

· 资源与鉴定 ·

土壤营养元素与栀子苷含量的通径分析

饶雅琪, 罗光明*, 龚雨虹, 魏春华, 袁源见, 张风波

(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:探讨土壤营养元素与栀子苷含量的相关关系。方法:运用 HPLC 法测定 52 个产区的栀子苷含量,根据土壤元素相关测定方法分别测出 52 个产区的 11 种土壤营养元素含量,将两者测定结果进行相关分析、回归分析,再经通径分析得出营养元素对栀子苷含量的直接作用、间接作用和综合作用。结果:相关分析得出各营养元素之间普遍存在极显著或显著关系;逐步回归分析筛选出有统计意义的 3 种营养元素,分别是有效铜、有效锰、有效锌;通径分析得出 3 种营养元素影响栀子苷含量的综合作用值排列顺序依次是有效铜 > 有效锌 > 有效锰,其中有效锌产生负相关作用。结论:土壤营养元素与栀子苷含量有一定相关性,经分析所得结果为指导栀子的规范化种植以及提高栀子的品质提供相关参考理论,但栀子生长过程和品质是多种因素互相作用的结果,对其他影响因素的全面分析仍有待于进一步研究。

[关键词] 栀子苷; 土壤营养元素; 通径分析; 相关性

[中图分类号] R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0023-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200023

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160830.0746.010.html>

[网络出版时间] 2016-08-30 7:46

Path Analysis of Soil Nutrient Elements and Content of Geniposide

RAO Ya-qi, LUO Guang-ming*, GONG Yu-hong, WEI Chun-hua, YUAN Yuan-jian, ZHANG Feng-bo

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship between soil nutrient elements and the content of geniposide. **Method:** The HPLC method and the correlation method of soil elements were used to determinate the content of geniposide and the 11 soil nutrient elements in 52 producing areas. The correlation analysis and the regression analysis were conducted to analyze the two test results. A path analysis was conducted to define direct effects, indirect effects and combined effects of nutrient elements on the content of geniposide. **Result:** The correlation analysis results showed extremely significant or significant relations among the nutritional elements. Three nutrient elements with statistical significance were selected by stepwise regression analysis, namely effective copper, effective manganese, and effective zinc. According to the path analysis, the order of the three nutrient elements in the comprehensive effect on the content of geniposide is effective copper, effective manganese and effective zinc, among them, effective zinc had an effect in negative correlation. **Conclusion:** Soil nutrient elements and the content of geniposide have a certain correlation. The results of this paper provide the relevant reference theory for guiding standardized cultivation and improving the quality of gardenia. However, as the growth process and quality of *Gardeniae Fructus* are affected by many factors, the comprehensive analysis on other factors shall be further studied.

[Key words] geniposide; soil nutrient element; path analysis; correlation

[收稿日期] 20160427(008)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(201507002)

[第一作者] 饶雅琪,在读硕士,从事中药资源开发与利用研究工作,Tel:0791-87119059,E-mail:286328747@qq.com

[通讯作者] *罗光明,教授,博士,从事中药资源开发与应用研究工作,Tel:0791-87118982,E-mail:jzlgm88@163.com

梔子,始载于《神农本草经》,列为中品,又名山梔子、黄梔子,为茜草科常绿灌木。其干燥成熟果实可入药,具有凉血散瘀、泻火除烦、清热利湿等功效^[1]。现代药理作用研究表明其有解热、镇静、保肝利胆、抗炎镇痛等功能,在心血管系统疾病方面也有应用^[2-4]。近年来的研究表明,土壤作为药用植物吸收养分的主要载体,直接影响中药材产量以及化学成分的积累;土壤营养元素与中药道地性也有一定的关联^[5-6]。目前对于梔子的研究大多数集中在化学成分及药理作用方面,关于土壤质量对其药效成分和产量有影响的相关报道较少。不同栽培地点的梔子药效成分和产量有所差别,除了气候因素外,土壤质量也是重要影响因素。随着梔子人工栽培规模不断扩大,栽培技术和条件显得尤其重要,而土壤质量是栽培的基础,影响作物生长发育和产量品质。韩建萍等^[7]采用主成分分析法得出了土壤中矿质元素和梔子苷含量存在相关性的结论。通径分析是将一个相关系数,根据其成因分解为若干组成部分,能更清楚地认识各因素对效应因素产生的直接和间接作用,在农业科研方面应用较多。本文旨在通过收集不同梔子产地的土壤和果实,将土壤中 11 种营养元素和梔子苷含量的测定结果进行相关、回归和通径分析,从而获得两者的相关性数据,得出直接和间接影响梔子苷含量较明显的营养元素,以期为梔子药材栽培生产方面提供相关理论依据。

