

网络出版时间:2020-01-14 17:04 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2020.07.015
网络出版地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200114.1125.030.html>

夏枯草农艺性状与其有效成分相关性研究

郭巧英¹, 梁宗锁², 赵宏光³, 张冰雪⁴, 张学敏⁵,
徐波⁵, 韩蕊莲^{1,2}

(1 西北农林科技大学 草业与草原学院,陕西 杨凌 712100;

2 浙江理工大学 生命科学与医药学院,浙江 杭州 310018;

3 陕西天士力植物药业有限责任公司,陕西 商洛 726000;

4 中国科学院 教育部水土保持与生态环境研究中心,陕西 杨凌 712100;

5 天士力现代中药资源有限责任公司,天津 北辰 300400)

[摘要] 【目的】研究夏枯草主要农艺性状与其有效成分含量之间的相关性,为夏枯草的品质改良和品种选育提供参考。【方法】以航天诱变夏枯草种植第6代(SP₆)的I(分枝多)、II(大果穗)、III(株型分散)、IV(二级侧枝)、V(早熟)、VI(晚熟)和VII(株型紧凑)及CK(地面对照)为材料,通过五点取样法选定单株,测定其农艺性状及有效成分含量,并对测定结果进行数据分析、差异性分析、相关性分析和主成分分析。【结果】夏枯草大果穗性状与植株干鲜质量、分枝数、果穗数、冠幅呈显著正相关关系,按照该性状选育有利于得到高产、大穗株系。株高、冠幅、分枝数、果穗数、果穗粗、果穗长、果穗干质量各农艺性状之间存在显著正相关关系,相互依赖性高。其中,分枝数与冠幅、果穗干质量、果穗长、果穗粗、果穗数、植株鲜干质量呈极显著正相关关系,它可能是对夏枯草产量影响最大的因子。各株系的有效成分变异系数均较大,存在丰富的变异,且各株系有效成分含量之间未见明显规律。株系VI(晚熟)的总酚、总黄酮含量最高,各有效成分之间存在显著相关性。迷迭香酸、咖啡酸、总酚、总黄酮4者之间存在极显著正相关关系;阿魏酸与迷迭香酸、咖啡酸、总酚、总黄酮之间存在极显著负相关关系;齐墩果酸与其他有效成分相关性不显著;各有效成分含量与各果穗指标相关性均不显著。株系VI(晚熟)和株系VII(株型紧凑)有效成分含量最高,适合作为优质株系进行筛选。【结论】夏枯草植株越嫩,其总酚和总黄酮含量越高;根据果穗数、分枝数、冠幅性状指标进行选育有利于获得高产优质果穗,其中分枝数可能是影响果穗产量的最大因子。

[关键词] 夏枯草;农艺性状;有效成分;品种选育

[中图分类号] S567.23⁺⁹

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2020)07-0131-10

Correlation analysis of main agronomic traits with active constituents of *Prunella vulgaris*

GUO Qiaoying¹, LIANG Zongsuo², ZHAO Hongguang³, ZHANG Bingxue⁴,
ZHANG Xuemin⁵, XU Bo⁵, HAN Ruilian^{1,2}

(1 College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 School of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China;

3 Shaanxi Tianshili Botanical Pharmaceutical Co., Ltd., Shangluo, Shaanxi, 726000, China;

4 Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Science and Ministry of Water Resource, Yangling, Shaanxi 712100, China;

5 Tianshili Modern Chinese Medicine Resources Co., Ltd., Beichen, Tianjin 300400, China)

Abstract:【Objective】In order to provide reference for quality improvement and variety selection of

【收稿日期】 2019-07-26

【基金项目】 国家科技部“十三五”科技支撑计划项目(2015BAC01B03-01);浙江理工大学科研启动基金项目(17052059-Y)

【作者简介】 郭巧英(1992—),女,山西临汾人,在读硕士,主要从事夏枯草航天诱变育种研究。E-mail:18392080339@163.com

【通信作者】 韩蕊莲(1962—),女,陕西扶风人,教授,博士生导师,主要从事生态学研究。E-mail:hanrl@nwsuaf.edu.cn

Prunella vulgaris, the correlation between agronomic traits and contents of active ingredients of *P. vulgaris* was analyzed. 【Method】 The individual plants of the sixth generations of *P. vulgaris* (SP_6) were selected by five-point sampling method. The measured plants included I (more branches), II (large ear), III (disperse plants), IV (secondary side branch), V (early ripening), VI (late ripening), VII (compact plants), and control (CK). Data analysis, differential analysis, correlation analysis and principal component analysis were conducted to the measured traits and contents. 【Result】 There was significant positive correlations between the large ear traits and dry weight, number of branches, number of spikes and crown width of plants. Choosing large ear was beneficial to high-yield and large-ear lines. There was significant positive correlation in agronomic traits among plant height, crown width, number of branches, number of ears, ear diameter, ear length and dry weight of ear with high interdependence. The number of branches had very significant correlation with other agronomic traits, and it was the most influential factor on yield of *Prunella vulgaris*. The variation coefficients of effective components of each strain were large, indicating abundant variations. There was no obvious regularity between active components of each strain. The average contents of rosmarinic acid, caffeic acid, total phenol and total flavonoids were higher than that of previous three generations. The total contents of total phenol and total flavonoids in strain VI (late ripening) were the highest. There was significant correlation between contents of each active ingredient. There was significant positive correlation between rosmarinic acid, caffeic acid, total phenol and total flavonoids. There was significant negative correlation between ferulic acid and rosmarinic acid, caffeic acid, total phenol and total flavonoids. The correlation between fruit acid and other active ingredients was insignificant. The correlation between content of each active ingredient and indicator characteristics of each ear was insignificant. 【Conclusion】 Younger plants had higher contents of total phenols and total flavonoids. The selection based on number of spikes, branches and crown traits was conducive to obtain high-yield and high-quality ear. Number of branches was the largest factor affecting yield of *P. vulgaris*.

