

0.005%~0.07%,基本上每10 000 kg 红豆杉树皮才能提取1 kg 紫杉醇原料药,按现在的提取纯化技术,全世界每年需要25 000 t 树皮,相当于75万株树龄60年以上的红豆杉的树皮;从树皮中获得紫杉醇必然会对红豆杉这一濒危资源造成毁灭性破坏。因此利用植物细胞培养法生产紫杉醇已成为一个有效可取的途径。

从实验结果看,东北矮紫杉愈伤组织的形成较容易,特别是根与茎在含2,4-D的培养基上基本都能形成,生长速度也较快,继代培养后速度更快。NAA对东北矮紫杉愈伤组织中紫杉醇和10-乙酰巴卡亭II的合成均有促进作用,且10-乙酰巴卡亭II的量均比紫杉醇高。本研究运用正交试验得到了生产紫杉醇和10-去乙酰巴卡亭II的最佳植物生长调节剂组合,此研究为解决药用植物东北矮紫杉资源短缺及实验室生产紫杉醇和10-乙酰巴卡亭II提供了实验依据,对今后以组培细胞技术生产东北矮紫杉原材料具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 王关林,方宏筠,胡风庆,等.东北矮紫杉组织、细胞培养及其紫杉醇生成的研究[J].中国农业科学,2001,4(4):373-378
- [2] Vidensek N, Lith P, Cathpbell A, et al. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several taxus species[J]. J Nat Prod, 1990, 53(6): 1609-1610
- [3] Wani M C, Taylor H L, Wall M E, et al. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxol brevifolia* [J]. Am Chem Soc, 1971, 93: 2325
- [4] Chattopadhyay S K, Sharma R P, Kumar S. Process for the production of important taxol analogues 10-deacetyl taxol A, B, and C [P]. US 6028206, 2000-02-22
- [5] 刘万宏,姚波,祝顺琴,等.紫杉醇前体生物合成途径及生物技术研究进展[J].中草药,2009,40(8):1327-1331
- [6] 赵锐,赵玮玮.抗癌植物药紫杉醇研究进展与动态[J].中草药,2009,40(7):1172-附2
- [7] 韩金玉,肖剑,王华,等.紫杉醇的提取与纯化技术[J].中草药,2000,31(10):789-792
- [8] 李干雄,张京维,骆雪兰,等.促进剂组合对中国红豆杉细胞悬浮培养紫杉醇合成的影响[J].中草药,2010,41(9):1552-1555
- [9] 张艳平,刘同祥.高效液相色谱法测定东北红豆杉愈伤组织中紫杉醇的含量[J].贵阳中医学院学报,2009,31(6):81-82
- [10] 何法霖,卢建伟,赵锐,等.HPLC测定加拿大红豆杉浸膏中紫杉醇的含量[J].中国中药杂志,2007,32(8):753-754

手性流动相添加剂法测定积雪草中积雪草总苷的量及其总苷特征图谱

郑征伟,毛秀红,陈 钊,王 柯,季 申*

(上海市食品药品检验所,上海 201203)

摘要:目的 以 β -环糊精为流动相添加剂,拆分积雪草药材及其总苷中羟基积雪草苷和积雪草苷,建立羟基积雪草苷和积雪草苷的定量测定方法,同时建立积雪草总苷的高效液相色谱特征图谱。方法 采用Dikma Diamonsil™ C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)色谱柱;流动相为乙腈2 mmol/L β -环糊精溶液(24:76);柱温30℃;体积流量1.0 mL/min;检测波长205 nm;理论塔板数按积雪草苷峰计算应不低于4 000。结果 β -环糊精的加入很好地分离积雪草药材及其总苷中的羟基积雪草苷和积雪草苷,满足了定量分析的要求,其中有效成分羟基积雪草苷和积雪草苷的线性范围分别为0.181~18.1 μ g ($r=0.999\ 98$)和0.195~19.5 μ g ($r=0.999\ 98$),积雪草药材的平均加样回收率($n=9$)分别为101.2%和101.6%,积雪草总苷的平均加样回收率($n=9$)分别为100.3%和99.3%,11批次的积雪草总苷样品的高效液相色谱特征图谱中确定6个共有峰作为定性的指标峰。结论 本法简便快速、结果准确、重现性好,可用于积雪草药材及其总苷的质量控制。

