

红芪不同部位中 13 种无机元素分布规律研究

强正泽, 王 燕, 王明伟, 李 硕, 李成义*

甘肃中医药大学, 兰州 730000

摘要: 采用 ICP-MS 测定红芪不同部位中 13 种无机元素含量, 并对其进行单因素方差分析、聚类分析、相关性分析及因子分析, 分析不同部位红芪中 13 种无机元素的分布规律。发现红芪不同部位含有丰富的无机元素, 不同部位 As、Pb 含量无显著性差异 ($P > 0.05$), B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 含量具显著性差异 ($P < 0.05$), 13 种无机元素含量在红芪不同部位中存在极大值与极小值; 元素含量之间存在显著的或极显著的正(负)相关关系; 13 种无机元素将红芪不同部位分为两类, 根、叶及果实聚为第一类(I类), 茎、花聚为第二类(II); Ba、Mo、Al 元素是红芪不同部位的特征性元素。表明不同部位对不同元素的吸收具有一定的选择性, 不同部位的无机元素之间存在相互作用。

关键词: 红芪; 根; 茎; 叶; 花; 果实; 无机元素; 分布规律

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.4.016

Distribution of 13 Inorganic Elements in Different Parts of Hedysari Radix

QIANG Zheng-ze, WANG Yan, WANG Ming-wei, LI Shuo, LI Cheng-yi*

Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: The contents of 13 inorganic elements in different parts of Hedysari Radix were determined by ICP-MS. The distribution of the 13 inorganic elements in different samples was analyzed by one-way ANOVA, cluster analysis, correlation analysis and factor analysis. The results found that different parts of Hedysari Radix contained abundant inorganic elements, and the contents of As, Pb in different parts had no significant difference ($P > 0.05$), but the contents of B, Hg, Be, Al, Ti, V, Ga, Ba, Ce, Sr, Mo had significant difference ($P < 0.05$). There were maximum and minimum values for the content of 13 inorganic elements in different parts of Hedysari Radix and a significant positive or negative correlation existed between the contents of elements. Different parts of Hedysari Radix can be divided into two categories, by these 13 inorganic elements. Among them, roots, leaves and fruits clustered into the first group (I), stems and flowers clustered into the second group (II). Ba, Mo and Al were the characteristic elements of different samples. The results showed that different parts of Hedysari Radix had a certain selectivity in absorption of different elements, and the contents of inorganic elements in different parts existed correlations.

Key words: Hedysari Radix; Radix; Caulis; Folium; Flos; Fructus; inorganic elements; distribution

中药红芪为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根^[1], 是甘肃特产药材之一, 具有补气养血, 行滞通痹, 托毒排脓, 敛疮生肌等功效。其道地产区多为甘肃、四川、山西、陕西、内蒙古等地, 现今主要分布于甘肃陇南、定西地区等

地, 药用历史悠久^[2], 资源量丰富。前期研究发现, 红芪中部分无机元素与活性成分含量之间存在密切相关关系^[3]、无机元素表征了不同产区红芪质量之间的差异性^[4]、红芪野生与栽培生长类型与无机元素含量存在密切关系、无机元素鉴别野生与栽培红芪有一定可行性^[5]、通过无机元素含量可对板蓝根产区进行归属和鉴别^[6]等。也有学者发现, 药材中无机元素与药材的药效、药性及相关成分如总黄酮、咖啡酸、阿魏酸、槲皮素酚酸、多酚化合物等含量呈正相关或负相关关系^[7-10]。此外, 某些无机元素与人体代谢及疾病密切相关^[11,12], 如钒(V)元素有助于脂肪与胆固醇的代谢, 锶(Sr)与人体骨骼的形成

收稿日期: 2016-11-09 接受日期: 2017-01-16

基金项目: 国家自然科学基金(81360621); 2015 联合研发横向项目; 2015 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室开放基金(zzy-2015-01); 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地开放基金(ZYZL16-005); 甘肃省高校人文社科重点研究基地敦煌医学文献整理与应用研究中心开放基金(DHYX2016-01)