Key words: *Prunella vulgaris*; agronomic traits; active ingredients; breeding of variety

夏枯草为多年生唇形科夏枯草属植物,又名夏枯球、棒柱头花、六月干,因“夏至后即枯”得名,是常用的传统中药材之一,具有很高的药用价值,始载于《神农本草经》^[1-3]。传统药用部位是干燥果穗^[4-5],其主要化学成分为迷迭香酸、咖啡酸、阿魏酸、齐墩果酸、总酚、总黄酮等^[2-3]。《中国药典》2015年版(一部)规定,夏枯草果穗中的迷迭香酸检测含量不得低于0.20%^[6]。

随着夏枯草市场的不断壮大,对优质夏枯草资源的需求也越来越大,大果穗的经济价值是普通果穗的2~3倍,因此,提高夏枯草果穗产量、选育大果穗以及提高其有效成分含量是育种目标^[7-8]。近年来对夏枯草的研究主要集中在药理药效^[9]、有效成分提取^[10]、抗癌抗肿瘤机制^[11-13]、分子机制^[14-16]、栽培管理^[17-20]等方面,针对提高夏枯草果穗质量和有效成分含量的研究较少。本研究拟通过对夏枯草农艺性状的观察及其有效成分含量的测定,分析二者之间的相关性,再根据农艺性状筛选潜在有效成分含量高的夏枯草植株,最终得到高含量迷迭香酸的

夏枯草品种,从而提高植物目标产物含量。

1 材料与方法

1.1 材料处理

夏枯草种子由天津天士力现代中药资源有限公司提供,经浙江理工大学梁宗锁教授鉴定为夏枯草(*Prunella vulgaris* L.)。将夏枯草种子分成两份,一份进行太空搭载试验,命名为搭载组(SP);另一份留作地面对照,命名为地面对照组(CK)。为了保持试验的持续性,经过前3代的选育^[21-23],筛选分类得到7个搭载株系用于 SP_6 代的选育,分别记为I(分枝多)、II(大穗)、III(株型分散)、IV(二级侧枝)、V(早熟)、VI(晚熟)和VII(株型紧凑)。田间试验位于陕西省商洛市天士力植物药业有限公司基地。每个株系种在3 m×10 m小区,参照夏枯草田间管理进行管理^[12-14]。将每个小区三等分得到3块方形样地,在每个方形样地按照五点取样法取样,即从每个株系选取15株长势均匀的夏枯草植株测定其生长

指标。

夏枯草果穗粉末来自陕西省商洛市天士力植物药业有限公司基地,收获的第6代夏枯草果穗,经干燥粉碎,过20目筛(筛孔内径850 μm)而得。

1.2 仪器和试剂

仪器:粉碎机、二号筛网、天平、优普超纯水机、容量瓶、离心管、移液枪、KQ-250B型超声波清洗器、一次性无菌注射器、微孔过滤器、Waters 1525二元高效液相色谱仪(Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters 2707 Autosampler, Waters Symmetry C18色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Waters BreezeTM 2 HPLC System)、油性记号笔、烘箱等。

试剂:迷迭香酸(Rosmarinic acid, LOT: Y06A9K67402)、阿魏酸(Ferulic acid, LOT: H27J7L16718)和咖啡酸(Caffeic acid, LOT: HA0820KA14)标准品均购自上海源叶生物科技有限公司;无水乙醇(分析纯),购于西安三浦精细化工厂;乙腈(色谱级),Fisher Scientific;磷酸(色谱级),西安试剂厂;超纯水,由本实验室超纯水机制备。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 农艺性状指标测定 于6月初(夏枯草盛花期至成熟期)测定其农艺性状指标。株高:地面至植株最高部位的绝对高度;茎粗:每株夏枯草基部选3枝长势均匀的茎,利用游标卡尺测定取平均值;冠幅:利用钢尺对夏枯草样本进行东西和南北两个维度上的测量,取平均值;分枝数:从基部数分枝数;果穗数:在收获期计数每株夏枯草果穗长度大于2 cm的果穗数;果穗粗:选长势均匀的3个果穗用卷尺测定果穗周长,再经计算得到果穗粗;果穗长:选择长势好、均匀的3个果穗3次测量取平均值;植株鲜质量:将夏枯草植株莲根拔起,抖落清除根部泥土,立即称量。每株系测定15株,取平均值;植株干质量:将夏枯草植株盛放在托盘中置于晾晒室自然晾晒1 d,待茎叶完全干燥后称量,每株系测定15株,取平均值;果穗干质量:晾干后摘下长度大于2 cm的果穗称量其质量,每株系测定15株,取平均值。记录各物候期情况。6月底采收果穗,此时果穗变黄褐色,应抢晴收割时期。收获后晒干储存,装入塑封袋中带回进行室内试验。

1.3.2 迷迭香酸、阿魏酸、咖啡酸含量测定 根据《中国药典》2015年版(一部)^[6]的方法,利用高效液相色谱法对夏枯草中迷迭香酸、阿魏酸和咖啡酸含

量进行测定。具体测定过程如下:样品液制备:精密称取夏枯草果穗粉末0.3 g,加25 mL体积分数70%乙醇充分溶解,静置30 min;再超声溶解1 h,取出用高速离心机于8 000 r/min离心10 min,上清液即为夏枯草样品溶液,封口保存待用。

色谱条件:0.02%磷酸溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(5%~20% A, 0~10 min; 20%~25% A, 10~15 min; 25%~25% A, 15~20 min; 25%~20% A, 20~25 min; 20%~25% A, 25~28 min; 25%~30% A, 28~37 min; 30%~45% A, 37~45 min; 45%~60% A, 45~50 min; 60%~5% A, 50~55 min);流速:1.0 mL/min;检测波长:330 nm;柱温:30 °C;进样量:20 μL。

1.3.3 齐墩果酸、总酚、总黄酮含量测定 参考邸金明^[24]的方法,采用可见分光光度法测定夏枯草果穗粉末中齐墩果酸含量,采用福林酚比色法测定夏枯草果穗样品中总酚含量,参考魏永生^[25]的分光光度法测定夏枯草果穗样品中总黄酮含量。

1.4 数据处理

采用IBM SPSS Statistics 20统计软件处理数据,对SP₆代夏枯草生物学性状指标和有效成分含量进行差异性分析、显著性分析、相关性分析和主成分分析,采用Excel 2016绘制图表。

