

枇杷花主要有效成分的含量

李琪¹, 杨必坤¹, 张晓喻^{1,2}, 张宏^{1,2*}, 黄春萍^{1,2}, 于树华¹

(1. 四川师范大学 生命科学学院, 成都 610068; 2. 四川师范大学 植物资源应用与开发研究所, 成都 610068)

摘要: 采用紫外分光光度法及高效液相色谱法, 研究不同产地不同年份的枇杷花总黄酮和三萜化合物的差异, 以确定其含量较高的产地及年际变化情况。结果表明: 同一年份不同产地枇杷花中总黄酮和三萜化合物含量有显著差异, 龙泉、仁寿、攀枝花及莆田总黄酮含量显著高于其它产地 ($P < 0.01$), 齐墩果酸以龙泉、仁寿、浦江和莆田四地较高, 并显著高于遂宁和内江等地 ($P < 0.05$ 或 $P \leq 0.01$), 熊果酸含量最高的产地为浙江余杭, 其含量显著高于遂宁、攀枝花、璧山等地 ($P < 0.01$)。同一产地不同年份样品中总黄酮和三萜化合物含量变化较小。与地理、气候因子进行相关性分析, 表明齐墩果酸与纬度、经度有一定相关性, 而其它成分的相关性不大。

关键词: 枇杷花; 熊果酸; 齐墩果酸; 总黄酮; 紫外分光光度法; 反相高效液相色谱法

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)05-0698-05

Contents of effective components in flowers of *Eriobotrya japonica*

LI Qi¹, YANG Bi-Kun¹, ZHANG Xiao-Yu^{1,2}, ZHANG Hong^{1,2*},

HUANG Chun-Ping^{1,2}, YU Shu-Hua^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China;

2. Institute of Phytochemistry, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China)

Abstract: With the ultraviolet spectrophotometry and HPLC, the contents of total flavonoids and triterpenoid in loquat flowers from different localities and growth years were studied for determining the optimum localities and the changes of effective component contents in different growth years. The results showed that the differences of total flavonoid and triterpenoid contents among the samples of different localities were significant. The total flavonoids contents of samples from Longquan, Renshou, Panzhihua and Putian were higher than that from other localities ($P < 0.01$). The oleanolic acid content of samples from Longquan, Renshou, Pujiang and Putian were higher than that from Suining and Neijiang ($P < 0.05$ or $P \leq 0.01$). The ursolic acid content of samples from Yuhang was the highest, which was higher than that from Suining, Panzhihua, Bishan and others ($P < 0.01$). In different growth years the contents of effective components had slight changes in same localities. The oleanolic acid had certain correlativity with latitude and longitude but other components had no correlativity.

Key words: flowers of *Eriobotrya japonica*; ursolic acid; oleanolic acid; total flavonoids; ultraviolet spectrophotometry; RP-HPLC

枇杷花系蔷薇科枇杷属植物枇杷 (*Eriobotrya japonica*) 的干燥花蕾及花序。味淡, 性微温, 用于治疗伤风感冒、咳嗽、痰血 (全国中草药汇编编写组,

1996)。枇杷花有效成分主要为三萜和黄酮类化合物。三萜类化合物主要是齐墩果酸 (Oleanolic acid, OA) 和熊果酸 (Ursolic acid, UA) (成丽等, 2001),

收稿日期: 2008-06-01 修回日期: 2009-02-18

基金项目: 四川省教育厅青年基金(2006B035); 四川省攀枝花市科技局重点项目(2008CY-S-1)[Supported by Youth Found of the Education Department of Sichuan Province(2006B035); Key Project of the Science and Technology Bureau of Panzhihua, Sichuan(2008CY-S-1)]

作者简介: 李琪(1983-), 女, 四川省自贡市人, 硕士研究生, 研究方向为植物资源开发与应用。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: zhanghong651@yahoo.com.cn)

