

## 乌头离体培养和快速繁殖

田迎秋<sup>1,3</sup>, 刘帆<sup>2</sup>, 黄玉碧<sup>1,2,3</sup>, 田孟良<sup>2,3\*</sup>

(1. 四川农业大学玉米研究所, 四川雅安 625014; 2. 四川农业大学农学院, 四川雅安 625014;  
3. 作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 四川雅安 625014)

**摘要:** 目的 建立乌头的快繁体系。方法 利用组织培养的方法, 设置18种、9种和12种不同激素处理组合的培养基分别诱导乌头不同外植体愈伤组织、诱导愈伤组织丛生芽的分化、诱导再生苗的生根。结果 适合乌头茎尖和茎段愈伤组织诱导的培养基为: MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+PVP(或AC) 3.0 g/L; 适合叶片愈伤组织诱导的培养基为: MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 4.0 mg/L+PVP(或AC) 3.0 g/L; 适合愈伤组织增殖与丛生芽诱导的培养基为: MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.5 mg/L+LH 200 mg/L+PVP 3.0 g/L 和 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+LH 200 mg/L+PVP 3.0 g/L。适合诱导生根的培养基为: MS+IBA 1 mg/L+AC 3.0 g/L。  
**结论** 以乌头茎尖、叶片、茎段及带或不带腋芽的茎段作为外植体进行离体培养, 可以实现乌头种苗的工厂化快速繁殖。

**关键词:** 乌头; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)08-1243-05

### In vitro culture and rapid propagation of *Aconitum carmichaeli*

TIAN Ying-qiu<sup>1,3</sup>, LIU Fan<sup>2</sup>, HUANG Yu-bi<sup>1,2,3</sup>, TIAN Meng-liang<sup>2,3</sup>

(1. Research Institute of Maize, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China; 2. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China; 3. Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Improvement, Ministry of Education, Yaan 625014, China)

**Abstract: Objective** To establish a rapid propagation system of *Aconitum carmichaeli*. **Methods** With tissue culture method, 18, 9, and 12 kinds of hormones combinations as media were developed to induce callus from different explants derived from *A. carmichaeli*, the differentiation of cluster buds, and the rooting of regenerated seedlings, respectively. **Results** For *A. carmichaeli*, the optimum culture medium for callus induction of stem-tips and stem segments was identified to be MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+PVP (or AC) 3.0 g/L. Optimum culture medium for callus induction on leaves was identified to be MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 4.0 mg/L+PVP (or AC) 3.0 g/L. The optimum culture media for callus propagation and cluster buds induction were identified to be MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.5 mg/L+LH 200 mg/L+PVP 3.0 g/L and MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+LH 200 mg/L+PVP 3.0 g/L. The optimum culture medium for rooting induction was identified to be MS+IBA 1 mg/L+AC 3.0 g/L.  
**Conclusion** Industrialized rapid propagation of seedling can be realized by *in vitro* tissue culture with different explants such as shoot tips, leaves, and stem segments with or without axillary bud.

**Key words:** *Aconitum carmichaeli* Debx.; tissue culture; rapid propagation

附子为毛茛科乌头属植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品, 为常用中药, 四川江油是川附子的道地药材产地。目前乌头的人工栽培主要靠子根繁殖, 耗种量大, 而且由于病毒感染等原因造成种性退化, 产量和品质降低, 每年需在高山留种换种, 难以适应规模化和标准化生产的需要, 通过组织培养实现种苗脱毒生产是解决上述问题的

有效途径之一。组织培养特别是药用植物的组织培养存在种群差异, 甚至同一植株的不同组织、不同器官在组织培养时都可能存在较大差异<sup>[1]</sup>。胡延玉<sup>[2]</sup>利用茎尖和带腋芽茎段培养获得再生植株, 但所用培养基成分复杂, 生长周期长。林静等<sup>[3]</sup>利用贵州乌头叶片和幼茎进行培养, 叶片只诱导出愈伤组织阶段而未分化出芽。关文灵等<sup>[4]</sup>以云南乌头试管苗的

收稿日期: 2006-11-10

基金项目: 教育部创新团队基金资助 (IRT0453)

