

杜仲药材有效成分与环境因子的灰色关联度分析

蔡萍^{1,2}, 刘才英³, 梁雪娟¹, 肖娟^{1,2}, 万丹^{1,2}, 张水寒^{1,2*}

(1. 湖南省中医药研究院 中药研究所, 长沙 410013;

2. 杨永华全国名老中医药专家传承工作室, 长沙 410008;

3. 重庆市中医骨科医院, 重庆 400012)

[摘要] **目的:**运用灰色关联度法分析影响杜仲皮和叶中4种有效成分含量产地差异性的主要环境因子。**方法:**利用HPLC同时测定10个产地10年生杜仲皮和叶中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷的含量,流动相分别为乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0~25 min,5%~13% A;25~45 min,13%~15% A;45~80 min,15%~21% A),流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0~20 min,5%~12% A;20~35 min,12%~13% A;35~45 min,13%~19% A;45~65 min,19%~25% A),检测波长均为210 nm。检测杜仲生长地土壤的全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷、速效钾、有机质及pH,获得土壤因子数据,运用灰色关联度法对4种有效成分与气候及土壤因子的相关性进行分析。**结果:**10个产地同一生长年限杜仲皮、叶中4种有效成分的含量存在较大差异。碱解氮、速效钾、有机质、年平均相对湿度、年平均最高气温对4种成分在杜仲不同组织中的影响较大。**结论:**杜仲不同组织部位中4种有效成分含量与环境因子的灰色关联度分析明确了主导环境因子,为合理施肥及环境调控来提高杜仲次生代谢产物的含量提供参考,为杜仲的适宜种植区选择及其道地性产生原因分析提供实验依据。

[关键词] 杜仲; 杜仲叶; 有效成分; 土壤因子; 气候因子; 灰色关联度

[中图分类号] R283.6;R284.1;P468;O29 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0010-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230010

Grey Correlation Degree Analysis Between Active Ingredients in Barks or Leaves of Eucommiae Cortex and Environmental Factors in Their Habitats

CAI Ping^{1,2}, LIU Cai-ying³, LIANG Xue-juan¹, XIAO Juan^{1,2}, WAN Dan^{1,2}, ZHANG Shui-han^{1,2*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Traditional
Chinese Medicine (TCM), Changsha 410013, China;

2. Inheritance Studio of Yang Yong-hua, Changsha 410008, China;

3. Chongqing Orthopedics Hospital of TCM, Chongqing 400012, China)

[Abstract] **Objective:** To find out dominant environmental factors which impact main effective components in barks or leaves of Eucommiae Cortex by gray correlation analysis. **Method:** HPLC was employed to determine contents of geniposidic acid, aucubin, pinosresinol diglucoside and chlorogenic acid at the same time in barks or leaves of Eucommiae Cortex at 10 years from ten habitats, detection wavelength were 210 nm. Soil physicochemical characteristics were detected, such as total nitrogen, total phosphorus, total potassium and so on, in order to obtain soil factor data, data were analyzed by grey correlation method. **Result:** There were big

[收稿日期] 20130811(014)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2011BAI01B08)

[第一作者] 蔡萍,副研究员,从事中药制剂及质量标准研究,Tel:13787257925,E-mail:330343348@qq.com

[通讯作者] *张水寒,博士,研究员,博士生导师,从事中药资源、中药制剂及质量标准研究,Tel:0731-88881651,E-mail:zhangshuihan0220@126.com

differences between barks or leaves of *Eucommiae Cortex* at the same growth ages in ten habitats. Effects of alkali-hydrolyzable nitrogen, rapidly available potassium, organic matter, the annual average relative humidity, the annual average maximum temperature on contents of four compounds from different tissue were remarkable.

Conclusion: Grey correlation analysis finds out dominant environmental factors that impact contents of active ingredients in different tissues of *Eucommiae Cortex*. It may provide a clue to improve content of secondary metabolites in *Eucommiae Cortex* by rational application of fertilizer and environmental control, it also provides scientific guidance for choosing suitable areas and analyzing genuineness causes of *Eucommiae Cortex*.