具多种生物学活性,在抗肿瘤、抗氧化、保肝、降血脂方面作用显著(王德仁,2003;殷晓东等,2004),也有良好的抗炎、止咳、祛痰和平喘作用(王立为等,2004;鞠建华等,2003)。黄酮类化合物具降压、活血化瘀、保肝、止咳、祛痰、抗炎、抗癌、抗氧化、镇痛等多种功效(宋晓凯,2004;林玉霖等,2006;郭宇等,2006;朱丹等,2007),在医学和营养学上有较高的应用价值。目前,在我国枇杷已经产业化栽培,枇杷树在花期进行疏花以提高枇杷品质,每株有 60%~80%的鲜花蕾被疏掉,而疏掉的花蕾却没有充分利用。为此,可开发利用枇杷花资源从而将其变废为宝。本文测定和比较不同产地不同生长年份枇杷花总黄酮和三萜类化合物的含量,并对枇杷花有效成

分含量与地理、气候因子间的相关性进行分析,为枇杷花的开发和利用奠定基础,对农业发展和植物资源的合理利用具有重要意义。

1 仪器、试剂与材料

仪器:SHIMADZU-UV-1700 型紫外可见分光光度计;DIONEX-Summit P680A DGP-6 型双三元高效液相色谱仪;BUCHI Syncore Analyst R-12 多功能平行浓缩仪,德国 SARTORIUS(BP211D 型)电子天平。试剂:熊果酸(批号:110742-200516)、齐墩果酸(批号:110709-200304)、芦丁(批号:100080-200306)对照品由中国药品生物制品检定所提供。

表 1 各样品采集地地理分布及气候因子
Table 1 Climatic and geographical conditions of locality

产地 Locality	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude	年均温 (°C) Annual average temperature	降雨量(mm) Annual average precipitation	无霜期 (d) Frost free period	年日照 (h) Annual sunshine hours
浙江余杭 Yuhang, Zhejiang	121°1'	30°22'	15.75	1391.8	258	1970
浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	119°32'	29°54'	16.2	1350	255	1906
福建莆田 Putian, Fujian	119°12'	25°24'	19.5	1400	325	1995.9
湖北黄石 Huangshi, Hubei	115°1'	29°53'	17	1382.6	264	1973.7
湖南岳阳 Yueyang, Hunan	113°5'	29°22'	17	1302	277	1769.3
重庆璧山 Bishan, Chongqing	106°11'	29°35'	18	1047	337	1076
四川攀枝花 Panzhihua, Sichuan	102°	26°30'	19.75	980	350	2500
四川仁寿 Renshou, Sichuan	104°5'	30°	17.4	1009.4	312	1131
四川蒲江 Pujiang, Sichuan	103°30'	30°13'	16.4	1280	302	1121
四川遂宁 Suining, Sichuan	106°2'	30°41'	17.05	907.5	291	1387.5
四川自贡 Zigong, Sichuan	104°39'	29°29'	17.8	1015	325	1201.4
四川内江 Neijiang, Sichuan	104°58'	29°55'	17.5	1000	330	1200
四川龙泉 Longquan, Sichuan	102°54'	30°46'	16.5	1000	287	1200

色谱用试剂为色谱纯,其余试剂均为分析纯。材料:枇杷花样品由本课题组于 2005、2006、2007 年在全国各地采集,经本院植物教研室鉴定为蔷薇科植物枇杷(*Eriobotrya japonica*)花。样品采集地的地理分布、气候因子见表 1。

2 方法

2.1 总黄酮的测定

2.1.1 标准曲线的绘制 精密称取芦丁标准品 0.02065 g,用 50%乙醇配制成 206.5 mg·L⁻¹的储备液。精密移取上述储备液 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加 5% NaNO₂ 溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4%

NaOH 溶液 4 mL(孙学斌等,2007),用 50%乙醇定容,分别得到浓度为 2.065、10.325、20.650、41.300、61.950、82.600、103.250 mg·L⁻¹的标准显色溶液,以不加标准品同法制备空白对照。上述芦丁标准显色溶液在 510nm 处测定吸光度值(范维刚等,2005),以芦丁浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

2.1.2 样品的制备 精确称取过 30 目筛的枇杷花样品 1.0 g,按 1:30 固液比用 50%乙醇浸泡 30 min 后超声提取,提取条件:40KHz,30 min,75 °C。提取液过滤、浓缩、定容备用。

