, 即大部分样品的测试值低于平均值, 此外 curcin 含量的峰度系数仅为 0.832, 表明其分布曲线较平坦, 而 curcin 比浓度峰度系数 \approx 3, 其分布曲线较陡峭, 接近尖峰分布。

数 <3 , 其分布曲线较平坦, 而含油量的峰度系数 >3 , 其分布曲线较陡峭, 可溶性蛋白的峰度系数高达 9.482, 其分布曲线最为陡峭, 呈尖峰分布。

2.3 curcin 含量与其它性状的频率分布

将各测试性状值分别分为 10 组, 统计各性状的频率分布(表 3)。结果表明, 种子的 curcin 含量主要集中在第 3~5 组, 分布于 0.87~1.77 mg g^{-1} , 占样本容量的 68.75%。可溶性蛋白则主要集中在第 2~4 组, 其中 83.33% 的样本分布在 14.1~34.5 mg g^{-1} 。可溶性蛋白和 curcin 含量偏度值分

别为 2.003(表 2)和 0.566(表 1),均为正偏度。二者的分布峰均偏向较小数值方向,其中可溶性蛋白含量的分布正偏程度尤其明显。种子其余四项性状:种子质量、种仁质量、出仁率、含油量的各变量分布的偏度系数均为负值(表 2),说明其分布峰均偏向较大数值方向。由表 3 可观察到,种子出仁率主要集中在第 7~8 组, 65.6% 的样本为 64.4%~69.2%, 集中趋势在 6 个性状中最为显著。含油量的集中

情况与种子出仁率相似,主要集中在第 7~9 组,在 31.11%~38.60% 间呈集中趋势,占样本容量的 75%。出仁率和含油量的分布峰均明显偏向较大数值方向。至于种子质量和种仁质量的分布在 6 组数据中最接近正态分布,仅稍微向较大数值方向偏斜,其中 69.8% 的样本种子质量集中在第 5~7 组,约为 0.647~0.782 g。72.9% 的样本种仁质量集中在第 6~8 组,为 0.420~0.531 g。

表 2 麻疯树种子 5 个性状的统计分析

Table 2 Statistics of 5 traits of *Jatropha curcas* seeds

	种子质量 Seed weight (g)	种仁质量 Kernel weight (g)	出仁率 Seed-kernel rate (%)	含油量 Oil content (%)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg g ⁻¹)
均值 Mean	0.707	0.458	64.63	34.66	24.60
标准误差 Standard error	0.008	0.007	0.40	0.39	0.92
众数 Mode	0.747	0.478	57.02	39.61	21.32
中位数 Median	0.713	0.468	65.44	35.43	23.93
变幅 Min~Max.	0.469~0.915	0.240~0.601	51.17~73.76	16.12~40.93	7.38~74.63
极差 Range	0.446	0.361	22.59	0.2481	67.24
方差 Variance	0.006	0.004	0.002	0.001	81.493
标准差 Standard deviation	0.078	0.064	0.039	0.038	9.027
变异系数 Coefficient of variation (%)	11.03	13.97	6.03	10.96	36.67
偏度系数 Skewness	-0.843	-1.164	-1.035	-1.612	2.003
峰度系数 Kurtosis	1.678	2.373	1.747	5.216	9.482

表 3 麻疯树种子性状的频率分布

Table 3 Frequency distribution of seed traits in *Jatropha curcas*

种子质量 Seed weight (g)		种仁质量 Kernel weight (g)		出仁率 Seed-kernel rate (%)		含油量 Oil content (%)		可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg g ⁻¹)		Curcin (mg g ⁻¹)	
组 Group	P _{ij} (%)	组 Group	P _{ij} (%)	组 Group	P _{ij} (%)	组 Group	P _{ij} (%)	组 Group	P _{ij} (%)	组 Group	P _{ij} (%)
0.467~	4.17	0.235~	2.08	50.0~	1.04	16.1~	1.04	7.30~	8.33	0.27~	5.21
0.512~	1.04	0.272~	1.04	52.4~	2.08	18.6~	1.04	14.1~	23.96	0.57~	8.33
0.557~	4.17	0.309~	2.08	54.8~	3.13	21.1~	1.04	20.9~	39.58	0.87~	22.92
0.602~	8.33	0.346~	3.13	57.2~	7.29	23.6~	1.04	27.7~	19.79	1.17~	27.08
0.647~	16.67	0.383~	10.42	59.6~	7.29	26.1~	2.08	34.5~	2.08	1.47~	18.75
0.692~	29.17	0.420~	21.88	62.0~	8.33	28.6~	6.25	41.3~	2.08	1.77~	6.25
0.737~	23.96	0.457~	31.25	64.4~	45.83	31.1~	20.83	48.1~	1.04	2.07~	7.29
0.782~	10.42	0.494~	19.79	66.8~	19.79	33.6~	28.13	54.9~	1.04	2.37~	2.08
0.827~	1.04	0.531~	7.29	69.2~	2.08	36.1~	26.04	61.7~	1.04	2.67~	1.04
0.872~	1.04	0.568~	1.04	71.6~	3.13	38.6~	12.50	68.5~	1.04	2.97~	1.04