[**Key words**] *Eucommiae Cortex*; leaves of *Eucommiae Cortex*; active ingredients; soil factor; climatic factors; grey correlation degree

杜仲为我国特有经济树种,同时又是名贵滋补药材。《中国药典》自 2005 年版开始将杜仲皮和叶同时收录,确定了松脂醇二葡萄糖苷为杜仲皮的主要药效成分及其含量标准;绿原酸为评价杜仲叶质量的指标性成分^[1]。研究表明在环烯醚萜类化合物中,京尼平苷酸和桃叶珊瑚苷具有良好的抗癌、抗衰老、降压等药理作用^[2-4],二者常被作为药材的质量评价指标^[5-7]。杜仲资源分布广泛,药材产地来源不一,不同产地药材的品质存在差异。据文献初步研究报道,环境因子如产地气候^[8]、土壤等可能是造成杜仲产地差异性的影响因素,但相关研究较少。王兴宁^[9]考察了杜仲黄酮类成分与土壤环境因子的相关性研究,而未见气候因子影响的统计分析。本实验拟系统分析气候、土壤两方面与杜仲皮、叶中 4 种有效成分含量的相关性,以桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷的含量为因变量,将气候因子与土壤因子相结合,运用系统的灰色关联度法分析影响不同产地杜仲皮和叶中有效成分含量差异性的环境因素,为探索影响不同产地药材次生代谢产物的积累因素提供方向,同时为杜仲的

规范化种植提供参考。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪 (SPD-20 AVP 型紫外检测器,日本岛津),T-214 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),ZN-200A 型高速中药粉碎机(中南制药机械厂)。松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸、桃叶珊瑚苷对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-12021001, MUST-11121502, MUST-11091601),绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100081-200907),乙腈为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

杜仲药材采自湖南、贵州、陕西,每个省区分别采集 10 年生杜仲的皮和叶(自然阴干处理),利用随机多点采样法采集杜仲生长地土壤,同一生长地样品充分混合,自然风干,备用。药材样品均经湖南省中医药研究院谢昭明研究员鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* 的皮和叶。气候因子数据从中国气象科学数据共享服务网官方网站气象数据库中统计获得,见表 1。

表 1 杜仲样品采集信息及采样地气象数据

| No. | 采样地 | 采集时间 | 年平均 降水量/mm | 年平均 气温/℃ | 年平均相对 湿度/% | 年平均 最低气温/℃ | 年平均 最高气温/℃ | 年平均日照 时数/h |
|-----|------|---------|---------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 | 江华 | 2012-04 | 1 431.61 | 19.05 | 75.20 | 15.81 | 23.62 | 1 505.29 |
| 2 | 溆浦 | 2012-05 | 1 477.70 | 17.32 | 74.75 | 14.07 | 21.97 | 1 275.65 |
| 3 | 保靖 | 2012-04 | 1 264.55 | 16.40 | 77.50 | 13.37 | 21.00 | 1 056.00 |
| 4 | 沅陵 | 2012-04 | 1 382.44 | 17.09 | 74.20 | 13.94 | 21.84 | 1 328.57 |
| 5 | 石门 | 2012-05 | 1 324.53 | 17.36 | 75.10 | 13.96 | 21.91 | 1 507.19 |
| 6 | 慈利 | 2012-08 | 1 462.30 | 16.38 | 76.80 | 13.04 | 21.47 | 1 069.85 |
| 7 | 遵义枫香 | 2012-08 | 929.55 | 15.96 | 75.10 | 13.17 | 20.01 | 970.91 |
| 8 | 毕节 | 2012-07 | 829.03 | 13.33 | 80.30 | 10.19 | 18.30 | 1 154.80 |
| 9 | 略阳 | 2012-08 | 788.98 | 13.89 | 73.60 | 9.97 | 19.63 | 1 457.93 |
| 10 | 安康 | 2012-07 | 921.77 | 15.86 | 73.60 | 12.16 | 21.23 | 1 725.29 |