2 结果与分析

2.1 夏枯草搭载组SP₆代各株系物候期比较

物候期观察是了解夏枯草生长结穗规律的重要方法,能够反映航天诱变对各株系夏枯草生长期的影响,也是制定夏枯草管理技术措施的主要依据之一。夏枯草搭载组SP₆代各株系与地面对照组物候期比较如表1所示。由表1可知,搭载组夏枯草SP₆代的物候期比地面对照组普遍推迟3~5 d,SP₆代整体比前3代(SP₁、SP₂、SP₃代)^[21-23]物候期延迟,说明航天诱变对夏枯草种子造成生理损伤并导致其生长延迟是逐代筛选的结果。在成熟期前后观察各株系群体生长情况,与其他株系相比,株系V(早熟)未见明显早熟现象,也无大量果穗提前变棕黄;而株系VI(晚熟)在收获时仍有1/3左右是黄绿色,有明显晚熟特征。物候期研究表明,搭载组夏枯草SP₆代未发现早熟现象,但晚熟株系延迟成熟现象比较普遍,有些晚熟株系可推迟6~8 d成熟,且VI(晚熟)株系晚熟表现比较稳定。

表1 夏枯草搭载组SP₆代各株系与地面对照组物候期比较Table 1 Comparison of phenological periods between SP₆ generation of *Prunella vulgaris* and control group

株系 Strain	分枝期 Branching period	抽薹期 Twitching period	始花期 First-flowering period	盛花期 Full-bloom stage	成熟期 Maturation period	收获期 Harvest period
I	04-22	05-03	05-12	05-22	06-24	06-26
II	04-21	05-04	05-13	05-23	06-25	06-24
III	04-23	05-02	05-14	05-24	06-26	06-25
IV	04-24	05-04	05-12	05-22	06-24	06-25
V	04-22	05-03	05-13	05-24	06-26	06-24
VI	04-25	05-05	05-15	05-26	06-27	06-28
VII	04-23	05-02	05-12	05-24	06-25	06-25
总 SP ₆ 代	04-24	05-03	05-13	05-25	06-25	06-26
CK	04-20	04-28	05-10	05-21	06-21	06-23

2.2 夏枯草的农艺性状

由表2可知,除株系VII(株型紧凑)外,夏枯草搭载组SP₆代其余各株系的株高均显著高于CK(地面对照);各株系茎粗变化差异不大;II(大穗)、III(株型分散)、IV(二级侧枝)和VI(晚熟)的冠幅均显著大于其他夏枯草搭载组SP₆代株系和CK(地面对照)。冠幅、果穗数、果穗粗、果穗长和分枝数均表现良好的株系为:I(分枝多)、II(大穗)、III(株型分散)和IV(二级侧枝),其中II(大穗)和III(株型分散)的果穗长、果穗粗、果穗数均显著大于CK(地面对照组),果穗干质量也最大;I(分枝多)的果穗数、果

穗粗显著大于CK(地面对照);I(分枝多)的分枝数、株高最大,说明该株系分枝多特性表现较稳定;II(大穗)的果穗粗、果穗长最大,说明该株系的大果穗性状表现较稳定;III(株型分散)的冠幅、果穗数、植株干质量最大,说明该株系株型分散特性表现较明显;VII(株型紧凑)的分枝数、冠幅均较小,说明该株系紧凑株型遗传表现比较稳定。由表2还可知,V(早熟)、VI(晚熟)、VII(株型紧凑)及CK(地面对照)的长势普遍较差,而V(早熟)的果穗数最少,且显著少于CK(地面对照)。

表2 夏枯草主要农艺性状测定结果

Table 2 Determination of main agronomic traits of *Prunella vulgaris*

株系 Strain	株高/cm Plant height(X ₁)	茎粗/mm Stem thick(X ₂)	冠幅/cm Crown width (X ₃)	分枝数 Number of branches (X ₄)	果穗数 Number of ear (X ₅)
CK	21.33±2.53 c	3.70±0.51 a	37.96±5.42 b	7.47±1.30 c	44.33±11.30 c
I	29.80±3.39 a	3.93±0.40 a	41.93±1.81 ab	14.00±3.55 a	63.80±18.33 b
II	28.53±2.45 a	3.96±0.66 a	43.43±4.58 a	13.47±4.17 a	63.40±18.47 b
III	24.83±3.10 b	3.79±0.71 a	47.50±4.94 a	13.53±2.85 a	80.00±19.85 a
IV	24.60±3.58 b	3.98±0.53 a	43.10±5.40 a	10.73±4.06 b	55.67±21.30 bc
V	24.20±2.96 b	3.84±0.81 a	37.23±5.27 b	6.33±2.50 c	28.87±10.66 d
VI	25.00±3.32 b	3.92±0.48 a	38.90±3.29 a	7.80±2.51 c	45.67±18.12 c
VII	24.53±2.77 c	3.65±0.52 a	38.63±4.24 b	8.47±3.09 c	43.87±22.08 c

株系 Strain	果穗粗/cm Diameter of ear (X ₆)	果穗长/cm Ear length (X ₇)	植株鲜质量/g Plant fresh mass (X ₈)	植株干质量/g Plant dry mass (X ₉)	果穗干质量/g Dry mass of ear (X ₁₀)
CK	1.33±0.10 b	6.86±0.94 b	108.00±19.24 a	34.64±6.41 a	14.80±3.68 a
I	1.48±0.13 a	7.47±1.28 ab	132.00±21.68 a	41.82±9.25 a	14.87±3.17 a
II	1.53±0.14 a	8.08±0.95 a	124.00±13.42 a	39.56±8.01 a	17.14±3.16 a
III	1.50±0.09 a	7.61±1.45 a	132.00±25.88 a	44.56±5.79 a	17.19±5.15 a
IV	1.52±0.13 a	7.69±0.83 a	122.00±41.47 a	40.32±11.08 a	16.50±6.96 a
V	1.33±0.15 b	6.48±0.82 b	120.00±33.17 a	33.87±9.64 a	12.15±6.04 a
VI	1.38±0.10 b	7.23±0.61 ab	138.00±16.43 a	38.87±6.71 a	14.39±4.12 a
VII	1.38±0.09 b	7.20±0.79 ab	120.00±21.21 a	35.20±7.35 a	13.28±2.23 a

注:表中数据为均值±标准差,同列数据后不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$)。 X_1-X_{10} 依次代表株高、茎粗、冠幅、分枝数、果穗数、果穗粗、果穗长、植株鲜质量、植株干质量、果穗干质量。下同。

Note: The data in the table are mean±standard deviation. Different small letters indicate in column significant differences ($P<0.05$). X_1-X_{10} represent plant height, stem diameter, crown width, number of branches, number of ears, diameter of ear, length of ear, fresh mass of plant, dry mass of plant, and dry mass of ear, respectively. The same below.