关键词:积雪草药材;积雪草总苷;羟基积雪草苷;积雪草苷

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)12-2070-05

Quantitative analysis and HPLC specific chromatogram of *Centellae Herba* and its total glucosides by chiral mobile phase additives

JIA Zheng-wei, MAO Xiuhong, CHEN Ke, WANG Ke, JI Shen

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To separate the isomers of madecassoside in *Centellae Herba* and its total glucosides, determine madecassoside and asiaticoside in them, and establish an HPLC specific chromatogram for

收稿日期:2010-02-16

作者简介:郑征伟(1979—),男,上海市人,药师,硕士,主要从事中药质量控制研究。

Tel: (021) 38839906 26126 E-mail: jiazhengwei1979@gmail.com

* 通讯作者 季 申 Tel: (021) 50798195 E-mail: jishen2008@gmail.com

Centellae Herba total glucosides by using β -cyclodextrin as mobile phase additives. **Methods** The Dikma DiamonsilTM C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) was served as analytical column and acetonitrile-2 mmol/L β -cyclodextrin (24: 76) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min, the detection wavelength was 205 nm and column temperature was 30 $^{\circ}$ C. Theoretical plate number of asiaticoside was over 4 000.

Results The isomers in *Centellae Herba* and its total glucosides were separated with the additives of β -cyclodextrin, meeting the requirements of quantitative analysis. In which, madecassoside and asiaticoside showed a good linearity in the range of 0.181—18.1 μ g ($r=0.999\ 98$) and 0.195—19.5 μ g ($r=0.999\ 98$) each. The mean recovery of madecassoside and asiaticoside in *Centellae Herba* was 101.2% and 101.6% ($n=9$), and that of its 11 batches of total glucosides was 100.3% and 99.3%, respectively. Under the qualitative conditions, the six common peaks in HPLC specific chromatogram of its 11 batches of total glucosides could be used as marker peaks for qualitative identification. **Conclusion** The analytical method is proved to be convenient and accurate, which can be used for the quality control of *Centellae Herba* and its total glucosides.

Key words: *Centellae Herba*; *Centellae Herba* total glucosides; madecassoside; asiaticoside

积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的干燥全草,其提取物可制成如积雪苷片、积雪苷霜(脂)软膏等药品品种,具有促进伤口愈合、抑制疤痕增生等功效^[1-2]。2005 年版《中国药典》中,积雪草药材项下无定量测定方法;而其总苷的质量标准收载于卫生部药品标准中药成方制剂第十三册积雪苷片剂质量标准的附注项下,定量测定方法为紫外分光光度法,方法操作繁琐,专属性和准确性差,在控制药品的质量方面尚有所欠缺。为此,在 2010 年版《中国药典》药品标准研究工作中,采用 β -环糊精为流动相添加剂对积雪草中的羟基积雪草苷和积雪草苷进行分离,建立了积雪草药材及其总苷中的主要成分羟基积雪草苷和积雪草苷的定量测定方法与积雪草总苷的高效液相色谱特征图谱,从而完善积雪草药材及其总苷的质量标准。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司);Agilent 1100

Series 高效液相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司);Sartorius BS2202/CP225D 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

甲醇、乙腈均为色谱纯(德国 Merck 公司);水为超纯水(Milli-Q); β -环糊精购自国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。羟基积雪草苷和积雪草苷对照品(质量分数>98%)由 Sigma 公司提供;9 批积雪草药材和 11 批积雪草总苷样品的来源和批号见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验:色谱柱为 Dikma DiamonsilTM C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相为乙腈-2 mmol/L β -环糊精溶液(24:76);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 205 nm;柱温 30 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ L。理论塔板数按积雪草苷峰计算应不低于 4 000。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取羟基积雪草苷和积雪草苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度为 0.2