* 通讯作者 Tel: 86-931-8765385; E-mail: gslhengyi@163.com

密切相关,硼(B)具有增加骨密度、预防骨丢失作用,微量砷(As)能改善造血功能,许多癌症患者都与缺钼(Mo)有很大的关系。因此,研究中药中无机元素的规律,对中药的物质基础及资源利用具有实际意义。

本文通过测定采收期红芪不同部位(根、茎、叶、花、果实)中13种无机元素的含量,采用单因素方差、聚类、相关性、因子等分析方法分析其分布规律,为红芪的物质基础的研究及资源的综合利用提供参考。

1 材料与仪器

1.1 样品来源

采集甘肃省陇西县首阳镇首阳村(104°25'12.34"E,35°05'44.67"N,1896.9 m)2014年10月的栽培红芪根(G)、茎(J)、叶(Y)、花(H)、果实(gs),经甘肃中医药大学中药鉴定教研室李成义教授鉴定,为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz.,根经搓条加工后晾干,茎、叶、花、果实均晾干,备用。

1.2 仪器

电感耦合等离子质谱仪(ICP-MS,仪器型号:ELAN DRC-e)、SB450300型电热板(湖北英山国营无限电元件厂)、101-2型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂)、VPH-1-5T型超纯水制造系统

(南京易普易达科技发展有限公司)、BS 224型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。实验所需量瓶等玻璃仪器,使用前均用铬酸洗液浸泡24 h,后用自来水、蒸馏水冲洗干净,50℃烘干备用。

1.3 试剂

As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo标准溶液(浓度1000 μg/mL)均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心,高氯酸、浓硝酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 不同部位红芪样品处理

将红芪的根、茎、叶、花、果实分别用自来水冲洗干净,后用蒸馏水清洗后于60℃的恒温干燥箱烘至恒重,用研钵研细。每份样品平行二份,精密称取1.0000 g粉末于100 mL烧杯中,准确加入浓硝酸与高氯酸(4:1)液20 mL,放置24 h后于电热板上加热消化处理,使其保持微沸状态,至溶液呈无色透明状,停止加热,冷却后用1%的硝酸定容于50 mL容量瓶中,备用。空白溶液同样操作。

2.2 ICP-MS测定条件及标准曲线

红芪不同部位根、茎、叶、花、果实中As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr及Mo元素含量测定方法均采用电感耦合等离子质谱法(ICP-MS),各元素测定条件见表1。

表1 测定条件及标准曲线

Table 1 The measurement conditions and standard curve

元素 Elements	检测元素 质量数 Detection of element mass	等离子 体流量 Plasma flow rate (L/min)	脉冲电压 Pulse voltage (V)	雾化气流量 Nebulizer flow (L/min)	模拟电压 Analog voltage (V)	低质量截取 RPq (mL/min)	冷却气流量 Cooling air flow (L/min)	RF功率 RF power (W)	线性方程 Linear equation
As	74.922	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 286.52x
Pb	207.977	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 2069.89x
Hg	201.971	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 297.366x
Be	9.012	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 71.8548x
B	11.009	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 47.404x
Al	26.982	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 885.183x
Ti	46.952	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 136.072x
V	50.944	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 1866.47x
Ga	68.9257	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 1439.04x
Ba	137.905	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3094.4x
Ce	139.905	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3527.84x
Sr	87.9056	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 3043.83x
Mo	97.9055	15	950	8	-1900	0.25	1.2	1100	y = 712.886x

2.3 样品含量测定

将处理的红芪不同部位样品液依次注入电感耦合等离子质谱仪,按照“2.2”项下 ICP-MS 测定条件及标准曲线测定并计算 13 种无机元素的含量。为

了考察测定方法的准确度,以红芪根样品做了加样回收率实验,平行 6 份,加样回收率为 93.2275% ~ 106.6430%,RSD 值为 0.5% ~ 2.5%,符合实验要求,红芪不同部位 13 种无机元素含量见表 2。

表 2 红芪不同部位 13 种无机元素含量(mg/Kg)

Table 2 The content of 13 inorganic elements of different parts from Hedysari Radix(mg/Kg)