1 材料

2996-2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),UV-2100 型紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),AA-6880 型原子吸收分光光度计(广东科晓分析仪器公司),K12 型全自动定氮仪(上海晟声自动化分析仪器有限公司),BP224S 型 1/万天平(Sartorius 公司)。

乙睛(色谱纯,美国 Tedia 公司);磷酸、硫酸、硼酸、草酸、盐酸、氢氧化钠、硫酸亚铁、钼酸铵、甲基红、溴甲酚绿、重铬酸钾(西陇化工股份有限公司,批号分别为 U1001602, U1002288, U1002015, U1002302, U1002650, U1000247, U1000654, U1002366, U1000694, U1001331, U1001343);醋酸铵(常州市优胜化工厂,批号 121256);姜黄素(源叶生物,批号 S19245);梔子苷(中国食品药品检定研究院,批号 110749-201516)。

梔子成熟时期采集江西、湖南、湖北等全国 7 个省共 52 个产地(表 1)的梔子果实和土壤样本,装于自封袋中保存。经江西中医药大学葛菲教授鉴定为

药用植物梔子 *Gardenia jasminoides* 的果实,土壤样品自然风干后保存用于营养元素测定,果实于烘箱 60 ℃ 烘干用于梔子苷含量测定。

表 1 梔子样品产地采集信息

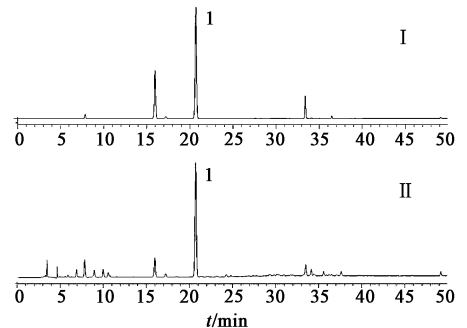
Table 1 Information of collecting *Gardeniae Fructus* sample in producing areas

省份	产地数量 / 个	采集时间
江西	10	2015-10-28—2015-11-03
福建	6	2015-10-30—2015-11-05
浙江	6	2015-10-28—2015-11-02
湖南	9	2015-11-05—2015-11-10
湖北	7	2015-10-28—2015-11-04
四川	8	2015-10-29—2015-11-05
广西	6	2015-11-05—2015-11-11

每个采样点按照随机、等量、多点混合原则,选取 5 株有代表性的植株,在每株树冠滴水线周围呈“之”字形选 5 个采样点,0 ~ 20 cm 土层均匀取样,土样混合均匀后用四分法取 1 kg 土样,风干过 60 目筛备用。

2 方法与结果

2.1 梔子苷含量测定 采用 RP-HPLC 检测梔子样品中的梔子苷含量。色谱条件、供试品和对照品溶液配制参照文献[8]。色谱柱为 DurashellC₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B);梯度洗脱:0 ~ 18 min(8 ~ 15% A);18 ~ 25 min(15 ~ 23% A);25 ~ 40 min(23 ~ 35% A);40 ~ 50 min(35 ~ 50% A);检测波长 238 nm;柱温 30 ℃;流速 0.8 mL · min⁻¹;进样量 10 μL。方法学考察结果显示精密性、稳定性、重复性 RSD 值分别为 0.55%, 1.33%, 1.36%, 加样回收率为 99.32%, 均符合要求。对照品及代表性样品 HPLC 色谱图见图 1。梔子苷含量测定结果见表 2。