2.1.3 样品总黄酮含量测定 按 2.1.2 制备的样品溶液充分摇匀并过滤,取 1.0 mL 滤液按照 2.1.1 进行显色,在 510 nm 处测定吸光度值。利用回归方程计算枇杷花中总黄酮含量。

2.2 三萜主成分含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Alltech Apollo C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-醋酸水溶液 (pH3.4) 94:6, 流速: 0.5 mL·min⁻¹; 柱温: 20 °C; 检测波长: 210 nm; 进样量: 10 μL (张晓喻等, 2007)。

2.2.2 标准曲线的绘制 精密称取齐墩果酸 0.00551 g、熊果酸 0.01760 g, 甲醇溶解并定容至 50 mL, 配制成 110.2 mg·L⁻¹ 齐墩果酸和 352.0 mg·L⁻¹ 熊果酸的混合标准品溶液, 作为对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0、4.0、8.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释定容。取上述不同浓度对照品混合液和对照品储备液在上述色谱条件下, 进行测定。以峰面积为纵坐标, 进样浓度 (mg·L⁻¹) 为横坐标, 绘制标准曲线。

2.2.3 样品的制备 精确称取过 30 目筛的枇杷花

样品 1.0 g, 按 1:30 固液比用 95% 乙醇浸泡 30 min 后超声提取, 提取条件: 40 KHz; 30 min; 75 °C。提取液过滤、浓缩、定容备用。测定前样品经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

2.2.4 样品三萜主成分的含量测定 取 2.2.3 备用溶液按照 2.2.1 色谱条件进行测定, 根据峰面积计算样品中齐墩果酸和熊果酸的含量。

2.3 数据分析

数据分析采用 SPSS13.0 软件, 结果以 Mean±SD 表示。

3 结果与分析

3.1 标准曲线

标准曲线方程、线性关系、线性范围及检出限见表 2。

表 2 标准曲线方程、线性范围及检出限
Table 2 The standard curves, linear range and the limit of detection

对照品 Reference standard	线性方程 Linear equation	线性关系 Linear relation	线性范围 (mg·L ⁻¹) Linear range	检测限 (mg·L ⁻¹) Limit of detection
总黄酮 Total flavonoids	$Y=0.01172X-0.00465$	0.99990	2.065~103.250	/
齐墩果酸 Oleanolic acid	$Y=0.1542X-0.0227$	0.999971	1.102~110.2	0.0978
熊果酸 Ursolic acid	$Y=0.1425X-0.0344$	0.999980	3.520~352.0	0.4283

表 2 结果表明, 总黄酮、齐墩果酸及熊果酸在一定浓度范围内呈良好的线性关系, 检测范围较宽, 检测限较低, 适用于枇杷花主要有效成分的定量分析。

3.2 主要有效成分的含量比较及方差分析

对 2005、2006、2007 年采集的各地枇杷花样品按 2.1.3、2.2.4 方法分别进行了总黄酮、齐墩果酸和熊果酸的含量测定。测定结果和差异性分析见表 3。从表 3 看出, 同一产地不同年份枇杷花样品中主要有效成分的含量变化较小, 但三种主要有效成分的含量均呈现显著地区差异。(1) 总黄酮含量以四川龙泉、仁寿、攀枝花及福建莆田四地相对较高, 含量为 8.792%~9.113%, 与其它产地相比均有极显著差异 ($P<0.01$), 四川内江及遂宁的含量最低, 仅 5.125%~5.855%。(2) 齐墩果酸含量以四川龙泉、仁寿、浦江和福建莆田四地较高, 含量为 0.091%~0.104%, 四川遂宁和内江的含量 (0.059%~0.069%) 显著低于其它产地 ($P<0.05$ 或 $P\leq 0.01$)。(3) 熊果酸含量最高的产地是浙江余杭, 三年样品中熊果酸含量均为最高; 其次福建莆田、浙江杭州和湖北黄石其含量也相对较高, 并显著高于四

川遂宁、攀枝花、重庆璧山等地 ($P<0.01$)。(4) 多数产地枇杷花三种成分含量变化规律不完全一致, 如浙江余杭的熊果酸含量较高, 但黄酮及齐墩果酸含量却较低; 而福建莆田、四川遂宁和内江三地含量变化较为一致, 即福建莆田样品的三种成分含量均较高, 四川遂宁及内江样品含量均较低。