2.4 curcin含量与其他性状的相关性

Pearson 相关性分析结果(表 4)表明,麻疯树种子 curcin 含量与其他 5 个性状的相关性均未达到显著水平,但存在一定程度的相关性。其中 curcin 含量与种子质量、种仁质量及含油量存在一定程度

的负相关,而与出仁率和可溶性蛋白含量存在一定的正相关,其中 curcin 含量与可溶性蛋白含量的正相关系数(0.190)和与含油率的负相关系数(-0.177)相对较高。

表 4 麻疯树种子性状的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of seed traits in *Jatropha curcas*

	种子质量 Seed weight	种仁质量 Kernel weight	出仁率 Seed-kernel rate	含油量 Oil content	可溶性蛋白含量 Soluble protein content	Curcin
种子质量 Seed weight		0.931**	0.432**	0.443**	-0.278**	-0.061
种仁质量 Kernel weight			0.726**	-0.474	-0.228*	-0.011
出仁率 Seed-kernel rate				0.402**	-0.108	0.067
含油量 Oil content					-0.479**	-0.177
可溶性蛋白含量 Soluble protein content						0.190
Curcin						

**: $P<0.01$; *: $P<0.05$.

3 讨论

近年来,国内外关于麻疯树种子资源调查的研究报道较多^[26-27]。本研究首次报道了麻疯树种子 curcin 含量与种子含油量等其它性状的相关性,尤其是以单颗种子为单位进行分析。虽然核糖体失活蛋白可以利用原核表达系统大量获得,但是植物种子生产的真核蛋白在蛋白质折叠、修饰方面具有优势,同时兼具安全性和经济性的特点,已成为基因工程药物发展的趋势^[28],因此本研究工作对于高 curcin 含量麻疯树品种的选育具有重要的意义。

本研究在金沙江干热河谷地区随机收集当年收获的麻疯树种子。从种子质量、出仁率和含油量等等特性来看,与李化^[27]、严秉意^[29]的报道相近,因此本研究结果能够基本反映出该区域麻疯树种质资源 curcin 含量和其他性状的真实水平,具有一定的代表性。

本研究结果表明,麻疯树种子的 curcin 含量为 0.275~3.183 mg g⁻¹,即 curcin 约占种仁重量的 0.0275%~0.3183%,比辜小萃等^[21]的研究结果范围大些,但远低于蓖麻种仁中同为核糖体失活蛋白的 ricin 含量(1%~5%)^[30]。麻疯树和蓖麻虽然同属于大戟科植物,但是 curcin 和 ricin 分别属于 I 型和 II 型 RIP,二者在分子量、蛋白结构上均存在差异。两者在含量上的巨大差异不仅暗示二者可能存在功能上的差异,更暗示了核糖体失活蛋白在种子的

发育过程中可能是非必需蛋白。

为了减少提取过程中由于样品损失而造成的误差,我们进一步计算了 curcin 含量与种仁可溶性蛋白含量的比率,约为 12.105~185.194 $\mu\text{g mg}^{-1}$,均值为(61.54 \pm 3.23) $\mu\text{g mg}^{-1}$,变异系数高达 51.46%。由于可溶性蛋白含量(CV=36.67%)和 curcin 含量(CV=39.01%)本身的变异程度都较大,从而导致了单粒麻疯树种子 curcin 含量的比浓度存在较大差异,这也暗示了 curcin 含量与可溶性蛋白含量间的相关性不显著,二者在生物学功能上可能相对独立。