作者简介: 田迎秋(1981—), 男, 壮族, 在读硕士研究生, 云南文山人, 从事乌头种质资源方面的研究。

\* 通讯作者 田孟良 Tel: 0835-2882164 E-mail: secondat@sicau.edu.cn

叶片为外植体,通过直接诱导不定芽的途径得到再生苗。王跃华等<sup>[5]</sup>以叶柄为外植体得到再生苗。本研究选自四川平武附子种源基地的乌头植株为材料,通过组织培养诱导愈伤组织的途径建立乌头的快繁体系,为江油附子GAP基地所需大量优质种苗的工厂化生产奠定基础。同时尝试以乌头种子为外植体进行组织培养,这在国内外还尚未见报道。

## 1 材料与方法

1.1 材料:试验材料于2004年3月取自四川省绵阳市平武县锁江镇乌头种源基地,经四川农业大学田孟良博士鉴定为 *Aconitum carmichaeli* Debx.。

### 1.2 方法

本试验以MS和1/2 MS为基本培养基,附加不同质量浓度的植物激素 $\alpha$ -naphthaleneacetic acid(以下简称NAA)和6-benzyladenine(以下简称6-BA),蔗糖3%,琼脂粉0.4%,pH 5.8,培养温度( $22\pm1$ )℃,光周期12 h/d,光照强度1 500~2 000 lx。每个处理均设光照培养和黑暗培养对照;培养基均加入活性炭(activated charcoal,以下简称AC)3.0 g/L和聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone,以下简称PVP)3.0 g/L作抗褐化比较;均加入乳清蛋白水解物(lactalbumin hydrolysate,以下简称LH)2 000.0 mg/L作对照。

1.2.1 外植体的选择与消毒:三月份选取一年生健壮植株的器官:茎尖、叶片、根、茎段、带腋芽的茎段、叶柄和上一年收取的种子为接种材料。自来水冲洗干净,用70%酒精处理15~20 s,0.1%升汞液浸泡10~12 min,倒去升汞液,用无菌水换洗4~5次。茎尖剥离后切成0.2 mm长,根、茎段、带腋芽的茎段及叶柄切成1.5 cm左右,叶片切成1 cm×1 cm方块,接入配制好的培养基,每个处理接种15只试管,每只试管1个外植体,3次重复,30 d后统计诱导率,50 d后统计分化率。

1.2.2 诱导愈伤组织的培养基:诱导愈伤组织的培养基中激素浓度配比见表1(下文用到A\*~O\*为表1中培养基编号)。

1.2.3 诱导丛生芽的培养基的激素配比:P\*: NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L; O\*: NAA 0.2 mg/L+6-BA 1.0 mg/L; R\*: NAA 0.4 mg/L+6-BA 1.0 mg/L; S\*: NAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L; T\*: NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L; U\*: NAA 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L; V\*: NAA 0.1 mg/L+6-BA 2.5 mg/L; W\*: NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.5 mg/L; X\*: NAA 0.4 mg/L+6-

表1 诱导愈伤组织培养基中的激素浓度配比

Table 1 Various concentration portions of hormones in culture media for inducing callus

编号	激素配比/(mg·L <sup>-1</sup> )		编号	激素配比/(mg·L <sup>-1</sup> )	
	NAA	6-BA		NAA	6-BA
A*	0.1	1.0	I*	0.4	2.5
B*	0.2	1.0	J*	0.01	3.0
C*	0.4	1.0	K*	0.05	3.0
D*	0.1	2.0	L*	0.1	3.0
E*	0.2	2.0	M*	0.2	4.0
F*	0.4	2.0	N*	0.4	4.0
G*	0.1	2.5	O*	0.8	4.0
H*	0.2	2.5			

BA 2.5 mg/L(注:下文用到的字母P\*~X\*为此处培养基编号)。

1.2.4 生根培养基:设置MS、1/2 MS作空白对照和分别与不同浓度的IBA组合处理,其中IBA质量浓度为:0.1、0.5、0.7、1.0、1.5 mg/L,共12个不同的培养基。

1.2.5 炼苗移栽:生根培养基上根长4 cm左右、植株6 cm左右的再生苗,打开瓶盖,室温炼苗2~3 d后,自来水洗净苗上的培养基,移栽至用0.1%多菌灵处理过的腐质土、珍珠岩混合(体积2:1)基质中,置于温度( $22\pm1$ )℃,光周期为12 h/d,光照强度1 500~2 000 lx的生长室,薄膜封盖,保持基质湿润,一周后转入栽培土。