2.3 夏枯草的主要有效成分

由表 3 可知, VII(株型紧凑)的阿魏酸含量显著高于 CK(地面对照); I(分枝多)的迷迭香酸、咖啡酸和总酚含量显著高于 CK(地面对照)。

表 3 夏枯草主要有效成分含量

Table 3 Content of main active constituents of *Prunella vulgaris*

株系 Strain	迷迭香酸/ (mg · g ⁻¹) Rosmarinic acid (X ₁₁)	阿魏酸/ (mg · g ⁻¹) Ferulic acid (X ₁₂)	咖啡酸/ (mg · g ⁻¹) Caffeic acid (X ₁₃)	齐墩果酸/ (mg · g ⁻¹) Oleanolic acid (X ₁₄)	总黄酮/ (mg · g ⁻¹) Total flavon (X ₁₅)	总酚/ (mg · g ⁻¹) Total phenol (X ₁₆)
CK	14.24±3.01 b	0.61±0.07 ab	0.12±0.02 b	1.43±0.28 a	34.54±4.68 b	39.62±1.41 b
I	22.07±1.76 a	0.24±0.09 b	0.19±0.03 a	1.56±0.07 a	44.14±9.64 b	55.04±4.42 a
II	15.12±4.69 b	0.42±0.02 b	0.12±0.04 b	1.36±0.31 a	33.99±5.04 b	40.81±3.99 b
III	14.96±6.04 b	0.44±0.11 b	0.13±0.02 b	1.43±0.16 a	38.04±12.30 b	41.50±10.59 b
IV	15.51±1.23 b	0.43±0.07 b	0.11±0.04 b	1.37±0.02 a	36.37±3.95 b	41.09±2.78 b
V	18.98±1.89 ab	0.30±0.07 b	0.15±0.04 ab	1.40±0.07 a	56.50±15.37 ab	51.42±3.92 ab
VI	22.88±2.98 a	0.31±0.26 b	0.14±0.01 ab	1.26±0.26 a	61.52±6.39 a	55.97±4.88 a
VII	12.78±3.29 b	0.72±0.21 a	0.10±0.02 b	1.50±0.14 a	35.45±13.51 b	38.12±14.92 b

注: X₁₁—X₁₆依次代表迷迭香酸、阿魏酸、咖啡酸、齐墩果酸、总黄酮、总酚。下同。

Note: X₁₁—X₁₆ represent rosmarinic acid, ferulic acid, caffeic acid, oleanolic acid, total flavonoids, and total phenolics, respectively. The same below.

2.4 夏枯草 SP₆ 代农艺性状变异情况

由表 4 可知, 夏枯草 SP₆ 代单株果穗数的变异系数最大为 46.37%, 单株果穗干质量变异系数为 30.14%, 仅次于单株果穗数, 说明单株果穗数和果穗干质量两个指标存在丰富变异。其中, 单株果穗数最大的 SP₆ (III-13) 为 114, 最小的 SP₆ (V-4) 为 7, 平均值为 53.20, 因此该指标存在丰富的变异可供筛选。单株果穗干质量平均值为 14.56 g, 最小的

是 SP₆ (V-1), 仅为 7.05 g, 最大的是 SP₆ (IV-3), 该株果穗干质量为 27.50 g。指标最小值集中在株系 V(早熟), 因此, 该株系长势相对最差。迷迭香酸含量最高的是株系 VI-5 为 26.18 mg/g, 远高于 2015 版药典规定的 0.20%, 可以视为迷迭香酸含量增高的有利突变株。6 种有效成分除齐墩果酸外, 变异系数均较大, 其中阿魏酸和总黄酮的变异系数最大, 在 30% 以上。

表 4 夏枯草 SP₆ 代农艺性状变异分析

Table 4 Variation of agronomic traits of *Prunella vulgaris* SP₆ generation

指标 Index	最大值 Maximum		最小值 Minimum		平均值 Mean	极差 Range	标准差 Standard deviation	相对标准偏差/% Relative standard deviation
	数值 Value	株系 Strain	数值 Value	株系 Strain				
X ₁ /cm	42.00	III-1	15.00	III-8	24.19	27.00	4.10	17.81
X ₂ /mm	4.59	I-12	1.35	V-12	3.63	3.24	0.57	16.80
X ₃ /cm	50.00	I-3	22.00	VII-5	31.40	28.00	4.68	12.84
X ₄	22.00	II-3	3.00	V-4	10.16	19.00	4.24	40.53
X ₅	114.00	III-13	7.00	V-4	53.20	107.00	22.48	46.37
X ₆ /cm	2.07	II-15	0.96	V-9; V-14	1.43	1.11	0.54	0.12
X ₇ /cm	13.00	II-2	4.00	V-4	7.33	9.00	1.04	1.05
X ₈ /g	190.00	IV-3	70.00	V-1	108.00	120.00	22.89	18.42
X ₉ /g	59.06	IV-3	23.34	V-1	34.64	35.72	7.65	19.94
X ₁₀ /g	27.50	IV-3	7.05	V-1	14.56	20.45	4.39	30.14
X ₁₁ /(mg · g ⁻¹)	26.18	VII-5	9.06	VII-2	17.07	17.12	4.61	27.03
X ₁₂ /(mg · g ⁻¹)	0.88	VII-5	0.15	VII-2	0.43	0.74	0.19	43.95
X ₁₃ /(mg · g ⁻¹)	0.22	I-5	0.06	IV-3	0.13	0.16	0.04	26.74
X ₁₄ /(mg · g ⁻¹)	1.70	CK-4	1.00	II-3	1.42	0.17	0.17	11.68
X ₁₅ /(mg · g ⁻¹)	73.97	V-2	21.06	V-5	40.59	52.91	13.59	33.47
X ₁₆ /(mg · g ⁻¹)	61.34	VII-2	21.77	VII-2	44.72	39.57	9.48	21.20