3.3 枇杷花有效成分含量与地理、气候因子间的相关性

枇杷花总黄酮、齐墩果酸和熊果酸含量与地理、气候因子间的相关性分析见表 4。

由分析结果可以看出, 齐墩果酸与经度、纬度有一定的相关性, 而其它成分的相关性不大。

4 讨论

枇杷花中总黄酮和三萜化合物的含量年际变化较小, 表明其有效成分稳定性较好, 有利于开发利用。在不同地域中植物有效成分的含量会存在一定的差异。袁珂等 (1998) 发现熊果酸与齐墩果酸在冬凌草叶中的含量变化规律极为相似。本研究表明枇

枇杷总黄酮与三萜化合物的含量存在着显著地区差异,而枇杷花中熊果酸与齐墩果酸的含量随地区差异,异,而枇杷花中熊果酸与齐墩果酸的含量随地区差异,和气候等环境影响,为此在开发利用枇杷花资源时

表 3 枇杷花中总黄酮、齐墩果酸和熊果酸的含量(n=3)
Table 3 The content of total flavonoids,oleanolic acid and ursolic acid in samples(n=3)

产地 Locality	总黄酮 Total flavonoids (%)			齐墩果酸 Oleanolic acid (%)			熊果酸 Ursolic acid (%)		
	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007
浙江余杭 Yuhang,Zhejiang	7.960± 0.1595cB	8.162± 0.0535cC	8.160± 0.1601bB	0.080± 0.0050 cdCD	0.074± 0.0050 cdCD	0.072± 0.0021 dCD	0.501± 0.0100aA	0.480± 0.0045aA	0.494± 0.0115aA
浙江杭州 Hangzhou,Zhejiang	7.850± 0.0866cB	8.060± 0.1628cC	8.003± 0.1945bB	0.071± 0.0075 efgDEF	0.076± 0.0070 cCD	0.080± 0.0050 cBC	0.483± 0.0049 bAB	0.464± 0.0049bB	0.461± 0.0071 bBC
福建莆田 Putian,Fujian	8.935± 0.0600 abA	8.792± 0.1495 bB	8.830± 0.1617aA	0.096± 0.0066aA	0.095± 0.0085aA	0.096± 0.0030bA	0.477± 0.0046 bBC	0.478± 0.0112aA	0.464± 0.0113 bBC
湖北黄石 Huangshi,Hubei	7.899± 0.1021cB	8.085± 0.1124cC	7.988± 0.1578bB	0.085± 0.0044 bcBC	0.074± 0.0081 cdCD	0.081± 0.0060 cBC	0.480± 0.0090 bABC	0.467± 0.0052 bAB	0.471± 0.0067bB
湖南岳阳 Yueyang,Hunan	7.909± 0.0779cB	7.995± 0.1206cC	8.076± 0.1496bB	0.071± 0.0047 efgDEF	0.076± 0.0061 cCD	0.079± 0.0064 cBC	0.459± 0.0136 cCD	0.413± 0.0050dD	0.409± 0.0032 efFG
重庆璧山 Bishan,Chongqing	7.991± 0.1177cB	8.111± 0.1090cC	8.013± 0.0545bB	0.078± 0.0044c deCDE	0.081± 0.0076 bcABC	0.078± 0.0044 cdBC	0.400± 0.0105fF	0.422± 0.0103cC	0.413± 0.0040 efEF
四川攀枝花 Panzhuhua,Sichuan	8.897± 0.0476bA	8.945± 0.0854 abAB	8.860± 0.1206aA	0.076± 0.0030 defCDEF	0.082± 0.0066 bcABC	0.083± 0.0021cB	0.341± 0.0093gG	0.361± 0.0036gF	0.336± 0.0115hH
四川仁寿 Renshou,Sichuan	8.901± 0.0598bA	9.023± 0.0890 aAB	8.970± 0.1680aA	0.091± 0.0046 abAB	0.096± 0.0076aA	0.095± 0.0051bA	0.433± 0.0106 deE	0.428± 0.0047cC	0.443± 0.0133 cCD
四川蒲江 Pujiang,Sichuan	7.299± 0.1070dC	7.412± 0.1585dD	7.299± 0.1133dC	0.096± 0.0026aA	0.092± 0.0075 abAB	0.104± 0.0020aA	0.439± 0.0139 dDE	0.434± 0.0050cC	0.423± 0.0122 deDEF
四川遂宁 Suining,Sichuan	5.688± 0.1449eD	5.125± 0.1352fF	5.309± 0.1175fE	0.066± 0.0023gF	0.059± 0.0081eE	0.062± 0.0035 eDE	0.399± 0.0100fF	0.381± 0.0040fE	0.390± 0.0151gG
四川自贡 Zigong,Sichuan	7.845± 0.1073cB	7.422± 0.1164dD	7.600± 0.1540cC	0.080± 0.0025 cdCD	0.078± 0.0075 cBCD	0.078± 0.0045 cdBC	0.426± 0.0084 deE	0.407± 0.0060 deD	0.411± 0.0035 efFG
四川内江 Neijiang,Sichuan	5.770± 0.1004eD	5.474± 0.1215eE	5.855± 0.0875eD	0.069± 0.0040 fgEF	0.063± 0.0050dD	0.060± 0.0029eE	0.441± 0.0090 dDE	0.401± 0.0045eD	0.404± 0.0060 fgFG
四川龙泉 Longquan Sichuan	9.079± 0.0726aA	9.113± 0.1025aA	8.951± 0.0107aA	0.091± 0.0031 abAB	0.096± 0.0050aA	0.102± 0.0055 abA	0.422± 0.0046eE	0.438± 0.0046cC	0.434± 0.0160 cdDE