## 2 结果与分析

2.1 NAA和6-BA不同质量浓度组合对不同外植体的影响。

2.1.1 茎尖:NAA和6-BA不同质量浓度组合对茎尖诱导效果见表2(诱导率=有愈伤组织的外植体数/接种外植体数×100%;分化率=出芽愈伤数/接种愈伤数×100%;第1、5列带有“\*”的字母为培养基编号;第4列字母是第1列字母对应的培养基间诱导外植体愈伤组织的诱导率差异显著性结果;

表2 NAA和6-BA不同质量浓度组合对茎尖诱导及分化效果

Table 2 Effect of combinations of NAA and 6-BA at various relative concentrations on induction and differentiation of stem-tip callus

编号	诱导率/差异显著性			编号	分化率/差异显著性		
	%	0.05	0.01		%	0.05	0.01
A*	90.0	a	A	S*	83.3	a	A
B*	76.7	b	AB	T*	72.3	ab	AB
H*	63.4	b	BC	W*	70.9	ab	AB
G*	50.0	c	CD	V*	59.1	bc	BC
D*	40.0	c	D	X*	52.8	cd	BC
B*	40.0	c	D	U*	41.0	d	C

第8列字母是第五列字母对应的培养基间诱导愈伤组织分化的分化率差异显著性结果;此表及以下类似表格均只列入诱导率和分化率较高的前6个进行比较,字母所表示的意义和表2相同)。

实验中所有处理均能诱导出愈伤组织,部分还可以分化出芽,可以将芽作为外植体扩大无性系。实验中发现,A\*上的愈伤组织培养30d后,大部分呈淡黄或淡绿,质地疏松湿润,且有绿色突起(图1-1)。转入分化培养基S\*继代20d后,愈伤增加原来的2/3左右,10d后愈伤表面开始出现4~7个绿色芽点,继续继代,分化率可达80%以上,芽点也会不断增加。因此,从统计结果表2及愈伤组织和丛生芽的形态看,A\*是乌头茎尖愈伤组织诱导的最佳培养基,S\*是乌头丛生芽诱导的最佳培养基。

#### 2.1.2 叶:NAA 和 6-BA 不同质量浓度组合对叶诱导效果见表3。

表3 NAA 和 6-BA 不同质量浓度组合对叶诱导及分化效果

Table 3 Effect of combinations of NAA and 6-BA at various concentrations on induction and differentiation of leaves

编号	诱导率/差异显著性		编号	分化率/差异显著性	
	%	0.05 0.01		%	0.05 0.01
M*	90.0	a A	T*	80.8	a A
N*	76.7	b B	S*	75.0	a AB
E*	73.3	b B	R*	65.0	b BC
L*	60.0	c C	D*	63.6	bc BC
F*	56.7	c D	V*	55.6	c C
I*	53.3	c D	W*	37.5	d D

在实验中发现,诱导率在50%以下的叶片只在边缘有少量的白色颗粒或一层粉状愈伤组织,且生长缓慢,转入分化培养基中继代30d后也无明显变化,少数几个分化出1~2个小芽,但芽皱缩、畸形,长至0.5cm就停止生长,80d后全部老化死亡。M\*上的愈伤则85%左右呈图1-2的形态,转到T\*或S\*一周后开始出现绿色芽点6~10个(图1-2),且愈伤15d后有明显的增殖,继续继代则95%的芽点可分化成苗,20d后生长最快的小芽达4cm左右,植株正常,叶片舒展。综合统计结果表3及愈伤组织和丛生芽生长的速度及形态看,M\*,T\*分别是乌头茎尖愈伤组织和丛生芽诱导的最佳培养基。

#### 2.1.3 茎段及带腋芽的茎段:NAA 和 6-BA 不同质量浓度组合对茎段和带腋芽的茎段的愈伤组织及丛生芽的诱导效果见表4。

实验中所有处理均能诱导出愈伤组织。由表4看出,诱导率较高的为NAA:0.1~0.4mg/L与6-BA:2~2.5mg/L的组合,但以NAA 0.2mg/L

表4 NAA 和 6-BA 不同质量浓度组合对茎段及带腋芽的茎段愈伤组织及丛生芽的诱导效果

Table 4 Effect of combinations of NAA and 6-BA at various concentrations on induction of stem segment, stem segment callus with axillary buds, and cluster buds