2.5 夏枯草农艺性状与其有效成分含量的相关性分析

由表 5 可知, 夏枯草 SP₆ 代的果穗干质量与夏

枯草植株的果穗数、分枝数、植株鲜质量呈极显著的正相关关系, 与茎粗、冠幅呈显著正相关关系。该结果可作为从生物学性状上选育高产果穗后代的重要

参考依据之一。生产上大果穗的经济价值更高,果穗长与各性状的相关性依次为:果穗粗(极显著)>果穗数(极显著)>植株干质量(显著)>分枝数(显著);果穗粗与各性状的相关性依次为:分枝数(极显著)>果穗长(极显著)>冠幅(极显著)>果穗数(极显著)>植株干质量(显著)。综合对果穗长和果穗粗的相关性分析得出:大果穗性状与植株干鲜质量、分枝数、果穗数、冠幅呈显著正相关关系,因此它们可以作为选育大果穗的依据。

迷迭香酸含量与茎粗呈显著正相关关系,影响迷迭香酸的指标性状相关性顺序为:总酚(极显著)>咖啡酸(极显著)>总黄酮(极显著)>主茎粗(显著)。阿魏酸含量与齐墩果酸呈正相关关系,与

分枝数、植株干质量、总黄酮、总酚、咖啡酸呈负显著相关或负极显著相关。咖啡酸含量与各指标性状相关性顺序:迷迭香酸(极显著相关)>总酚(极显著相关)>总黄酮(极显著相关)>主茎粗(极显著相关)。齐墩果酸含量与各指标性状相关性顺序:咖啡酸>阿魏酸>冠幅>主茎粗>果穗长>果穗干质量。总黄酮含量与各指标性状相关性顺序:迷迭香酸(极显著相关)>总酚(极显著相关)>咖啡酸(极显著相关)>主茎粗(显著相关)。总酚含量与各指标性状相关性顺序:迷迭香酸(极显著相关)>咖啡酸(极显著相关)>总黄酮(极显著相关)>主茎粗(显著相关)。

表 5 夏枯草农艺性状与其有效成分相关性分析

Table 5 Correlation analysis between agronomic traits and effective components of *Prunella vulgaris*

指标 Index	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8
X_1	1							
X_2	0.223*	1						
X_3	-0.313**	0.056	1					
X_4	-0.118	0.014	0.347**	1				
X_5	-0.154	-0.123	0.299**	0.652**	1			
X_6	-0.064	-0.010	0.248**	0.364**	0.239**	1		
X_7	-0.038	0.094	0.123	0.220*	0.314**	0.334**	1	
X_8	-0.004	0.166	0.199*	0.324**	0.268**	0.142	0.162	1
X_9	-0.062	0.077	0.208*	0.379**	0.248**	0.200*	0.229*	0.533**
X_{10}	-0.010	0.154*	0.154*	0.295**	0.360**	0.125	0.119	0.231**
X_{11}	0.082	0.197*	0.037	0.037	-0.024	-0.058	-0.109	0.145
X_{12}	-0.134	-0.163	-0.096	-0.182*	-0.034	-0.053	-0.023	-0.169
X_{13}	0.138	0.316**	0.120	0.153	0.106	-0.045	-0.056	0.092
X_{14}	-0.122	0.094	0.106	-0.003	-0.003	-0.034	0.026	-0.041
X_{15}	0.138	0.188*	-0.028	-0.162	-0.171	-0.122	-0.128	0.114
X_{16}	0.109	0.208*	-0.007	0.018	-0.081	-0.083	-0.021	0.098
指标 Index	X_9	X_{10}	X_{11}	X_{12}	X_{13}	X_{14}	X_{15}	X_{16}
X_9	1							
X_{10}	0.053	1						
X_{11}	0.067	0.009	1					
X_{12}	-0.212*	-0.058	-0.495**	1				
X_{13}	0.066	0.048	0.635**	-0.604**	1			
X_{14}	-0.044	0.025	-0.050	0.117	0.145	1		
X_{15}	0.019	-0.012	0.586**	-0.357**	0.463**	-0.164	1	
X_{16}	0.025	-0.028	0.691**	-0.502**	0.592**	-0.049	0.535**	1

注: ** 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关, * 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

Note: ** indicates significant correlation at the level of $P<0.01$, * indicates significant correlation at the level of $P<0.05$.

2.6 夏枯草农艺性状与其有效成分含量的主成分分析

变异是反映总体各单位标志值的差异程度或离散程度。变异系数是指标准偏差与测量结果算术平均值的比值,表示分析结果的精密度,能更好地反映指标的离散程度^[26]。对夏枯草 10 项农艺性状与其

6 项有效成分含量进行主成分分析,结果见表 6。由表 6 可知,前 6 个主成分的累计贡献率为 68.457%。这表明前 6 个主成分基本包含了夏枯草活性成分累积性状的全部信息,因此,可用这 6 个主成分对夏枯草品质进行综合评价。第 1 个主成分的特征值为 3.370,贡献率为 21.061%。决定第 1 个主成分的

是咖啡酸、迷迭香酸、阿魏酸、总酚和总黄酮含量,其载荷值除了阿魏酸外均为正值,且绝对值都较高,说明正相关程度较高。第2个主成分的特征值为3.010,贡献率为18.812%。果穗因子和植株鲜干质量因子在第2主成分上载荷绝对值较大,即正相关程度较大。第3个主成分的特征值为1.308,贡献率为8.172%。阿魏酸和齐墩果酸在第3主成分的

载荷较大,即相关程度较高。第4个主成分的特征值和贡献率分别为1.175,7.346%,咖啡酸和齐墩果酸的载荷值较大,即正相关程度较大。第5个主成分的特征值和贡献率分别为1.084,6.772%,其与总酚含量呈较大程度正相关。第6个主成分的特征值和贡献率分别为1.007,6.294%,其与总黄酮含量呈较大程度负相关。

表6 夏枯草农艺性状与其有效成分的主成分分析

Table 6 Principal component analysis of ten agronomic traits and six active ingredients of *Prunella vulgaris*