注：同一列中不同大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 水平显著。

Note: The capital letters and small letters in the same rank showed the significant difference at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

表 4 枇杷花有效成分含量与地理、气候因子间的相关性分析
Table 4 The correlative analysis of effective components with climatic and geographical conditions

	经度 Longitude	纬度 Latitude	年均温 Annual average temperature	降雨量 Annual average precipitation	无霜期 Frost free period	年日照 Annual sunshine hours
总黄酮 Total flavonoids	-0.328	-0.265	-0.030	0.124	-0.246	-0.108
齐墩果酸 Oleanolic acid	-0.705	-0.601	-0.193	0.361	-0.496	-0.629
熊果酸 Ursolic acid	0.564	-0.085	-0.049	0.403	-0.148	-0.578

应选择适宜的产地。

对表4所列的6个地理和气候因子相关性分析表明,枇杷花总黄酮、齐墩果酸和熊果酸含量与它们均没有显著相关性。这可能是枇杷花中黄酮等次生代谢产物与土壤类型和局部特殊气候有密切关系的原因。成都平原、福建莆田、浙江余杭塘栖等地土壤深厚肥沃,质地粘重,主要呈酸性,适宜枇杷生长发育,本研究也表明上述三地枇杷花中主要有效成分含量显著高于其它产地。遂宁、内江产地的枇杷花主要有效成分含量较低可能与这些地区的气候复杂多样有关,如遂宁的降雨年际变化大、地区分布不均且降雨集中;内江则有明显的冬干春旱现象,夏季降雨量占全年的60%。因此特定的环境特征以及气候因子对枇杷花中有效成分含量的影响还有待于进一步研究。

参考文献:

- 全国中草药汇编编写组. 1996. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,504
- 朱丹,袁芳,孟坤. 2007. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 中华中医药杂志,22(6):387-389
- 宋晓凯. 2004. 天然药物化学[M]. 北京:化学工业出版社,72-77
- 林玉霖,林文津,林力强. 2006. 枇杷叶的研究现状与开发前景[J]. 中药材,29(10):1111-1114
- 袁珂. 1998. 不同产地、不同季节冬凌草叶中熊果酸、齐墩果酸的含量比较[J]. 中药材,21(10):519-520
- 郭宇,吴松吉,朴惠善. 2006. 枇杷叶的化学成分及药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药,17(6):928-930
- Cheng L(成丽),Liu Y(刘燕),Cheng LY(陈凌亚). 2001. Studies on the triterpenoidal saponins from flowers of *Eriobotrya japonica*(枇杷花三萜皂苷成分的研究)[J]. *West China Univ Med Sci*(华西医科大学学报),32(2):283-285
- Fan WG(范维刚),Xie CX(解成喜),Li F(李锋). 2005. Determination of the content of total flavonoids in *Apocynum venetum*(罗布麻叶中总黄酮含量的测定)[J]. *Chin J Spec Lab*(光谱实验室),22(3):464-466
- Jv JH(鞠建华),Zhou L(周亮),Lin G(林耕). 2003. Studies on constituents of triterpene acids from *Eriobotrya japonica* and their anti-inflammatory and antitussive effects(枇杷叶中三萜酸类成分及其抗炎、镇咳活性研究)[J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志),38(10):752-757
- Sun XB(孙学斌),Cheng M(程明),Li N(李娜). 2007. The content of flavonoids and anti-oxidation in different efficient parts of *Euonymus alatus*(卫矛不同有效部位总黄酮含量及抗氧化性的研究)[J]. *Bull Bota Res*(植物研究),27(5):619-621
- Wang DR(王德仁). 2003. The research progress of oleanolic acid(齐墩果酸研究新进展)[J]. *Tianjin Pharm*(天津药学),15(3):56
- Wang LW(王立为),Liu XM(刘新民),Yu SC(余世春). 2004. Anti-inflammatory and antitussive effects of *Eriobotrya japonica*(枇杷叶抗炎和止咳作用研究)[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药),35(2):174-176
- Yin XD(殷晓东),Zhao HR(赵浩如). 2004. The research progress of ursolic acid(熊果酸研究进展)[J]. *Chin J Pract Chin Mod Med*(中华实用中西医杂志),4(17):24
- Zhang XY(张晓喻),Huang CP(黄春萍),Zhang H(张宏). 2007. RP-HPLC determination of oleanolic acid and ursolic acid in flowers of *Eriobotrya japonica* from different habits of Sichuan(RP-HPLC测定四川不同产地枇杷花中的齐墩果酸和熊果酸的含量)[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志),27(1):129-131

(上接第663页 Continue from page 663)

- tion of oilseed rapes as a hyperaccumulator for cadmium(超积累镉油菜品种的筛选)[J]. *J Agric Univ Hebei*(河北农业大学学报),26(1):13-16
- Wei SH(魏树和),Zhou QX(周启星),Wang X(王新). 2005. Cadmium-hyperaccumulator *Solanum nigrum* and its accumulating characteristics(超积累植物龙葵及其对镉的富集特征)[J]. *Environ Sci*(环境科学),26(3):167-171
- Wen QH(文秋红),Shi K(史轶). 2006. Enrichment capability of cadmium in some plants(部分植物富集镉能力探讨)[J]. *Environ Sci Tech*(环境科学与技术),29(12):90-93
- Williams CH and David DJ. 1976. The accumulation in soil of cadmium residues from phosphate fertilizers and their effect on the cadmium content of plants[J]. *Soil Sci*,121:86-93
- Xiong YH(熊愈辉),Yang XE(杨肖娥),Ye ZQ(叶正钱),et al. 2004. Comparing the characteristics of growth response and accumulation of cadmium and lead by *Sedum alfredii*(东南景天对镉、铅的生长反应与积累特性比较)[J]. *J Northwest Sci Tech Univ Agric Fore(Nat Sci Edi)*(西北农林科技大学学报·自然科学版),32(6):101-106
- Zhang YX,Chai TY,Dong J,et al. 2001. Cloning and expression analysis of the heavy metal-responsive gene *PvSR2* from bean[J]. *Plant Sci*,161:783-790
- Zhang YW,Tamn FY,WongYS. 2004. Cloning and characterization of type 2 metallothionein-like gene from a wetland plant, *Typha latifolia*[J]. *Plant Sci*,167:869-877
- Zhu YL,Jouanin L,Terry N,et al. 1999. Over-expression of glutathione synthase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance[J]. *Plant Physiology*,119(1):73-79