表型变异是基因组的遗传变异与环境适应修饰共同作用的结果^[31]。本研究结果表明,6个性状都表现出一定的变异,但无论是从标准差还是从变异系数来看,单粒麻疯树种仁 curcin 含量的变异程度最大。这除了环境因素有关外,一方面还可能与酶联免疫测试方法本身稳定性较低有关,也可能与 curcin 的生理作用有关。群体中丰富变异的存在,暗示进行高 curcin 含量的单株选育工作的可行性。

本研究结果表明,curcin 含量尽管与其他性状没有达到显著相关关系,但其与可溶性蛋白含量的正相关系数(0.190)和与含油率的负相关系数(-0.177)相对较高。种子积累贮藏物质时,蛋白质和油脂的积累存在“底物竞争”的关系^[32],这说明选育高油、高 curcin 的双高麻疯树品种可能具有一定的限制性。不过我们还是观察到多粒含油量和

curcin 含量均较高的个体(数据未发表),具体机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Qiu H X. Flora Peipublicae Popularis Sinicae Tomus 44(2) [M]. Beijing: Science Press, 1996: 1–184.
丘华兴. 中国植物志 第44卷第2分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 1–184.
- [2] Banerji R, Chowdhury A R, Misra G, et al. *Jatropha* seed oils for energy [J]. Biomass, 1985, 8(4): 277–282.
- [3] Gübitz G M, Mittelbach M, Trabi M. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. [J]. Bioresour Techn, 1999, 67(1): 73–82.
- [4] Zoubenko O, Uckun F, Hur Y, et al. Plant resistance to fungal infection induced by nontoxic pokeweed antiviral protein mutants [J]. Nat Biotechn, 1997, 15(10): 992–996.
- [5] Lee-Huang S, Huang P L, Chen H C, et al. Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MAP30 from bitter melon [J]. Gene, 1995, 161(2): 151–156.
- [6] Stirpe F, Legg R F, Onyon L J, et al. Inhibition of protein synthesis by a toxic lectin from *Viscum album* L. (Mistletoe) [J]. Biochem J, 1980, 190(3): 843–845.
- [7] Robertus J D, Monzingo A F. The structure of ribosome inactivating proteins [J]. Mini Rev Med Chem, 2004, 4(5): 477–486.
- [8] Stripe F, Barbieri L, Battelli M G, et al. Ribosome-inactivating proteins from plants: Present status and future prospects [J]. Biotechnology, 1992, 10(4): 405–412.
- [9] Wang Y, Jin S W. Trichosanthin [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2000: 1–299.
汪猷, 金善炜. 天花粉蛋白 [M]. 第2版, 北京: 科学出版社, 2000: 1–299.
- [10] Irvin J D. Purification and partial characterization of the antiviral protein from *Phytolacca americana* which inhibits eukaryotic protein synthesis [J]. Arch Biochem Biophys, 1975, 169(2): 522–528.
- [11] Olsnes S, Kozlov J V. Ricin [J]. Toxicon, 2001, 39(11): 1723–1728.
- [12] Lin J Y, Lee T C, Hu S T, et al. Isolation of four isotoxic proteins and one agglutinin from jequiriti bean (*Abrus precatorius*) [J]. Toxicon, 1981, 19(1): 41–51.
- [13] Vitetta E S, Fulton R J, May R D, et al. Redesigning nature's poisons to create anti-tumor reagents [J]. Science, 1987, 238(4830): 1098–1104.
- [14] Laurent G, Pris J, Farcet J P, et al. Effects of therapy with T101 ricin A-chain immunotoxin in two leukemia patients [J]. Blood, 1986, 67(6): 1680–1687.
- [15] Stirpe F, Pession-Brizzi A, Lorenzoni E, et al. Studies on the proteins from the seeds of *Croton tiglium* and *Jatropha curcas* [J]. Biochem J, 1976, 156(1): 1–6.
- [16] Barbieri L, Battelli M G, Stirpe F. Ribosome-inactivating proteins from plants [J]. Biochim Biophys Acta, 1993, 1154(3/4): 237–282.
- [17] Lin J, Yan F, Tang L, et al. Isolation, purification and functional investigation on the N-glycosidase activity of curcin from the seeds of *Jatropha curcas* [J]. High Techn Lett, 2002, 12(11): 36–40.
林娟, 颜钊, 唐琳, 等. 麻疯树核糖体失活蛋白的分离纯化和作用机制研究 [J]. 高技术通讯, 2002, 12(11): 36–40.
- [18] Lin J, Yan F, Tang L, et al. Antitumor effects of curcin from seeds of *Jatropha curcas* [J]. Acta Pharmac Sin, 2003, 24(3): 241–246.
林娟, 颜钊, 唐琳, 等. 麻疯树核糖体失活蛋白抗肿瘤作用 [J]. 中国药理学报, 2003, 24(3): 241–246.
- [19] Wei Q, Liao Y, Zhou L J, et al. Antifungal activity of curcin from seeds of *Jatropha curcas* [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2004, 26(3): 71–75.
魏琴, 廖毅, 周黎军, 等. 麻疯树毒蛋白(curcin)的抗真菌活性研究 [J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(3): 71–75.
- [20] Diao M S, Xu Y, Chen F. Studies on acute toxicity of curcin from *Jatropha curcas* to organs in mice [J]. J Sichuan Univ (Nat Sci), 2008, 45(4): 967–971.
刁明苏, 徐莺, 陈放. 麻疯树毒蛋白对小鼠器官的急性毒性研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2008, 45(4): 967–971.
- [21] Gu X P, Cai F, Zhu X H, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for determination of ribosome-inactivating protein from *Jatropha curcas* L. [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2011, 17(2): 227–231.
辜小苹, 蔡峰, 朱习红, 等. 酶联免疫吸附法测定麻疯树核糖体失活蛋白 [J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(2): 227–231.
- [22] Xu J, Fei S M, He Y P, et al. The quantitative characteristics and regeneration of *Jatropha curcas* populations in Sichuan Province [J]. J Sichuan For Sci Techn, 2008, 29(1): 1–6.
徐嘉, 费世民, 何亚平, 等. 四川麻疯树种群数量特征和更新研究 [J]. 四川林业科技, 2008, 29(1): 1–6.
- [23] Luo Z B, Diao Y G, Yang L M, et al. Community structure of *Jatropha curcas* in the Jinsha River Dry-hot Valley in Liangshan Prefecture, Sichuan, China [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2009, 15(3): 432–436.
罗增斌, 刁阳光, 杨利民, 等. 凉山州金沙江干热河谷麻疯树群落结构 [J]. 应用与环境生物学报, 2009, 15(3): 432–436.
- [24] Lei L, Liang H, Peng T, et al. Study on detecting oil content in *Jatropha curca* seed by nuclear magnetic resonance technique [J]. Seed, 2009, 28(5): 78–80.
雷蕾, 梁慧, 彭彤, 等. 核磁共振法测麻疯树种子油含量的研究 [J]. 种子, 2009, 28(5): 78–80.