表 1 积雪草药材及积雪草总苷样品的来源和批号

Table 1 Origins and lot number of *Centellae Herba* and its total glucosides

No.	批 号	积雪草药材样品来源	No.	批 号	积雪草总苷样品来源
1	080703*	浙江中医药大学中药饮片厂	1	090105*	广西昌洲天然产物开发有限公司
2	080815	浙江中医药大学中药饮片厂	2	090110	广西昌洲天然产物开发有限公司
3	080816	浙江中医药大学中药饮片厂	3	090205	广西昌洲天然产物开发有限公司
4	071104	上海康桥中药饮片有限公司	4	080717	上海医药工业研究院
5	2006071125	上海德华国药制品有限公司	5	0802001	上海医药工业研究院
6	070506	上海虹桥中药饮片有限公司	6	080809	上海医药工业研究院
7	2007010216	上海雷允上中药饮片有限公司	7	080505	上海医药工业研究院
8	070819	上海养和堂中药饮片有限公司	8	AG080701	上海医药工业研究院
9	20071208	广东省药材公司中药饮片厂	9	080718	上海医药工业研究院
			10	080501	广州环叶制药有限公司
			11	080506	广州环叶制药有限公司

* 作为方法学考察用样品

* Used as sample for methodological study

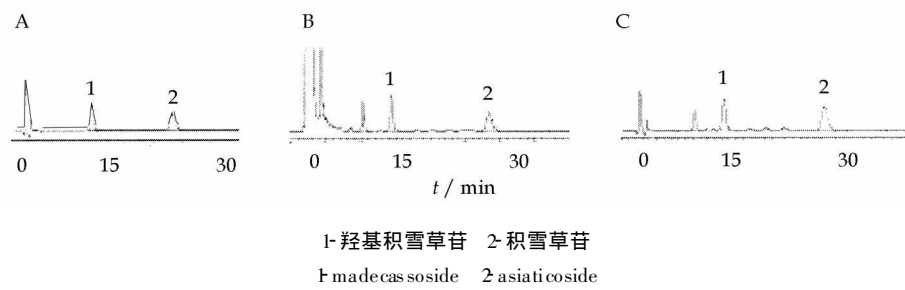


图 1 对照品 (A)、积雪草药材 (B) 和积雪草总苷 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), *Centellae Herba* (B), and its total glucosides (C)

mg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取积雪草药材粉末 (过 2 号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 180 W, 频率 42 kHz) 30 min, 放冷, 用 80% 甲醇补足减失的质量, 离心, 取上清液, 即得。

取积雪草总苷样品约 50 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察: 精密称取羟基积雪草苷和积雪草苷对照品适量, 加甲醇制成约 5 mg/mL 的对照品贮备液, 再精密吸取上述两种对照品贮备液适量, 制成 0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mg/mL 浓度系列的混合对照品溶液。分别精密吸取各混合对照品溶液 10 μ L 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行回归分析。结果羟基积雪草苷在 0.181~18.1 μ g 与峰面积值线性关系良好, 回归方程为 $Y = 250.2 X - 9.423$, $r = 0.99998$; 积雪草苷在 0.195~19.5 μ g 与峰面积值线性关系良好, 回归方程为 $Y = 265.1 X - 15.211$, $r = 0.99998$ 。

2.4.2 精密度试验: 精密吸取 0.2 mg/mL 的混合对照品溶液 10 μ L, 连续重复进样 6 次, 羟基积雪草苷和积雪草苷峰面积 RSD 分别为 0.36% 和 0.49%。

2.4.3 重现性试验: 取同一积雪草药材和积雪草总苷样品, 各 6 份, 按 2.3 项下的方法分别制备供试品溶液, 进样测定。积雪草药材中羟基积雪草苷和积雪草苷质量分数 RSD 分别为 1.04% 和 1.83%, 积雪草总苷中两者质量分数 RSD 分别为 0.14% 和 0.61%。

2.4.4 稳定性试验: 取积雪草药材和积雪草总苷样品, 各 1 份, 按 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 分别在 0、1、2、3、6、9、12、18、24 h 时进样测定, 积雪草

药材中羟基积雪草苷和积雪草总苷峰面积 RSD 值分别为 1.16% 和 0.74%, 积雪草总苷中两者峰面积 RSD 值分别为 0.16% 和 0.17%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 回收率试验: 精密称取已测定的积雪草药材样品粉末 0.25 g, 一式 9 份, 置具塞锥形瓶中, 以 3 份为一组, 分别精密加入相当于样品中已知量 50%、100%、200% 的对照品溶液, 按 2.3 项下的方法, 制备加样供试品溶液, 进样测定。结果羟基积雪草苷的平均加样回收率为 101.2%, RSD 为 1.51%; 积雪草苷的平均加样回收率为 101.6%, RSD 为 1.72%。另取已测定的积雪草总苷样品粉末 25 mg, 一式 9 份, 同法制备加样供试品溶液, 进样测定, 结果羟基积雪草苷的平均加样回收率为 100.3%, RSD 为 0.39%; 积雪草苷的平均加样回收率为 99.3%, RSD 为 0.30%。