No.	As	Pb	Hg	Be	B	Al	Ti
G	0.360 ± 0.042	1.485 ± 0.573	0.025 ± 0.001	0.026 ± 0.001	32.520 ± 1.980	649.035 ± 9.270	10.070 ± 0.665
J	0.230 ± 0.106	1.61 ± 0.240	0.008 ± 0.002	0.013 ± 0.002	35.690 ± 0.226	303.570 ± 25.399	10.870 ± 0.339
Y	0.180 ± 0.134	1.795 ± 0.346	0.007 ± 0.000	0.047 ± 0.004	37.015 ± 4.999	563.275 ± 87.759	24.780 ± 2.418
H	0.170 ± 0.021	0.895 ± 0.064	0.004 ± 0.001	0.010 ± 0.003	21.810 ± 3.804	211.080 ± 19.898	11.905 ± 0.813
gs	0.210 ± 0.007	0.765 ± 0.233	0.002 ± 0.000	0.010 ± 0.001	39.895 ± 0.262	789.765 ± 8.521	14.240 ± 4.186
NO.	V	Ga	Ba	Ce	Sr	Mo	
G	2.135 ± 0.007	0.500 ± 0.028	7.345 ± 0.346	1.015 ± 0.035	43.970 ± 0.198	3.285 ± 0.064	
J	1.615 ± 0.304	0.525 ± 0.035	11.175 ± 0.700	0.535 ± 0.078	41.420 ± 0.283	1.215 ± 0.559	
Y	19.280 ± 2.418	1.735 ± 0.403	21.270 ± 1.556	1.435 ± 0.092	70.520 ± 3.451	0.360 ± 0.141	
H	6.220 ± 1.075	0.305 ± 0.007	3.910 ± 0.042	0.330 ± 0.000	16.450 ± 0.071	0.450 ± 0.057	
gs	25.100 ± 1.966	1.385 ± 0.078	5.540 ± 0.905	0.330 ± 0.028	23.270 ± 1.315	1.155 ± 0.318	

2.4 数据处理

以红芪不同部位 13 种无机元素含量组成数据矩阵,采用 SPSS 21.0 软件对数据进行单因素方差分析、相关性分析、聚类分析及因子分析。

2.4.1 单因素方差分析

以红芪不同部位为变量,13 种无机元素含量为因变量,对其进行单因素方差分析,结果见表 3,结果显示红芪不同部位 As、Pb 元素含量无显著性差异($P > 0.05$),红芪不同部位 B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 元素含量具显著性差异($P < 0.05$),同时由表 2 可知,红芪不同部位种 As、Pb、B、

Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 元素含量存在极大值与极小值的特点,As 元素含量在根中最高,花中最低;Pb 元素含量叶中最高,果实中最低;B 元素含量果实中最高,花中最低;Hg 元素含量根中最高,果实中最低;Be 元素含量叶中最高,果实中最低;Al 元素含量果实中最高,花中最低;Ti 元素含量叶中最高,根中最低;V 元素含量果实中最高,茎中最低;Ga 元素含量叶中最高,花中最低;Ba 元素含量叶中最高,花中最低;Ce 元素含量叶中最高,花中最低;Sr 元素含量根中最高,花中最低;Mo 元素含量根中最高,叶中最低。

表 3 单因素方差分析结果

Table 3 The results of single factors analysis of variance

No.	平方和 Sum of square	df	均方 Mean square	F	Sig.
As	0.064	4	0.016	2.522	0.169
Pb	1.650	4	0.413	3.655	0.094
Hg	0.001	4	0.000	121.964	0.000
Be	0.002	4	0.000	95.750	0.000
B	391.198	4	97.799	11.240	0.010
Al	464364.957	4	116091.239	65.211	0.000
Ti	290.402	4	72.601	14.762	0.006
V	913.598	4	228.399	104.196	0.000

No.	平方和 Sum of square	df	均方 Mean square	F	Sig.
Ga	3.173	4	0.793	23.250	0.002
Ba	384.613	4	96.153	124.839	0.000
Ce	1.873	4	0.468	141.431	0.000
Sr	3559.847	4	889.962	323.359	0.000
Mo	11.149	4	2.787	31.633	0.001