I. 对照品; II. 样品; 1. 梔子苷

图 1 梔子 238 nm HPLC 指纹谱

Fig. 1 238 nm HPLC fingerprint of *Gardeniae Fructus*

2.2 土壤 11 种营养元素含量测定 土壤 11 种营

养元素测定参照相关文献方法^[9-11],测定栀子苷质量分数(Y),有机质(X_1),碱解氮(X_2),有效磷(X_3),速效钾(X_4),有效钙(X_5),有效镁(X_6),有效铜(X_7),有效硼(X_8),有效铁(X_9),有效锰(X_{10}),有效锌(X_{11})。有效磷用钼锑抗显色剂比色法,有效

钙、有效镁、有效铜、有效铁、有效锌、有效锰用原子吸收分光光度计测定,有效硼用沸水浸提-姜黄素比色法,有机质用重铬酸钾-硫酸溶液氧化法,碱解氮用凯氏定氮法,速效钾用醋酸铵浸提-火焰光度计测定。结果见表 2。

表 2 52 个产地 11 种土壤营养元素和栀子苷质量分数

Table 2 Mass fractions of 11 soil nutrient elements and geniposide in 52 producing areas

产地 编号	$X_1/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_2/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_3/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_4/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_5/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_6/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_7/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_8/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_8/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_{10}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_{11}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$Y/\%$
1	13.1	35.8	267.00	110	1.74	0.19	0.220	1.310	15.2	8.61	0.361	4.885
2	25.8	35.0	5.08	174	2.20	0.28	0.300	1.020	16.6	50.40	0.602	4.565
3	17.8	117.0	1.42	258	0.36	0.28	0.400	0.942	19.1	2.17	1.200	3.691
4	18.7	93.2	2.73	55	0.52	0.12	0.740	0.842	167.0	9.16	2.250	3.663
5	19.2	69.1	36.20	136	3.00	1.28	0.520	0.693	30.0	100.00	0.883	3.340
6	21.9	101.0	8.56	78	1.40	0.52	0.300	0.665	14.7	79.30	0.673	3.832
7	22.1	157.0	6.33	126	0.79	0.34	0.560	0.949	38.8	122.00	2.150	3.558
8	22.2	126.0	10.00	235	0.72	0.60	0.530	0.760	20.0	110.00	2.230	6.393
9	22.0	53.3	4.03	35	0.04	0.07	0.330	0.337	10.2	1.95	0.903	0.753
10	33.5	91.6	1.32	32	0.04	0.06	0.550	0.978	35.2	1.99	0.974	3.126
11	40.5	143.0	18.50	92	0.42	0.12	0.190	0.764	153.0	69.50	1.580	1.398
12	20.1	85.7	3.64	130	1.74	0.44	0.270	0.538	14.7	16.80	0.673	1.006
13	247.0	363.0	4.80	116	0.44	0.15	0.230	1.530	458.0	475.00	15.100	4.378
14	15.6	85.7	14.40	174	0.54	0.28	0.420	1.070	38.1	90.70	1.750	0.841
15	53.8	282.0	19.60	322	5.26	2.18	1.810	1.430	227.0	90.80	6.340	5.580
16	18.8	126.0	28.40	53	0.82	0.24	2.320	1.040	185.0	79.80	4.100	5.685
17	17.5	109.0	6.34	74	3.36	0.79	1.380	0.722	196.0	106.00	1.160	6.612
18	17.9	132.0	5.57	110	4.93	0.95	1.730	0.667	169.0	104.00	0.933	6.769
19	17.7	117.0	5.71	90	5.41	0.96	1.740	0.600	173.0	100.00	0.963	5.993
20	17.7	140.0	11.20	131	9.48	1.23	1.050	0.800	167.0	13.60	0.954	6.959
21	18.2	126.0	13.00	177	8.18	0.94	1.040	0.659	147.0	80.50	0.733	5.741
22	17.9	110.0	6.25	134	8.90	1.02	0.915	0.542	100.0	79.70	0.743	6.700