2.4.6 样品测定: 取 9 批积雪草药材和 11 批积雪草总苷样品, 分别按 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 进样测定, 以外标法计算, 结果见表 2。

表 2 积雪草药材及积雪草总苷样品中羟基积雪草苷和积雪草苷的测定 ($n = 2$)

Table 2 Determination of madecassoside and asiaticoside in *Centellae Herba* and its total glucosides ($n = 2$)

序号	积雪草药材/%			积雪草总苷/%		
	羟基积雪草苷	积雪草苷	总和	羟基积雪草苷	积雪草苷	总和
1	1.10	0.13	1.23	28.8	37.9	66.7
2	0.97	0.67	1.64	37.2	27.3	64.5
3	0.42	0.50	0.92	34.7	30.9	65.6
4	0.68	0.68	1.36	22.9	36.5	59.4
5	0.56	0.08	0.64	37.3	23.6	60.9
6	0.39	0.00	0.39	22.6	37.7	60.3
7	0.64	0.19	0.82	36.5	27.5	64.0
8	0.85	0.78	1.63	21.8	37.9	59.7
9	0.80	0.08	0.88	35.6	27.3	62.9
10				35.8	28.5	64.3
11				36.0	28.6	64.6

2.5 特征图谱的建立

2.5.1 共有指纹峰的标定: 按照 2.2 和 2.3 项下

的对照品和供试品溶液的制备方法,对两种对照品和 11 批次积雪草总苷样品的 HPLC 图谱进行分析。结果表明各色谱峰在 40 min 内全部出峰,其特征图谱共包括 6 个共有峰(占总峰面积的 95% 以上),如图 2 所示,其中 2、6 号峰分别为羟基积雪草苷和积雪草苷,以 2 号羟基积雪草苷峰为内参比峰,分别计算其他各峰的相对保留时间和相对峰面积。6 个共有峰相对保留时间分别为:峰 1 (0.739)、峰 2 (1.000)、峰 3 (1.308)、峰 4 (1.478)、峰 5 (1.652)、峰 6 (2.069),11 批样品各共有峰相对保留时间的 RSD 值小于 0.5%。共有峰的相对峰面积见表 3。

2.5.2 相似度评价:将所得到的 11 批积雪草总苷色谱图导入国家药典委员会推荐的“中药指纹图谱评价系统(2004A 版)”,剪切掉前 6 min 的溶剂峰,通过色谱峰多点校正的方法,将谱峰自动匹配,然后

生成对照图谱,进行相似度评价,结果见图 3 和表 4。11 批积雪草总苷与对照图谱相似度均达到 0.96 以上,相似度良好。

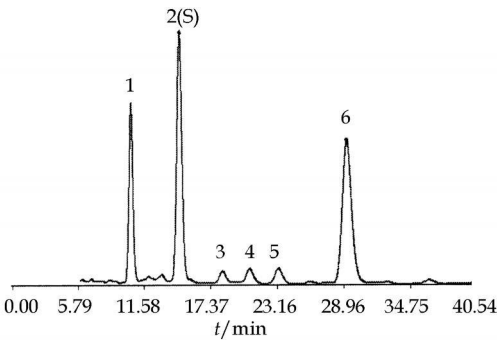


图 2 积雪草总苷标准特征图谱

Fig. 2 Standard HPLC specific chromatogram of *Centellae Herba* total glucosides

表 3 各批次积雪草总苷样品共有峰的相对峰面积

Table 3 Relative peak area of common peaks in different batches of *Centellae Herba* total glucosides samples