注:采集部位均为叶、干皮。

2 方法与结果

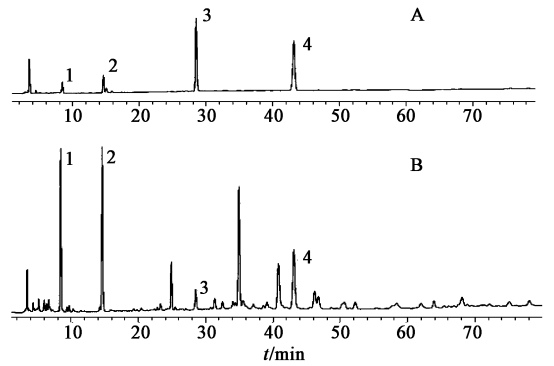
2.1 杜仲皮中活性成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-0.1% 磷酸水 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 25 min, 5% ~ 13% A; 25 ~ 45 min, 13% ~ 15% A; 45 ~ 80 min, 15% ~ 21% A), 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 进样量 5 μL, 见图 1。

2.1.2 供试品溶液的制备 刮去杜仲皮表面的粗皮, 粉碎成絮状, 精密称取约 2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 30 mL, 密塞, 称重, 超声处理 (250 W, 50 kHz, 下同) 30 min, 放冷, 称重, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过滤, 即得。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 分别含 10.4, 23.5, 1.9, 4.9 μg 的混合对照品溶液。

2.1.4 样品测定 取不同产地 10 年生杜仲皮样品, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果见表 2。检测数据表明有效成分含量间产地差异性明显, 以湖南慈利和贵州遵



A. 对照品; B. 供试品; 1. 桃叶珊瑚苷;
2. 京尼平苷酸; 3. 绿原酸; 4. 松脂醇二葡萄糖苷

图 1 杜仲皮 HPLC

义、毕节样品中含量较高, 陕西略阳及安康样品中含量较低。按 2010 年版《中国药典》对杜仲药材中有效成分的含量要求, 即松脂醇二葡萄糖苷 ≥ 0.10%, 说明各样品均符合要求。

2.2 杜仲叶中活性成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-0.1% 磷酸水 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 5% ~ 12% A; 20 ~ 35 min,

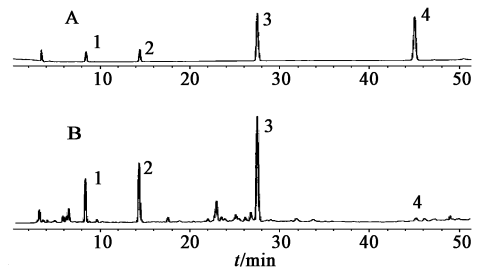
表 2 不同产地杜仲皮、叶中活性成分的质量分数 (n = 3)

| 产地 | 杜仲皮 | | | | 杜仲叶 | | | |
|----|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|----------|
| | 桃叶珊瑚苷 | 京尼平苷酸 | 绿原酸 | 松脂醇二葡萄糖苷 | 桃叶珊瑚苷 | 京尼平苷酸 | 绿原酸 | 松脂醇二葡萄糖苷 |
| 江华 | 1.484 | 1.423 | 0.135 | 0.155 | 0.264 | 0.207 | 1.103 | 0.104 |
| 溆浦 | 1.571 | 1.486 | 0.148 | 0.264 | 0.268 | 0.216 | 1.021 | 0.112 |
| 保靖 | 1.091 | 2.046 | 0.172 | 0.238 | 0.330 | 0.313 | 1.244 | 0.128 |
| 沅陵 | 1.432 | 1.532 | 0.138 | 0.169 | 0.259 | 0.243 | 1.180 | 0.117 |
| 石门 | 1.673 | 1.873 | 0.159 | 0.101 | 0.176 | 0.204 | 0.922 | 0.111 |
| 慈利 | 2.329 | 5.639 | 0.203 | 0.352 | 0.465 | 0.439 | 1.501 | 0.126 |
| 遵义 | 2.084 | 2.429 | 0.102 | 0.481 | 0.384 | 0.691 | 1.270 | 0.116 |
| 毕节 | 2.842 | 2.492 | 0.134 | 0.360 | 0.248 | 0.563 | 1.025 | 0.101 |
| 略阳 | 0.375 | 0.715 | 0.120 | 0.217 | 0.151 | 0.154 | 1.154 | 0.045 |
| 安康 | 0.211 | 0.354 | 0.115 | 0.151 | 0.123 | 0.122 | 1.285 | 0.061 |