来源 Component source	成份 Ingredients					
	1	2	3	4	5	6
X ₁	0.180	-0.071	-0.241	0.135	0.170	-0.024
X ₂	0.394	-0.186	-0.136	-0.134	-0.011	-0.030
X ₃	0.159	-0.024	-0.030	0.118	-0.037	0.152
X ₄	0.210	-0.265	-0.118	-0.049	-0.019	-0.142
X ₅	0.082	-0.329	0.047	-0.187	-0.095	0.018
X ₆	0.021	0.774	-0.051	-0.091	0.172	0.017
X ₇	0.008	0.751	-0.118	-0.173	0.319	0.070
X ₈	0.341	0.542	0.329	0.017	-0.491	0.183
X ₉	0.268	0.526	-0.432	0.054	-0.250	-0.062
X ₁₀	0.112	0.501	0.337	0.033	-0.314	0.439
X ₁₁	0.814	0.494	0.243	0.288	0.060	-0.457
X ₁₂	-0.747	-0.286	0.620	0.207	0.442	0.051
X ₁₃	0.820	-0.060	0.220	0.675	-0.013	0.069
X ₁₄	-0.056	0.049	-0.531	0.671	0.033	0.184
X ₁₅	0.674	0.540	0.120	0.055	0.021	-0.580
X ₁₆	0.744	0.429	-0.043	-0.106	0.555	0.375
初始特征值 Initial eigenvalue	3.370	3.010	1.308	1.175	1.084	1.007
贡献率/% Contribution rate	21.061	18.812	8.172	7.346	6.772	6.294
累计贡献率/% Accumulated contribution percentage	21.061	39.872	48.045	55.391	62.163	68.457

3 讨论

3.1 夏枯草生物学性状

株系Ⅰ(分枝多)、Ⅱ(大穗)、Ⅲ(株型分散)、Ⅳ(二级侧枝)的长势较好,且果穗指标表现较好,可能是这4个株系具有分枝多、大穗、株型分散、二级侧枝等突出性状表现,枝叶数量多,光合作用面积增加,积累的有机物多,长势好,使得果穗性状良好,果穗干质量、果穗粗、果穗长、果穗数等较多,且生物学性状之间是交互影响的,各指标之间相互依赖性高。如分枝数相对较多的冠幅比较大,株型也较分散。

各株系中分枝数的变化规律与株高、冠幅、果穗数、果穗粗、果穗长、果穗干质量的变化规律基本相似,结合相关性分析可知,分枝数与冠幅、果穗干质量、果穗长、果穗粗、果穗数、植株鲜干质量呈极显著正相关关系,因此,分枝数可能是对夏枯草产量影响最大的因子,这与杨伟^[27]关于不同居群夏枯草产量构成因子与形态特征关系分析的结果一致。结合主

成分分析,成分因子和果穗指标及产量因子对夏枯草性状选择的可靠性要高于其他因子,各种农艺性状间接作用于产量因子影响夏枯草评价。

果穗数、果穗干质量的变异系数较大,因此该指标存在较丰富的变异。各株系农艺性状指标存在较大差异,可能是经过航天诱变下的空间胁迫、辐射诱变等影响,各植株出现不同方向的变异,经过不断筛选分类,对有利性状进行保留和重点培育,增加各有利性状概率。其中,夏枯草以干燥果穗入药,增加果穗干质量是育种目标。从果穗变异指标得到,果穗数变异最大,果穗干质量次之,说明夏枯草SP₆代在生长的过程中存在丰富变异,有利于目标株系的选育,另外本研究与冯国亮^[23]研究的SP₃代夏枯草主要性状的变异系数相比,整体偏小,可能是随着选育年限延长,SP₆代各株系性状表现趋于专向、稳定遗传,但仍存在部分变异。综合对果穗长和果穗粗的相关性分析得出:大果穗性状与植株干鲜质量、分枝数、果穗数、冠幅呈显著正相关关系,可以作为选育

大果穗的依据。

3.2 夏枯草果穗有效成分含量分析

SP₆代夏枯草的有效成分含量整体上较 SP₃代有效成分含量偏高^[23],可能是经过前3代的筛选,不断选育优质株系,到 SP₆代迷迭香酸含量较高,且相对稳定遗传,有利于进一步选育优良株系。各有效成分含量变异均较大,可能是由于太空强辐射、微重力和真空等综合环境因素导致夏枯草种子染色体水平或DNA水平的变化,导致其产生丰富的变异。

迷迭香酸、咖啡酸、总酚、总黄酮4者之间存在极显著正相关;阿魏酸与迷迭香酸、咖啡酸、总酚和总黄酮存在极显著负相关;齐墩果酸与其他有效成分相关性不显著;各有效成分含量与各果穗指标性状相关性均不显著,可能是各有效成分之间相互影响,存在协同和拮抗协调统一的内部联系,具体的分子机制有待进一步研究。

综合分析6种有效成分含量,为更全面地对夏枯草优质株系进行筛选。通过物候期观察,VI(晚熟)生长期明显晚于其他各株系,VI(晚熟)的总酚、总黄酮含量均最高,V(早熟)次之,而早熟株系并未出现明显早熟表现。VI(晚熟)株系总酚和总黄酮含量最高,可能是总酚和总黄酮的积累与物候期有关。这与王燕^[28]对不同采摘期连翘叶中总黄酮、总酚酸含量测定结果一致,不同采收时期,黄酮类、酚酸类化合物含量存在显著差异,可以用 Harbow^[29]关于植物幼嫩部位较多黄酮、酚酸类成分的产生是植物自我保护的理论来解释。

3.3 主成分分析

主成分分析是一种有效进行综合评价的方法^[30-32]。通过主成分分析,从中提取出6个主成分。表明在影响夏枯草质量的性状中,成分因子和果穗指标及产量因子对夏枯草性状选择的可靠性要高于其他因子。药用植物育种目标的选择,需更加注重各性状间的相关性,主成分分析可以提供数量性状的综合信息,根据目标要求进行主成分筛选,故本研究对夏枯草的各性状进行主成分分析,为航天诱变夏枯草后代优良品种的选育提供参考。

4 结 论

综合分析得到:株系I(分枝多)、株系II(大穗)、株系III(株型分散)、株系IV(二级侧枝)适合选做高产果穗株系。株系VI(晚熟)、株系VII(株型紧凑)有效成分含量最高,适合选做优质株系进行筛选,结合上述6种有效成分含量比较高的植株:

V-2、VI-2、VI-5、VII-4、VII-2,均可作为下一代潜在有效成分含量高的优质株系进一步研究筛选。

影响各优良性状的因子:植株相对越嫩,总酚、总黄酮含量越高。根据果穗数、分枝数、冠幅3个指标进行选育有利于获得高产优质果穗。其中,分枝数对夏枯草产量影响最大。

本研究对夏枯草的研究仅局限于生理方面,针对变异较大的指标,表现良好的株系可进一步进行遗传学的分子机制研究,将基因型选择与表型选择相结合,提高选择效率。利用分子标记技术分析材料遗传多样性也可加快育种进程。