峰号	相对峰面积										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.505 1	0.459 7	0.530 3	0.606 1	0.554 8	0.604 7	0.566 4	0.600 6	0.568 3	0.574 5	0.580 6
2(S)	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
3	0.065 6	0.036 8	0.044 9	0.107 3	0.036 6	0.108 1	0.044 9	0.104 9	0.045 1	0.046 7	0.047 7
4	0.103 7	0.067 9	0.072 4	0.086 8	0.064 5	0.084 0	0.066 0	0.087 1	0.068 8	0.065 3	0.067 0
5	0.123 2	0.068 3	0.084 9	0.119 6	0.066 2	0.116 2	0.080 3	0.119 6	0.081 6	0.087 5	0.087 4
6	1.381 9	0.776 4	0.943 4	1.756 1	0.674 3	1.747 4	0.806 6	1.756 3	0.807 6	0.834 8	0.838 6

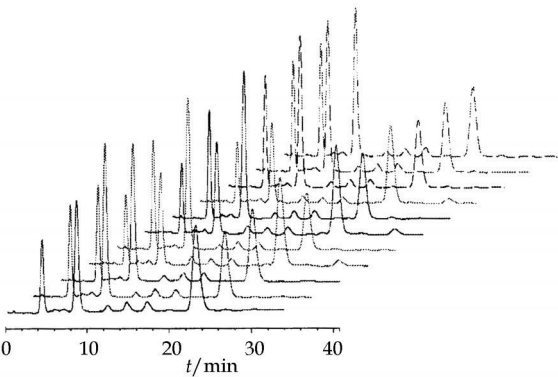


图 3 11 批积雪草总苷样品的 HPLC 色谱图
(自下而上,依次为样 1 至样 11)

Fig. 3 HPLC Chromatograms of 11 batches of *Centellae Herba* total glucosides (from bottom to top, followed by sample 1 to sample 11)

表 4 积雪草总苷样品特征图谱的相似度

Table 4 Similarities of specific chromatogram for *Centellae Herba* total glucosides

样品编号	相似度	样品编号	相似度
1	0.987	7	0.992
2	0.991	8	0.968
3	0.999	9	0.992
4	0.968	10	0.994
5	0.980	11	0.994
6	0.968		

3 讨论

3.1 干扰物的产生与确证:积雪草及其总苷所含的化学成分较为复杂,主要有效成分为羟基积雪草苷和积雪草苷,因而对分离的要求相对较高。文献曾报道过采用高效液相色谱法测定积雪草药材、积雪草总苷及其制剂中羟基积雪草苷和积雪草苷量的方法^[3-6],其中大多采用乙腈-水或者甲醇-水作为流动相,然而在上述体系的流动相条件下,供试品溶液色谱图中羟基积雪草苷色谱峰与其他色谱峰产生重叠。无论采用恒组分洗脱还是梯度洗脱都无法将其分开,说明该干扰峰与羟基积雪草苷的色谱行为极为相似,可能为它的同分异构体。

鉴于上述结果,我们尝试采用液相色谱-质谱法并结合细粒径的窄径柱的方法来排除羟基积雪草苷色谱峰的干扰,尝试了细粒径的窄径柱后,干扰峰与羟基积雪草苷色谱峰的分离度有了一定的提高,达到定量检测的要求,但窄径柱价格昂贵、柱压高、对样品前处理要求严格等缺点,限制了该方法的通用性。其次,从质谱图中可以看出,羟基积雪草苷色谱峰处的干扰峰同样出现在质谱图中,说明该干扰物在离子化后产生的母离子具有与羟基积雪草苷母离

子一样的分子量,再次证明了我们之前的推断,干扰物极有可能是羟基积雪草苷的同分异构体。结合相关文献的报道^[7],推断干扰峰为积雪草苷 B,它与羟基积雪草苷是一对乌苏烷型和齐墩果烷型结构异构的同分异构体。

3.2 异构体的分离:目前对于 HPLC 法拆分异构体的方法主要有手性试剂衍生、采用手性柱、手性流动相添加剂法等,其中手性流动相添加剂法有其独特的优点。据文献报道,潘见等^[8]采用 β -环糊精流动相添加剂法来分离测定积雪草总苷元中的羟基积雪草酸。因此我们尝试采用同样的方法来分离积雪草总苷中的羟基积雪草苷和积雪草苷 B。试验证明, β -环糊精的加入,使各异构体与 β -环糊精形成不同空间位阻的包含物,得到了不同的保留时间。而且随着 β -环糊精浓度的增加,羟基积雪草苷峰与积雪草苷 B 峰的分离度越高,而流动相的 pH 值对于色谱峰形、分离效果等均无显著影响。由于高浓度的 β -环糊精水溶液存在溶解性的问题(1.85 g/100 mL, 25 °C),在权衡了各浓度 β -环糊精条件下的分离效果后,最终选择乙腈 2 mmol/L β -环糊精溶液(24:76)作为流动相条件。