12% ~ 13% A; 35 ~ 45 min, 13% ~ 19% A; 45 ~ 65 min, 19% ~ 25% A), 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 进样量 5 μL, 见图 2。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取杜仲叶粉末 (过 40 目筛) 约 2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 30 mL, 密塞, 称重, 超声 30 min, 放冷, 称重, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 于 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 滤过, 即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷适量, 加甲



A. 对照品; B. 供试品; 1. 桃叶珊瑚苷; 2. 京尼平苷酸;
3. 绿原酸; 4. 松脂醇二葡萄糖苷

图 2 杜仲叶 HPLC

醇制成每 1 mL 分别含 5.2, 4.7, 5.7, 1.5 μg 的混合对照品溶液。

2.2.4 样品测定 取不同产地 10 年生杜仲叶样品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,见表 2。结果表明 4 种活性成分含量间产地差异性明显,以湖南慈利和贵州遵义的样品中含量较高,陕西略阳及安康的样品中含量较低。按 2010 年版《中国药典》对杜仲叶中绿原酸中含量的要求($\geq 0.080\%$),说明各样品均符合要求。与杜仲皮相比,杜仲叶中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、松脂醇二葡萄糖苷的含量明显较低,但绿原酸含量较高。

2.3 杜仲生长地土壤因子的测定 检测土壤样品

全氮、碱解氮、全钾、速效钾、全磷、速效磷、有机质及 pH^[10]。土壤全氮的测定采用半微量开氏法,碱解氮的测定采用碱解扩散法,土壤全磷的测定采用碱熔-钼锑抗分光光度法,速效磷的测定采用 NaHCO_3 浸提-比色法,土壤全钾的测定采用 NaOH 熔融-火焰光度法,速效钾的测定采用乙酸铵浸提-火焰光度法,土壤有机质含量测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法,土壤 pH 测定采用电位法,见表 3。结果显示慈利产地的生长地土壤中全氮、全磷、全钾的含量较低,碱解氮、速效磷、速效钾、有机质的含量反而偏高,而 pH 弱酸性;略阳生长地土壤中全氮、全磷、全钾的含量偏高,碱解氮、速效磷、速效钾、有机质的含量较低,而 pH 偏弱碱性。

表 3 杜仲生长地土壤因子的测定($n=3$)