[参考文献]

- [1] 薛明,冯怡,徐德生.夏枯草化学成分及药理作用的研究概况[J].江苏中医药,2005,26(5):55-57.
Xue M, Feng Y, Xu D S. Study on the chemical constituents and pharmacological effects of *Prunella vulgaris* [J]. Jiangsu Journal of Traditional Chinese Medicine, 2005, 26(5): 55-57.
- [2] 刘光敏,贾晓斌,王恒斌,等.夏枯草防治肿瘤化学成分/组分及作用机制研究进展[J].中药材,2009,32(12):1920-1926.
Liu G M, Jia X B, Wang H B, et al. Research progress on the chemical constituents/components and mechanism of *Prunella vulgaris* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2009, 32(12): 1920-1926.
- [3] 汪晓河,马明华,张婧婷,等.中药夏枯草药用概况[J].中国现代应用药学,2019,36(5):625-632.
Wang X H, Ma M H, Zhang J T, et al. Medicinal application overview of herbal medicin *Prunella vulgaris* L. [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2019, 36(5): 625-632.
- [4] 陈宇航,郭巧生,王澄亚.夏枯草本草及其入药部位变化的考证[J].中国中药杂志,2010,35(2):242-246.
Chen Y H, Guo Q S, Wang C Y. Study on the changes of *Prunella vulgaris* L. and its application sites [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2010, 35(2): 242-246.
- [5] 王海波,张芝玉,苏中武,等.夏枯草的本草考证[J].中草药,1994,25(4):213-214.
Wang H B, Zhang Z Y, Su Z W, et al. The herbal research of *Prunella vulgaris* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 1994, 25(4): 213-214.
- [6] 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,2015:6.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part I) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 6.
- [7] 郭巧生,陈宇航,刘丽,等.优化施肥对夏枯草果穗干物质及其产量的效应分析[J].中国中药杂志,2011,36(21):2932-2936.
Guo Q S, Chen Y H, Liu L, et al. Effects of optimized fertilization on dry matter and yield of *Prunella vulgaris* L. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(21): 2932-2936.

- [8] 万德乾,郭巧生,刘丽,等.夏枯草繁育系统的初步研究 [J].中国中药杂志,2013,38(6):800-805.
Wan D Q, Guo Q S, Liu L, et al. Preliminary study on the breeding system of *Prunella vulgaris* L. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(6):800-805.
- [9] 赵秀梅.中药夏枯草的药理作用研究现状 [J].内蒙古中医药,2016,35(16):120-122.
Zhao X M. Research status of pharmacological action of *Prunella vulgaris* L. [J]. Inner Mongolia Traditional Chinese Medicine, 2016, 35(16):120-122.
- [10] 夏伯候,熊苏慧,唐洁,等.基于低共熔溶剂法提取夏枯草中总黄酮:一种新型绿色合成溶剂的应用 [J].中国中药杂志,2018,39(3):423-426.
Xia B H, Xiong S H, Tang J, et al. Extraction of total flavonoids from *Prunella vulgaris* L. based on eutectic solvent method: application of a novel green synthetic solvent [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 39(3):423-426.
- [11] Hao J, Ding X L, Yang X, et al. *Prunella vulgaris* polysaccharide inhibits growth and migration of breast carcinoma-associated fibroblasts by suppressing expression of basic fibroblast growth factor [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2016, 33(3):1-7.
- [12] 周亚敏,唐洁,熊苏慧,等.夏枯草极性部位的化学成分及其抗乳腺癌活性研究 [J].中国药学杂志,2017,52(5):40-44.
Zhou Y M, Tang J, Xiong S H, et al. Chemical constituents of polar parts of *Prunella vulgaris* L. and its anti-breast cancer activity [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52(5):40-44.
- [13] Lin W, Zheng L, Zhuang Q, et al. Spica prunellae promotes cancer cell apoptosis, inhibits cell proliferation and tumor angiogenesis in a mouse model of colorectal cancer via suppression of stat3 pathway [J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2013, 13(1):144.
- [14] 朱昀昊,张梦佳,李璐,等.夏枯草的转录组测序与次生代谢产物生物合成相关基因的挖掘 [J].中草药,2019,48(8):1666-1670.
Zhu Y H, Zhang M J, Li L, et al. Transcriptome sequencing of *Prunella vulgaris* L. and mining of genes related to secondary metabolite biosynthesis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 48(8):1666-1670.
- [15] French K E, Harvey J, McCullagh J S O. Targeted and untargeted metabolic profiling of wild grassland plants identifies antibiotic and anthelmintic compounds targeting pathogen physiology, metabolism and reproduction [J]. Sci Rep, 2018, 8(1):1695.
- [16] Ru M, Wang K R, Bai Z Q, et al. A tyrosine aminotransferase involved in rosmarinic acid biosynthesis in *Prunella vulgaris* L. [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):4892.
- [17] 傅泉炎.中药含水量与中药仓储质量的关系 [J].中国药业,2002,11(5):70.
Fu Q Y. Relationship between water content of traditional Chinese medicine and storage quality of traditional Chinese medicine [J]. China Pharmaceuticals, 2002, 11(5):70.
- [18] 陈宇航,郭巧生,刘丽,等.栽培与野生夏枯草矿质元素含量及分布特征研究 [J].中国中药杂志,2011,36(22):3070-3074.
Chen Y H, Guo Q S, Liu L, et al. Study on the content and distribution characteristics of mineral elements in cultivated and wild *Prunella vulgaris* L. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(22):3070-3074.
- [19] 郭巧生,周黎君,武征,等.不同水分处理对夏枯草花期生长和生理特性的影响 [J].中草药,2010,41(10):1715-1719.
Guo Q S, Zhou L J, Wu Z, et al. Effects of different water treatments on the growth and physiological characteristics of *Prunella vulgaris* L. [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(10):1715-1719.
- [20] 杨肖荣,杜一新.夏枯草的资源保护及栽培技术 [J].特种经济动植物,2016,19(12):39-41.
Yang X R, Du Y X. Resource protection and cultivation techniques of *Prunella vulgaris* L. [J]. Special Economics of Animals and Plants, 2016, 19(12):39-41.
- [21] 马楠,齐志鸿,毛仁俊,等.航天诱变对夏枯草SP₁代生物学特性和迷迭香酸含量的影响 [J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(9):178-184.
Ma N, Qi Z H, Mao R J, et al. Effects of space mutation on the biological characteristics and rosmarinic acid content of SP₁ in *Prunella vulgaris* L. [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2015, 43(9):178-184.
- [22] 蔡健乐.航天诱变夏枯草SP₂代优良植株的选育 [D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2015.
Cai J L. Breeding of excellent plants of SP₂ generation of *Prunella vulgaris* by space flight [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2015.
- [23] 冯国亮.航天诱变对夏枯草SP₃代生物学性状及有效成分积累的影响 [D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2016.
Feng G L. Effects of space mutation on the biological characteristics and accumulation of active constituents of SP₃ in *Prunella vulgaris* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2016.
- [24] 邸金明,刘彬彬,赵婧,等.齐墩果酸五种含量测定方法的比较研究 [J].西北药学杂志,2013,28(5):483-486.
Di J M, Liu B B, Zhao J, et al. Comparative study on five methods for determination of oleanolic acid [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2013, 28(5):483-486.
- [25] 魏永生,王永宁,石玉平,等.分光光度法测定总黄酮含量的实验条件研究 [J].青海大学学报,2003,21(3):61-63.
Wei Y S, Wang Y N, Shi Y P, et al. Study on experimental conditions for determination of total flavonoids by spectrophotometry [J]. Journal of Qinghai University, 2003, 21(3):61-63.
- [26] 孙慧钧.平均指标与标志变异指标 [J].数理统计与管理,2003,22(Z1):212-215.
Sun H J. Average index and marker variation index [J]. Jour-