编号	诱导率/差异显著性		编号	分化率/差异显著性	
	%	0.05 0.01		%	0.05 0.01
E*	90.0	a A	V*	89.0	a A
A*	86.7	ab A	T*	76.9	b AB
D*	76.7	abc AB	S*	70.9	bc B
F*	73.4	bcd AB	D*	62.5	c BC
C*	70.0	cd AB	Q*	50.0	d C
G*	60.0	d B	W*	33.3	e D

与6-BA 2 mg/L 的组合诱导率最高,且诱导出的愈伤形态也较好(图1-3)。带腋芽的茎段中大部分腋芽能分化成健康的小苗,部分腋芽则直接被诱导出愈伤组织,转入分化培养基后,与叶相比,茎段及带腋芽的茎段分化出的丛生芽不象叶那样均匀分布于整个愈伤的表面,而是集中在愈伤表面的2~4个点上不断分化,每个点能出6~10个生长旺盛的芽(图1-4),再用V\*,S\*,T\*交替继代则芽数还会不断增多,最后长满整个愈伤团(图1-5),切下小芽转入V\*,S\*,T\*交替继代又能分化更多丛芽(图1-6)。综合统计结果表4及愈伤组织和分化芽的形态看,E\*,V\*分别是乌头茎段愈伤组织和丛生芽诱导的最佳培养基。

2.1.4 叶柄:所有处理诱导出的愈伤组织都较少,形态呈白色或淡绿的颗粒,质地致密干燥,转入分化培养基继代80d后大部分老化变褐,最后死亡。

2.1.5 种子:所有处理的种子均有萌发,但萌发苗的叶片都较皱缩,植株畸形,继代40d后部分萌发出的苗愈伤化,转入分化培养基继代80d后,部分愈伤化种子出现不定芽的分化,其中芽数最多的在E\*处理中达5个。

2.2 生根培养:将长至3~5cm的不定芽转到12种不同的生根培养基,7d后开始出现白色幼根(图1-7),20d后最长的达7cm(图1-8),总体情况见表5。

由表5可知,不加任何激素的MS对根的诱导效果明显优于1/2 MS。其中MS与IBA 1mg/L的组合诱导效果明显高于其他组合,低质量浓度的IBA和1/2 MS组合处理均不能诱导根的生成,而IBA质量浓度过高则部分幼苗易从茎节处长出黄白色幼根,部分苗则在切口处有愈伤组织的产生,从愈伤组织上面诱导出的根其诱导组织不与茎的诱导

表 5 不同培养基对乌头生根的影响

Table 5 Effect of different culture media  
on rooting of *A. carmichaeli*

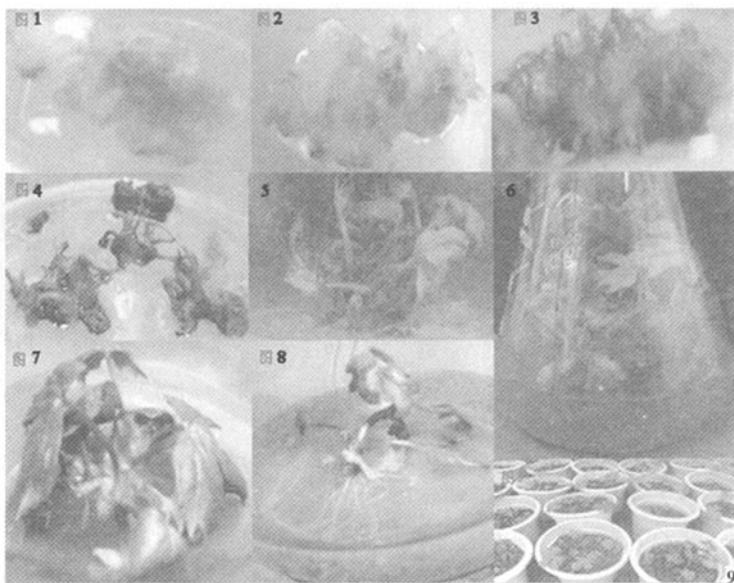
基本培 养基	IBA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	生根率/ %	平均根 数/株	平均根 长/cm	试管苗 长势
MS	0	69	4.5	3.2	++
MS	0.1	10	2.7	2.1	+
MS	0.3	0	0	0	+
MS	0.5	56	3.4	2.4	++
MS	0.7	64	5.1	4.2	++
MS	1	95	6.7	5.6	++++
MS	1.5	23	2.4	3.7	++
1/2 MS	0	66	4.1	4.3	++
1/2 MS	0.1	0	0	0	+
1/2 MS	0.3	0	0	0	+
1/2 MS	0.5	47	3.6	3.0	++
1/2 MS	0.7	50	4.8	3.5	++
1/2 MS	1	10	23.0	1.2	++
1/2 MS	1.5	15	1.9	3.5	++