4 结论

本实验对积雪草药材及其总苷的测定方法进行了研究。通过在流动相中添加 β -环糊精,成功地区

分了样品中的异构体,建立了样品中羟基积雪草苷和积雪草苷的定量测定方法;同时,在此基础上建立了积雪草总苷的 HPLC 特征图谱,所得图谱中共确定了 6 个共有峰,非共有峰面积所占总面积均小于 5%,各共有峰的相对保留时间均十分稳定。各批号样品的相似度均在 0.95~1.00,表明不同批号样品间具有很高的相似度。方法快速简便、结果准确、重现性好,为积雪草药材及其总苷的质量控制提供了有价值的参考。

参考文献:

- [1] 秦路平,庄卫国,郑汉臣,等.积雪草研究进展[J].国外医药·植物药分册,1997,12(4):154-157.
- [2] 张蕾磊,王海生,姚庆强,等.RP-HPLC 法测定积雪草中积雪草苷和羟基积雪草苷[J].中草药,2007,38(3):455-456.
- [3] 陆兴毅,冯丽娟.HPLC 法测定积雪草总苷中羟基积雪草苷和积雪草苷的含量[J].中国药师,2008,11(1):62-63.
- [4] 张锐,彭杨锐.高效液相色谱-蒸发光散射测定积雪草苷霜软膏中羟基积雪草苷和积雪草苷[J].中草药,2007,38(3):386-387.
- [5] 邹节明,周艳林,吴敏菊.HPLC-ELSD 法测定三金片和三金胶囊中积雪草苷和羟基积雪草苷的含量[J].药物分析杂志,2005,25(10):1250-1252.
- [6] 张蕾磊,王海生,姚庆强,等.积雪草化学成分研究[J].中草药,2005,36(12):1761-1763.
- [7] 潘见,开桂青,袁传勋,等. β -环糊精流动相添加剂法分离测定积雪草总苷元中的羟基积雪草酸[J].色谱,2007,25(3):316-318.

三叶木通 AFLP 反应体系的建立及优化

王喆¹,张铮^{1,2,3*},褚会娟¹,王喆之^{1,2,3}

(1. 陕西师范大学生命科学学院,陕西 西安 710062; 2. 陕西师范大学 药用资源与天然药物化学教育部重点实验室,陕西 西安 710062; 3. 西北濒危药材资源开发国家工程实验室,陕西 西安 710062)

摘要:目的 为研究三叶木通种质资源遗传多样性,建立并优化三叶木通 AFLP 反应体系。方法 以三叶木通叶片为材料,对影响 AFLP 反应体系中连接、预扩增和选择性扩增的各因素进行分析,建立优化的 AFLP 反应体系。结果 建立三叶木通 AFLP 反应优化体系:连接体系加入 T_4 连接酶 2 U, Mse I 接头 100 pmol, Eco R I 接头 10 pmol;预扩增反应总体积 20 μ L,加入连接产物 2.0 μ L, E -0、 M -0 各 100 ng, dNTPs 0.250 mmol/L, Mg^{2+} 1.875 mmol/L, Taq DNA 聚合酶 2 U;选择性扩增反应总体积 20 μ L,加入 5 μ L 稀释 100 倍的预扩增产物, E_3 、 M_3 各 50 ng, dNTPs 0.250 mmol/L, Mg^{2+} 1.875 mmol/L, Taq DNA 酶 1.5 U。结论 建立适用于三叶木通种质资源遗传多样性研究的 AFLP 反应优化体系。

关键词:三叶木通; AFLP; 优化

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)12-2074-05

收稿日期:2010-02-02

基金项目:陕西省科技攻关项目(2010K17-05)

作者简介:王喆(1985—),女,河北省石家庄市人,硕士,研究方向为植物遗传多样性。E-mail: wzyeta@gmail.com

* 通讯作者 张铮 研究方向为植物遗传 E-mail: zhangzheng@snnu.edu.cn