2.4.2 相关性分析

以红芪不同部位为变量,13种无机元素含量为因变量,对其进行相关性分析,结果见表4,结果表明,红芪不同部位13种无机元素含量之间存在显著的或极显著的相关关系,其中Pb元素与Hg、Be、Ba、Ce元素含量之间存在极显著的正相关关系,相关系数分别为0.793、0.830、0.806、0.894,与Sr元素含量之间存在显著的正相关关系,相关系数为0.758;Hg元素与Be、Ce、Sr元素含量之间存在显著的正相关关系,相关系数分别为0.750、0.758、0.652;Be元素与Ce、Sr元素含量之间存在极显著的正相关关系,相关系数分别为0.918、0.855,与Ba元素含量

之间存在显著的正相关关系,相关系数为0.721;B元素与Ga元素含量之间存在显著的正相关关系,相关系数为0.721;Ti与V元素含量之间存在显著的正相关关系,相关系数为0.648,与Mo元素含量之间存在极显著的负相关关系,相关系数为-0.818;Ga与Ba元素含量之间存在显著的正相关关系,相关系数为0.648;Ba元素含量Ce、Sr元素含量之间存在极显著的正相关关系,相关系数分别为0.851、0.891;Ce元素与Sr元素含量之间存在极显著的正相关关系,相关系数为0.936;其他元素含量之间相关关系未达显著。

表4 相关性分析结果

Table 4 The results of correlations

No.	As	Pb	Hg	Be	B	Al	Ti	V	Ga	Ba	Ce	Sr	Mo
As	1.000												
Pb	0.309	1.000											
Hg	0.555	0.793 **	1.000										
Be	0.370	0.830 **	0.750 *	1.000									
B	0.006	0.248	-0.146	0.139	1.000								
Al	0.333	-0.055	-0.018	0.103	0.539	1.000							
Ti	-0.527	0.006	-0.494	0.115	0.248	-0.079	1.000						
V	-0.442	-0.418	-0.616	-0.176	0.321	0.491	0.648 *	1.000					
Ga	0.164	0.370	-0.006	0.455	0.721 *	0.576	0.527	0.527	1.000				
Ba	0.515	0.806 **	0.518	0.721 *	0.467	0.091	0.176	-0.200	0.648 *	1.000			
Ce	0.462	0.894 **	0.758 *	0.918 **	0.182	0.122	0.109	-0.207	0.498	0.851 **	1.000		
Sr	0.600	0.758 *	0.652 *	0.855 **	0.321	0.273	0.067	-0.115	0.576	0.891 **	0.936 **	1.000	
Mo	0.576	0.006	0.415	0.006	0.006	0.527	-0.818 **	-0.358	-0.152	-0.139	-0.018	0.018	1.000

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

2.4.3 聚类分析

以红芪不同部位为变量,13种无机元素含量为因变量,采用系统聚类的方法,对数据进行聚类分析,结果见图1,由图可知,13种无机元素将红芪不同部位分为两类,根、叶及果实聚为第一类(I类),

茎、花聚为第二类(II),说明红芪的根、叶及果实中13种无机元素的含量、存在状态或代谢模式相似,红芪的茎、花中13种无机元素的含量、存在状态或代谢模式相似。

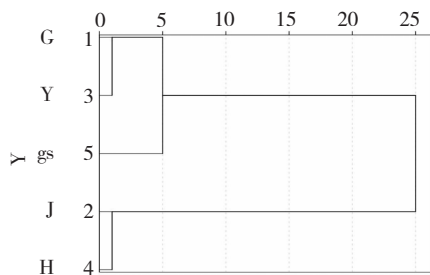


图1 红芪不同部位 13 种无机元素聚类图

Fig.1 Hierarchical clustering of 13 inorganic elements of different parts in Hedysari Radix

2.4.4 因子分析

以红芪不同部位为变量,13 种无机元素含量为因变量,对红芪不同部位无机元素进行因子分析,提取方法为主成份,旋转法采用具有 Kaiser 标准化的正交旋转法,由方差贡献率表 5 及图 2 可知,总共提