- [25] Wu Z F. Biostatistics [M]. Beijing: Science Press, 2005: 12–15.
吴占福. 生物统计学 [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 12–15.
- [26] Li H, Chen L, Tang L, et al. Physicochemical characteristics and fatty-acid composition of seed oil of *Jatropha curcas* from southwest China [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2006, 12(5): 643–646.
李化, 陈丽, 唐琳, 等. 西南部分地区麻疯树种子油的理化性质及脂肪酸组成分析 [J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(5): 643–646.
- [27] Kaushik N, Kumar K, Kumar S, et al. Genetic variability and divergencer studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions [J]. Biomass Bioenerg, 2007, 31(7): 497–502.
- [28] Ryu D D Y, Nam D H. Recent progress in biomolecular engineering [J]. Biotechn Prog, 2000, 16(1): 2–61.
- [29] Yan B Y, Ye S L, Yan A X, et al. Variation in *Jatropha curcas* L. seeds with different oil contents in Dry-hot Valley of Jinsha River [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2011, 17(5): 656–661.
颜秉意, 叶生亮, 严安心, 等. 金沙江干热河谷地区不同含油量麻疯树种子的差异性 [J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 656–661.
- [30] Balint G A. Ricin: The toxic protein of castor oil seeds [J]. Toxicology, 1974, 2(1): 77–102.
- [31] Sultan S E. Phenotypic plasticity and plant adaptation [J]. Acta Bot Neerl, 1995, 44(4): 363–383.
- [32] Chen J Q, Lang C X, Hu Z H, et al. Antisense *PEP* gene regulates to ratio of protein and lipid content in *Brassica napus* seeds [J]. J Agri Biotechn, 1999, 7(4): 316–320.
陈锦清, 郎春秀, 胡张华, 等. 反义*PEP*基因调控油菜籽粒蛋白质/油脂含量比率的研究 [J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(4): 316–320.