23	11.9	51.6	1.42	15	0.17	0.06	0.120	0.314	35.0	0.93	0.211	3.134
24	19.3	92.4	3.16	104	20.80	0.38	0.402	0.396	11.1	7.44	0.401	3.676
25	19.2	101.0	2.10	61	14.20	0.62	0.442	0.385	15.4	13.60	0.482	4.126
26	24.3	93.2	3.74	40	13.20	0.75	1.140	0.359	16.1	9.36	0.421	6.194
27	24.8	117.0	4.31	64	0.17	0.15	0.976	0.481	38.9	71.80	3.090	1.119
28	10.3	77.4	7.40	65	0.21	0.11	0.483	1.640	15.5	15.70	0.632	1.148
29	24.4	93.2	15.80	104	1.46	0.60	1.250	0.434	38.2	102.00	3.690	4.166
30	33.9	110.0	3.35	120	0.10	0.10	0.211	0.494	119.0	9.49	2.990	1.229
31	50.1	174.0	6.72	52	0.07	0.09	1.080	0.272	177.0	4.48	1.810	3.417
32	55.2	248.0	7.79	99	4.88	1.06	2.670	0.826	172.0	69.10	2.680	4.046
33	34.1	84.9	16.50	114	5.83	0.50	0.543	0.670	63.6	42.50	4.480	3.090
34	33.1	148.0	14.30	48	4.08	0.78	1.150	0.653	187.0	60.50	4.710	4.618
35	46.9	149.0	4.99	46	0.24	0.12	0.332	0.237	233.0	8.26	2.730	1.861
36	115.0	480.0	52.00	140	28.60	16.30	1.430	3.870	531.0	444.00	31.300	1.372
37	9.0	50.8	8.27	149	7.45	1.94	0.513	0.812	69.8	5.82	1.160	3.888
38	36.4	141.0	4.40	97	0.26	0.20	0.543	2.400	36.5	38.90	2.230	5.095
39	37.8	140.0	3.16	37	0.53	0.12	0.251	0.376	229.0	8.67	3.000	4.291
40	23.6	214.0	19.80	106	2.64	0.34	0.573	1.120	147.0	53.60	1.660	5.194
41	38.1	167.0	1.52	108	2.49	1.40	0.563	0.539	80.5	69.50	1.300	5.563
42	18.1	217.0	23.30	40	1.48	0.60	2.670	0.425	144.0	37.90	2.060	5.868
43	9.7	67.4	12.20	93	3.62	1.65	0.644	0.348	246.0	49.30	1.080	3.278
44	22.8	126.0	13.40	167	5.30	2.75	1.090	1.050	132.0	73.50	1.920	4.862
45	20.0	132.0	4.60	172	6.59	4.11	0.915	0.738	141.0	90.30	1.340	4.826

续表 2

产地 编号	$X_1/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_2/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_3/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_4/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_5/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_6/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_7/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_8/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_8/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_{10}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$X_{11}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Y/%
46	20.1	117.0	5.08	114	12.20	0.62	0.483	0.633	174.0	78.50	0.803	5.314
47	18.3	92.4	50.50	214	6.56	1.14	1.850	0.691	57.1	72.10	3.620	2.649
48	31.1	142.0	66.70	301	9.89	2.44	0.986	1.090	127.0	7.61	3.240	5.221
49	31.4	116.0	65.90	119	12.60	2.26	2.150	1.760	171.0	105.00	3.270	4.011
50	32.2	116.0	10.20	153	14.40	5.36	0.764	1.380	151.0	63.80	1.180	4.324
51	21.2	132.0	1.23	36	0.22	0.08	0.513	0.412	203.0	6.34	1.380	3.838
52	18.7	116.0	2.05	34	1.74	0.30	0.452	0.468	203.0	59.30	2.310	5.111