| 产地 | 全磷 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 全氮 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 全钾 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 碱解氮 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 速效磷 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 速效钾 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 有机质 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ | pH |
|----|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|---|--|------|
| 江华 | 0.505 | 0.428 | 214.33 | 49.7 | 7.007 | 80.66 | 12.068 | 6.64 |
| 溆浦 | 0.475 | 0.630 | 194.34 | 50.2 | 6.870 | 66.43 | 13.770 | 7.13 |
| 保靖 | 0.510 | 0.523 | 211.45 | 57.3 | 5.205 | 79.72 | 15.268 | 6.87 |
| 沅陵 | 0.543 | 0.812 | 225.45 | 51.5 | 7.805 | 78.79 | 13.659 | 7.22 |
| 石门 | 0.411 | 0.656 | 180.54 | 53.5 | 6.700 | 65.82 | 15.368 | 6.25 |
| 慈利 | 0.375 | 0.448 | 78.42 | 59.6 | 6.807 | 77.79 | 25.888 | 6.64 |
| 遵义 | 0.490 | 0.602 | 159.30 | 54.6 | 6.607 | 84.70 | 19.483 | 7.02 |
| 毕节 | 0.437 | 0.540 | 108.87 | 59.8 | 12.412 | 74.56 | 20.946 | 7.44 |
| 略阳 | 0.635 | 0.797 | 301.54 | 32.2 | 4.805 | 60.66 | 9.177 | 7.59 |
| 安康 | 0.519 | 0.811 | 253.09 | 39.8 | 12.012 | 64.63 | 18.926 | 7.46 |

2.4 环境因子与有效成分含量灰色关联分析^[11]

应用统计软件 DPS7.55 版分别对不同产地杜仲皮(叶)与气候、土壤因子间进行灰色关联度分析,数据转换方式选择标准化,分辨系数取 0.5,见表 4。结果表明土壤因子碱解氮对杜仲皮中 4 种有效成分积累关系较大,其次为速效钾和有机质;气候因子中,年平均相对湿度对有效成分积累影响较大,其次为年平均最高气温和年平均降水量。土壤因子有机质、碱解氮和速效钾对杜仲叶中 4 种有效成分积累关系较大;气候因子中年平均最高、最低气温和年平均相对湿度对 4 种有效成分积累影响较大。综合分析,土壤因子中碱解氮、有机质和速效钾对杜仲皮和叶中 4 种有效成分含量影响较大,气候因子则为年平均相对湿度和年平均最高气温。

3 讨论

灰色关联分析是根据因素间发展趋势的相似或

相异程度,利用各子系统(或因素)间的数值关系,对一个动态发展变化的系统进行量化分析的一种方法。本文运用灰色关联度法系统分析不同产地杜仲皮和叶中主要活性成分含量与环境因子间的相关性,弥补了回归、相关等统计分析法要求大量数据等不足^[12],更适合环境因子的分析。

根据灰色关联度分析结果,土壤中碱解氮、速效钾和有机质对杜仲皮和叶中主要活性成分的影响较大。不同产地杜仲生长地土壤中碱解氮、速效钾和有机质的含量水平各不相同,杜仲皮和叶品质较优,主要有效成分含量较高的产地为慈利和遵义,这 2 个产地土壤表现出比其他产地土壤高氮、高钾、高有机质的特点。碱解氮、速效钾为土壤中速效成分,可被植物直接吸收利用,提供给植物氮源及钾离子,参与各种蛋白的合成,并影响次生代谢产物合成过程反应^[13];有机质为土壤特征组分,土壤有机质的含