取了三个主成份,提取的三个主成分代表了总体信息的 89.40%,损失了 10.60% 信息,可以作为代表红芪不同部位 13 种无机元素的信息的主成分,其中 45.47% 的贡献率来自于第一主成分,27.27% 的贡献率来自于第 2 主成分,16.67% 的贡献率来自于第 3 主成分,结合最大方差法对因子载荷矩阵旋转后的结果表 6,第 1 主成分中得分系数较高的元素为 Ba,对第 1 主成分的贡献较大;第 2 主成分中得分系数较高的元素为 Mo,对第 2 主成分的贡献较大;第 3 主成分中得分系数较高的元素为 Al,对第 3 主成分的贡献较大,因此 Ba、Mo、Al 元素是红芪不同部位的特征性元素。在以上分析的基础上,以提取的三个主成分,对红芪不同部位进行作图,得到图 3,由图 3 可知根、茎、花为一类,叶、果为一类,这与聚类分析得到的结果一致。

表 5 提取主成份的方差贡献率

Table 5 Characteristic roots and contribution rate of principle components

成份 Ingredients	初始特征值 Initial eigenvalue			提取平方和载入 Extraction squared sum			旋转平方和载入 Rotation squared sum		
	合计 Total	方差 Variance (%)	累积 Cumulative (%)	合计 Total	方差 Variance (%)	累积 Cumulative (%)	合计 Total	方差 Variance (%)	累积 Cumulative (%)
1	5.91	45.465	45.465	5.91	45.465	45.465	5.168	39.757	39.757
2	3.545	27.267	72.732	3.545	27.267	72.732	3.273	25.178	64.935
3	2.167	16.672	89.404	2.167	16.672	89.404	3.181	24.469	89.404

表 6 成分得分系数矩阵

Table 6 Coefficient matrix of factor scores

No.	成份 Ingredients		
	1	2	3
As	0.019	0.240	0.054
Pb	0.198	0.036	-0.138
Hg	0.029	0.280	-0.020
Be	0.182	0.003	-0.011
B	-0.020	0.072	0.249
Al	-0.116	0.174	0.365
Ti	0.141	-0.151	0.045
V	-0.071	-0.100	0.288
Ga	0.021	-0.061	0.241
Ba	0.199	-0.074	-0.037
Ce	0.179	0.059	-0.018
Sr	0.188	0.029	-0.019
Mo	-0.072	0.314	0.084

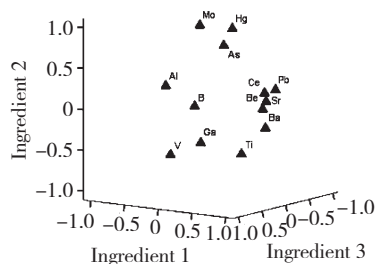


图 2 旋转空间中的成分图

Fig.2 The rotating composition diagram in space

3 讨论与结论

本实验以红芪不同部位根茎叶花果实为研究对象,采用 ICP-MS 测定不同部位种 13 种无机元素含量的含量,并对数据进行单因素方差分析、相关性分析、聚类分析及因子分析的处理,结果表明红芪不同

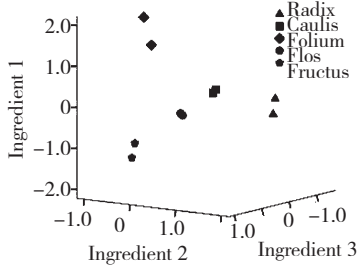


图3 基于三个主成分的红芪不同部位分布图

Fig. 3 Distribution of different parts in Hedysari Radix based three principal components.