2.3 数据分析 数据整理由 Execl 2010 完成,以 椴子苷含量和土壤中 11 种营养元素含量建立分析数据库,运用 SPSS 19.0 将两者进行相关分析、回归分析和通径分析^[12]。

3 分析

3.1 椴子苷和土壤营养元素相关性分析 52 个产地的 11 种土壤营养元素和椴子苷含量相关性分析

结果见表 3。从表 3 可得椴子苷含量和有效铜成极显著正相关,11 种营养元素之间广泛存在着极显著或显著关系。其中有机质、速效钾、有效镁等 8 种营养元素各与其中一半以上营养元素存在极显著关系。所以需要进一步通过通径分析得出各营养元素对椴子苷含量产生的直接作用,以及一种元素通过另一种元素产生的间接作用。

表 3 各指标间的相关系数矩阵

Table 3 Correlation coefficients matrix among indexes

相关系数	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}	Y
X_1	1											
X_2	0.735 ²⁾	1										
X_3	-0.034	-0.056	1									
X_4	0.330 ²⁾	0.644 ²⁾	0.171	1								
X_5	0.096	0.321 ¹⁾	0.090	0.606 ²⁾	1							
X_6	0.278 ¹⁾	0.600 ²⁾	0.128	0.913 ²⁾	0.703 ²⁾	1						
X_7	-0.024	0.337 ²⁾	0.051	0.145 ²⁾	0.224	0.226	1					
X_8	0.416 ²⁾	0.579 ²⁾	0.279 ¹⁾	0.750 ²⁾	0.401 ²⁾	0.706 ²⁾	0.143	1				
X_9	0.661 ²⁾	0.780 ²⁾	-0.035	0.487 ²⁾	0.280 ¹⁾	0.542 ²⁾	0.274 ¹⁾	0.415 ²⁾	1			
X_{10}	0.800 ²⁾	0.750 ²⁾	0.024	0.613 ²⁾	0.303 ¹⁾	0.573 ²⁾	0.155	0.597 ²⁾	0.680 ²⁾	1		
X_{11}	0.697 ²⁾	0.824 ²⁾	0.095	0.844 ²⁾	0.435 ²⁾	0.779 ²⁾	0.170	0.720 ²⁾	0.729 ²⁾	0.825 ²⁾	1	
Y	-0.082	0.054	0.047	0.151	0.141	-0.088	0.366 ²⁾	-0.090	0.098	0.007	-0.196	1

注: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 椴子苷和土壤营养元素回归分析 对椴子苷含量(Y)进行正态性检验得 Y 服从正态分布,进行椴子苷含量和 11 种营养元素的多元线性逐步回归,自动剔除无统计显著性的自变量,建立最优的回归方程,最后筛选出对椴子苷含量有显著影响的 3 种重要营养元素,分别是 X_7, X_{10}, X_{11} , 相对系数 $r = 0.534$, 绝对系数 $R^2 = 0.285$, 标准回归系数(即直接通径系数)分别是 0.403, -0.683, 0.507。对椴子苷含量的作用 X_7, X_{10} 为正, X_{11} 为负。线性回归方程为 $Y = 0.032 + 0.011 X_7 - 0.003 X_{11} + 9.815 \times$

$10^{-5} X_{10}$ 。

3.3 椴子苷和土壤营养元素通径分析 通过对椴子苷含量有显著影响的 3 种营养元素的通径分析,可以得出营养元素对椴子苷含量的直接通径系数、间接通径系数和综合作用。见表 4。

对椴子苷含量产生影响的直接作用排列顺序是有效锌 > 有效锰 > 有效铜,有效锰、有效铜产生正相关作用,而有效锌产生负值的直接作用,说明有效锌与椴子苷含量是负相关作用。对椴子苷含量产生影响的总间接作用排列顺序是有效锰 > 有效锌 > 有效