- nal of Mathematical Statistics and Management, 2003, 22 (Z1):212-215.
- [27] 杨伟, 刘丽, 郭巧生, 等. 不同居群夏枯草产量构成因子与形态特征关系分析 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21):3666-3671.
Yang W, Liu L, Guo Q S, et al. Analysis of the relationship between yield components and morphological characteristics of different populations of *Prunella vulgaris* L. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(21):3666-3671.
- [28] 王燕, 王儒彬, 孙磊, 等. 不同采摘期连翘叶中总黄酮、总酚含量与 DPPH 自由基清除能力的相关性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):109-112.
Wang Y, Wang R B, Sun L, et al. Correlation between total flavonoids, total phenolic content and DPPH free radical scavenging ability in forsythia suspensa leaves in different picking stages [J]. China Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(16):109-112.
- [29] Harbow M E, Balentine D A. Tea chemistry [J]. Crit Rev Plant Sci, 1997, 16:415.
- [30] 石岩, 魏峰, 马双成. 关于主成分分析在中药和天然药物分析研究中应用的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2018(14):3031-3035.
Shi Y, Wei F, Ma S C. Discussion on the application of principal component analysis in the analysis of traditional Chinese medicine and natural medicine [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(14):3031-3035.
- [31] 谭远德, 万春玲, 周泽阳, 等. 构建分子标记连锁图谱的图论构图方法 [J]. 生物数学学报, 1999, 14(3):338-347.
Tan Y D, Wan C L, Zhou Z Y, et al. The mathematical method of comprehensive evaluation of varieties [J]. Journal of Biomathematics, 1999, 14(3):338-347.
- [32] 袁志发, 周静萍. 多元统计分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2009:341.
Yuan Z F, Zhou J Y. Multivariate statistical analysis [M]. Beijing: Science Press, 2009:341.

(上接第 130 页)

- [31] 魏猛, 张爱君, 李洪民, 等. 基于长期施肥下潮土磷素演变及农学阈值的研究 [J]. 西南农业学报, 2018, 31(11):2373-2377.
Wei M, Zhang A J, Li H M, et al. Study on evolution characteristics of soil phosphorus and critical value of soil Olsen-P in fluvo-aquic soil under long-term fertilization [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018, 31(11):2373-2377.
- [32] 吴启华. 长期不同施肥下三种土壤磷素有效性和磷肥利用率的差异机制 [D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
Wu Q H. Mechanisms of difference in phosphorus availability and fertilizer P use efficiency in three soils under long-term fertilizations [D]. Beijing: China Agricultural University, 2018.
- [33] 钟晓英, 赵小蓉, 鲍华军, 等. 我国 23 个土壤磷素淋失风险评估: I. 淋失临界值 [J]. 生态学报, 2004(10):2275-2280.
Zhong X Y, Zhao X R, Bao H J, et al. The evaluation of phosphorus leaching risk of 23 Chinese soils: I. leaching criterion [J]. Acta Ecologica Sinica, 2004(10):2275-2280.
- [34] 吕家珑, Fortune S, Brookes P C. 土壤磷淋溶状况及其 Olsen 磷“突变点”研究 [J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(2):142-146.
Lü J L, Fortune S, Brookes P C. Research on phosphorus leaching from soil and its Olsen-P “threshold volume” study [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2003, 22(2):142-146.
- [35] Wang Y T, Zhang T Q, O'Halloran I P, et al. A phosphorus sorption index and its use to estimate leaching of dissolved phosphorus from agricultural soils in Ontario [J]. Geoderma, 2016, 274:79-87.
- [36] 赵小蓉, 钟晓英, 李贵桐, 等. 我国 23 个土壤磷素淋失风险评估: II. 淋失临界值与土壤理化性质和磷吸附特性的关系 [J]. 生态学报, 2006, 26(9):3011-3017.
Zhao X R, Zhong X Y, Li G T, et al. The evaluation of phosphorus leaching risk of 23 Chinese soils: II. the relationships between soil properties, P adsorption characteristics and the leaching criterion [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(9):3011-3017.
- [37] Brookes P C, Heckrath G, de Smet J, et al. Losses of phosphorus in drainage water [M]// Tunney H, Carton O T, Brookes P C, et al. Phosphorus loss from soil to water. UK: Biddles Ltd, Guildford& King's Lynn, 1998:253-271.
- [38] Heckrath G, Brookes P C, Poulton P R, et al. Phosphorus leaching from soil containing different phosphorus concentrations in the Broadbalk experiment [J]. Journal of Environmental Quality, 1995, 24:904-910.