组织直接相连,这两种情况的苗移栽都难以成活<sup>[6]</sup>。因此,综合生根率、平均每株生根数、平均根长及试管苗长势等因素来看,乌头较优的生根培养基为:MS+IBA 1 mg/L+AC 3 g/L。

2.3 炼苗移栽:炼苗基质上成活的苗移栽到栽培土后,先置于大棚,一周后移植户外,成活率达 90%以上,苗的生长情况见图 1-9。

### 3 讨论

本研究以附子 GAP 种源基地的乌头植株为材料,在参考已有相关文献<sup>[4,5,7]</sup>的基础上,设置 NAA 与 6-BA 不同质量浓度的激素组合对不同外植体进行了研究。结果表明,由于所用材料的来源地不同,本试验筛选出的愈伤组织和丛生芽诱导的最佳培养基与已有文献报道不同<sup>[2,4,5]</sup>。关文灵等<sup>[4]</sup>采用 3 种类型的植物激素直接诱导丛生芽的分化,20 d 左右



1-茎尖愈伤组织 2-叶片愈伤组织 3-茎段愈伤组织 4-愈伤组织分化培养一周后的丛生芽 5-愈伤组织培养两周后的丛生芽

6-单个丛生芽 15 d 后增殖的芽丛 7-诱导生根 7 d 后的再生苗 8-诱导生根 20 d 后的再生苗 9-户外生长的移栽苗

1-callus induced from stem-tip 2-callus induced from leaves 3-callus induced from stem segment 4-cluster buds in one week after callus inducing culture 5-cluster buds in two weeks after callus inducing culture 6-cluster shoots in 15 d after deriving from a single cluster buds 7-regenerated seedling in 7 d after rooting inducing 8-regenerated seedling in 20 d after rooting inducing 9-transplants outdoor

图 1 乌头种苗的快繁图

Fig. 1 Rapid propagation of seedling of *A. carmichaeli*

外植体的分化率、从芽的生根率及移栽苗的成活率在 80% 左右:瞿素萍等<sup>[7]</sup>的研究中,丛生芽 20 d 后的增殖倍数仅为 3 倍,丛生芽的生根率和再生苗移栽基质的成活率不到 80%。本试验使用的植物激素种类相对较少,同时在培养基中附加了 LH、PVP 及

AC 等物质,使外植体愈伤组织的诱导率 30 d 后达 90% 以上,愈伤组织的分化率达 89% 以上,愈伤组织一周后增殖一倍以上,单个丛生芽 1 周后增殖 10 倍左右,达到愈伤组织和丛生芽同时增殖的双重效果,短期内较大程度地提高了增殖基数;后期丛生芽