表 4 栀子苷含量与营养元素的通径系数

Table 4 Path coefficient of content of geniposide and nutrient elements

自变量	综合作用	通径系数(直接作用)	间接通径系数(间接作用)		
			X_7	X_{11}	X_{10}
X_7	0.365 475	0.403	-	-0.116 110	0.078 585
X_{11}	-0.196 215	-0.683	0.068 510	-	0.418 275
X_{10}	0.005 990	0.507	0.062 465	-0.563 475	-

铜,有效锰和有效铜对栀子苷含量产生负相关作用。由综合作用可得影响栀子苷含量的排列顺序是有效铜 > 有效锌 > 有效锰,有效锌产生负值作用。有效铜综合相关作用最大与表 3 中的相关分析结果一致。

4 讨论

本文在相关分析和逐步回归分析的基础上根据通径分析得出土壤营养元素与栀子苷含量的相关性。证实了有效铜、有效锰、有效锌对栀子苷含量存在直接和间接作用,其中有效铜、有效锰对栀子苷含量是产生正值的直接作用,有效锌则是产生负值的直接作用,综合作用最大的是有效铜。该结果与其他研究结果有着相同之处,大量研究表明微量元素的含量是影响植物产品品质的重要因素,当土壤中缺乏微量元素时,植物体内重要代谢功能会失调,对产品品质就会有影响。增加微量元素的供给,药材中有些有效成分含量会有所增加,有利于药材发挥其药理作用,增加药材利用度。

回归方程中决定系数 $R^2 = 0.285$,则剩余因子 $e = 0.845 58$,说明这 11 种土壤营养元素不能完全代表影响栀子苷含量的因素,还有其他一些影响较大的因素没有考虑到,比如气候因素、地质条件等。对栀子苷含量影响因素的多面分析存在欠缺,有待于更进一步研究,以期对栀子栽培提供相应的理论指导。

土壤质量和栀子品质的关系较为复杂,本文仅分析了成熟时期的土壤中 11 种营养元素对其品质的影响,对于指导栀子人工栽培方面有一定的理论基础但存在局限性。栀子作为药食两用资源,应用十分广泛,今后仍应致力于相关实验,从栀子整个生长时期中土壤营养元素的分布转运规律进行更全

面的分析,为扩大栀子栽培基地及培育高产优质栀子提供相关参考依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:173.

[2] 倪慧艳,张朝晖,傅海珍. 中药栀子的研究与开发概述[J]. 中国中药杂志,2006,31(7):538-541.

[3] 游伟良,平其能,孙敏捷,等. 栀子苷的药理学研究新进展[J]. 药学进展,2012,36(4):158-162.

[4] 刘益华,李晶,林曼婷,等. 栀子有效成分栀子苷的现代研究进展[J]. 中国药学杂志,2012,47(6):406-409.

[5] 顾志荣,王亚丽,孙宇靖,等. 土壤矿质元素与当归药材质量的相关性分析[J]. 国际药学研究杂志,2014,41(4):483-489.

[6] 顾志荣,师富贵,金岩. 土壤无机元素与中药品质关系研究进展[J]. 广东微量元素科学,2013,20(11):18-22.

[7] 韩建萍,王永炎,张文生,等. 矿质元素及 pH 值与栀子中栀子苷含量的相关性[J]. 生命科学研究,2006,10(2):134-138.

[8] 苗琦,罗光明,罗扬婧,等. 栀子全国生产区划中指标成分多波长 HPLC 方法建立[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):300-302.

[9] 魏雪梅. 金雪梨营养元素测定分析及配方施肥研究[D]. 成都:四川农业大学,2006.

[10] 庞新安,姜喜,王亚萍. 原子吸收分光光度法测定果品中 8 种矿质元素含量[J]. 微量元素与健康研究,2008,25(5):51-52.

[11] 王海云,姜远茂,彭福田,等. 胶东苹果园土壤有效养分状况及与产量关系研究[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2008,39(1):31-38.

[12] 杜家菊,陈志伟. 使用 SPSS 线性回归实现通径分析的方法[J]. 生物学通报,2010,45(2):4-6.

[责任编辑 邹晓翠]