部位含有丰富的无机元素,红芪不同部位 As、Pb 元素含量无显著性差异 ($P > 0.05$),红芪不同部位 B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 元素含量具显著性差异 ($P < 0.05$),同时 As、Pb、B、Hg、Be、Al、Ti、V、Ga、Ba、Ce、Sr、Mo 元素含量在红芪不同部位中存在极大值与极小值的特点;不同部位 13 种无机元素含量之间存在显著的或极显著的正相关、负相关关系,相关系数均为中等程度上相关;红芪的根、叶及果实中 13 种无机元素的含量、存在状态或代谢模式相似,红芪的茎、花中 13 种无机元素的含量、存在状态或代谢模式相似,Ba、Mo、Al 元素是红芪不同部位的特征性元素。以上研究表明,红芪不同部位对不同元素的吸收具有一定的选择性,不同部位的无机元素之间可能存在相互作用(促进或拮抗),具体作用及相关机制需进一步深入研究;这与滇龙胆自身的生物学特性及种植模式影响体内矿质元素的分布特征^[13],夏枯草药材与土壤中多数矿质元素含量无直接相关,主要通过选择性吸收调控药材中矿质元素含量^[14]等研究相似。

2015 版《中华人民共和国药典》并未对成熟期红芪根中重金属元素含量规定,但与红芪同科异属的黄芪^[15]对比发现,红芪不同部位中 As 元素含量最高值为 0.360 ± 0.042 mg/kg,小于 2 mg/kg;Pb 元素含量最高值为 1.795 ± 0.346 mg/kg,小于 5 mg/kg,Hg 元素含量最高值为 0.025 ± 0.001 mg/kg,小于 0.2 mg/kg,均符合 2015 版《中国药典》规定的限度,故茎、叶、花、果实均在安全范围类,具有药用的潜质。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press,

2015. Vol I, 152.

2 Li JY (李俊岳), Qiang ZZ (强正泽), Li CY (李成义). Literature study on Hedysari Radix. *China Pharm* (中国药房), 2015, 26: 4860-4862.

3 Qing ZZ (强正泽), Wang Y (王燕), Li CY (李成义), et al. Correlation analysis between contents of active ingredients and trace elements in Hedysari Radix from Gansu province. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1801-1810.

4 Li CY (李成义), Qiang ZZ (强正泽), Wang Y (王燕), et al. Study on quality evaluation of Hedysari Radix from different producing areas in Gansu province based on the contents of 12 trace elements. *Chin J Inf TCM* (中国中医药信息杂志), 2016, 23(6): 92-98.

5 Qing ZZ (强正泽), Li CY (李成义), Li S (李硕), et al. Identification of wild and cultivated Hedysari Radix based on trace elements. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, 22(12): 47-53.

6 Li CY (李成义), Qiang ZZ (强正泽), Wang MW (王明伟), et al. Study on locality identify and characteristics of trace elements in Radix Isatidis from Gansu province. *J Chin Med Mater* (中药材), 2015, 38: 2301-2305.

7 Song AH (宋爱华), Ma CR (马翠荣), Wang YS (王英淑). The relationship of traditional Chinese medicine and Trace elements. *Stu Trace Elements Health* (微量元素与健康), 2010, 27(5): 69.

8 Yang B (杨波), Wang ZG (王振国). Literature study on relationship between cold-Heat nature of plant-based Chinese herbs and inorganic elements. *J Nanjing TCM Univ* (南京中医药大学学报), 2011, 27: 109-111.

9 Konieczynski P, Arceusz A, Wesolowski M. Essential elements and their relations to phenolic compounds in infusions of medicinal plants acquired from different European regions. *Biol Trace Element Res*, 2016, 170: 466-475.

10 Szymański M, Witkowska-Banaszczak E, Klak N, et al. Effects of trace elements on polyphenolic compounds in Millefolii Herba. *Polish J Environ Stud*, 2014, 23: 459-466.

11 Huang ZM (黄作明), Huang X (黄珣). Trace elements and human health. *Stud Trace Elements Health* (微量元素与健康研究), 2010, 27(6): 58-62.

12 Fan JJ (范娟娟), Dou SY (豆淑艳). Trace elements and human health. *J Henan Sci Technol* (河南科技), 2014, 8: 59.

13 Dong XL (董晓蕾), Zhang J (张霁), Zhao YL (赵艳丽), et al. Mineral element stoichiometry characteristic of *Gentiana rigescens* from different multiple cropping systems. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2015, 44: 113-118.