的生根率达95%以上,户外移栽苗的成活率也比已有方法显著提高,达90%以上。和已有方法相比,本试验缩短了离体繁殖时间,建立了乌头的高效快繁体系。

光照1500~2000 lx、LH 200 mg/L与对照相比对愈伤组织的诱导无明显差异,但前者对愈伤组织的增殖和丛生芽的生长具有一定的促进作用,这种作用可能是由于某些胚性愈伤组织中部分细胞具有了叶绿体,从而能将部分光能转化成自身所需的化学能,而LH由于具有多种氨基酸成分,能满足愈伤组织生长中对营养的大量需求。培养基中附加3 g/L的PVP与3 g/L的AC均有一定的抗褐化作用,这种作用是由于它们吸附了外植体产生的酚类物质经空气氧化后形成的醌类物质,但随着它们分子吸附空间的饱和,吸附量减少,表现为抗褐化能力亦随之减弱;在愈伤组织的形态及诱导率方面,前者优于后者,这种差异可能是二者在吸附醌类物质的同时也吸附了一定量的外源植物激素,而0.5%的PVP作用后剩余的外源植物激素的量刚好适宜愈伤组织的诱导和生长;在丛生芽诱导生根方面,后者优于前者,可能是因为AC提供了植株习惯的类似土壤中生长的黑暗环境<sup>[1]</sup>。

利用种子做外植体,具有不受季节影响,初代培

养污染率较低等优点。本试验以种子为外植体的诱导率还不高,培养时间也较长,具体影响因子有待进一步的研究。另外,国内外对乌头愈伤组织中次生代谢物的研究也较少,若能直接从其愈伤组织中提取次生代谢物,将具有巨大的商业价值。

#### References:

- [1] Li J M. *Tutorial of Plant Tissue Culture* (植物组织培养指南) [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2002.
- [2] Hu Y Y, Wu G Q. Tissue culture and regeneration of *Aconitum carmichaeli* Debx. [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1985, 16(2): 37-40.
- [3] Lin J, He Y. A probe into fast reproduction technic of *Aconitum carmichaeli* Debx. [J]. *Guizhou Sci* (贵州科学), 1998, 16(2): 120.
- [4] Guan W L, Wang L, Zheng S X. The establishment of *Aconitum carmichaeli* Debx. plant regenerating system [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(6): 561-563.
- [5] Wang Y H, Ma D W, Huang Z Z, et al. Application of orthogonal test method on culture tissue of *Aconitum carmichaeli* Debx. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(15): 1197-1199.
- [6] Zhang Z X, Ting W X, Ding W Q, et al. Research on tissue culture of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(3): 216-217.
- [7] Qu S P, Chen W, Qu Y H, et al. Rapid propagation of *Aconitum carmichaeli* seedling by tissue culture [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2004, 23(4): 62-63.

## 河北道地药材酸枣仁 HPLC-ELSD 指纹图谱研究

张志斐<sup>1,2</sup>,袁志芳<sup>1</sup>,张兰桐<sup>1\*</sup>,范丽芳<sup>1</sup>,冯锐<sup>1</sup>

(1. 河北医科大学药学院 药物分析教研室,河北 石家庄 050017; 2. 华北煤炭医学院 药学系,河北 唐山 063000)

**摘要:**目的 建立河北道地药材酸枣仁的HPLC-ELSD指纹图谱,为科学评价及有效控制酸枣仁药材质量提供新方法。**方法** 收集不同产地酸枣仁药材21批,采用HPLC-ELSD法测定其指纹图谱。色谱条件:C<sub>18</sub>柱,乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,ELSD检测器,体积流量1.0 mL/min,柱温35℃。**结果** 建立了道地酸枣仁药材HPLC-ELSD指纹图谱共有模式,并对不同产地酸枣仁药材进行了相似度比较。**结论** 方法简便、可靠,可用于不同产地酸枣仁药材的指纹图谱测定和质量评价,为有效控制酸枣仁药材的内在质量提供依据。

**关键词:**酸枣仁;酸枣仁皂苷;高效液相色谱法;指纹图谱

**中图分类号:**R282.7   **文献标识码:**A   **文章编号:**0253-2670(2007)08-1247-04

## HPLC-ELSD Fingerprints of genuine *Semen Ziziphi Spinosae* from Hebei Province

ZHANG Zhi-fei<sup>1,2</sup>, YUAN Zhi-fang<sup>1</sup>, ZHANG Lan-tong<sup>1</sup>, FAN Li-fang<sup>1</sup>, FENG Rui<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;

2. Department of Pharmacy, North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China)

收稿日期:2006-11-12

基金项目:河北省自然科学基金项目(303453)

作者简介:张志斐(1972—),女,硕士研究生,副教授,主要从事中药指纹图谱研究。

\* 通讯作者 张兰桐 Tel: (0311) 86266419 E-mail: zhanglantong@263.net