表 4 环境因子与杜仲皮有效成分含量灰色关联系数

| 环境因子 | 杜仲皮 | | | | 杜仲叶 | | | |
|---------|-------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------|--------------|
| | 桃叶珊瑚苷 | 京尼平苷酸 | 绿原酸 | 松脂醇 二葡萄糖苷 | 桃叶珊瑚苷 | 京尼平苷酸 | 绿原酸 | 松脂醇 二葡萄糖苷 |
| 年平均降水量 | 0.766 | 0.756 | 0.773 | 0.631 | 0.704 | 0.696 | 0.672 | 0.826 |
| 年平均气温 | 0.690 | 0.732 | 0.739 | 0.608 | 0.698 | 0.660 | 0.664 | 0.755 |
| 年平均相对湿度 | 0.793 | 0.818 | 0.780 | 0.697 | 0.766 | 0.803 | 0.676 | 0.752 |
| 年平均最低气温 | 0.710 | 0.701 | 0.705 | 0.640 | 0.769 | 0.652 | 0.655 | 0.793 |
| 年平均最高气温 | 0.788 | 0.749 | 0.767 | 0.679 | 0.660 | 0.652 | 0.719 | 0.819 |
| 年平均日照时数 | 0.656 | 0.699 | 0.723 | 0.550 | 0.618 | 0.544 | 0.665 | 0.643 |
| 全磷 | 0.659 | 0.700 | 0.660 | 0.665 | 0.709 | 0.609 | 0.743 | 0.725 |
| 全氮 | 0.683 | 0.681 | 0.664 | 0.611 | 0.609 | 0.557 | 0.664 | 0.657 |
| 全钾 | 0.664 | 0.707 | 0.656 | 0.560 | 0.717 | 0.607 | 0.725 | 0.688 |
| 碱解氮 | 0.881 | 0.826 | 0.805 | 0.752 | 0.823 | 0.748 | 0.739 | 0.897 |
| 速效磷 | 0.778 | 0.788 | 0.710 | 0.646 | 0.744 | 0.775 | 0.688 | 0.713 |
| 速效钾 | 0.740 | 0.804 | 0.755 | 0.722 | 0.844 | 0.770 | 0.732 | 0.868 |
| 有机质 | 0.779 | 0.852 | 0.706 | 0.751 | 0.752 | 0.779 | 0.773 | 0.768 |
| pH | 0.659 | 0.710 | 0.652 | 0.672 | 0.666 | 0.663 | 0.696 | 0.735 |

量在不同土壤中差异很大,为植物营养的主要来源之一,促进植物生长发育^[14]。

气候因子年平均相对湿度、年平均最高气温对杜仲皮、叶中 4 种有效成分积累关系较大。可能是因为年平均相对湿度及气温能影响皮孔、气孔的开闭,进而影响皮、叶组织的气体交换和呼吸作用^[15],适宜的空气相对湿度和环境温度能促进同化作用产物在植物组织中的积累。研究结果提示可通过调整不同环境因子,加快植株的生长发育,增加次生代谢产物的积累,提高杜仲药材的品质,亦可通过寻找环境因子与次生代谢产物间的作用规律来指导杜仲适宜产区的选择,为杜仲的规范化种植提供实验依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:154.
 [2] 杜红岩,李钦,李福海,等. 杜仲种仁桃叶珊瑚苷含量的测定及积累规律[J]. 林业科学研究,2009,22(5):744.
 [3] 刘净,梁敬钰,谢韬. 环烯醚萜类化合物近年研究进展[J]. 海峡药学,2004,16(1):14.
 [4] 史卉妍,何鑫,欧阳冬生,等. 京尼平苷及其衍生物的药效学研究进展[J]. 中国药学杂志,2006,41(1):4.
 [5] 刘慧,张盛,刘仲华. HPLC 法同时测定杜仲皮中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷和松脂醇二葡萄糖苷[J]. 中草药,2012,43(8):1547.

[6] 宣志红,寿辉,姚璇,等. 不同干燥加工与贮藏方法对杜仲叶药材质量变化的研究[J]. 中草药,2013,44(11):1431.
 [7] 严瑞娟,张水寒,罗跃龙,等. 不同产地初加工方式处理杜仲叶的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药,2013,44(15):2085.
 [8] 张鞍灵,马亚团,赵德义,等. 杜仲叶次生代谢物季节和地域差异性研究[J]. 林产化学与工业,2009,29(5):104.
 [9] 王兴宁. 杜仲叶黄酮类成分含量与土壤环境因子相关性研究[D]. 贵阳:贵州师范大学,2008.
 [10] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2008:34,44,56,76,81,101,106.
 [11] 叶惠焯,刘向前,刘恒言,等. 湘葛一号总黄酮与气候因子的灰色关联度分析[J]. 西北药学杂志,2013,28(5):443.
 [12] 孙芳芳. 浅议灰色关联度分析方法及其应用[J]. 科技信息,2010,27(17):364.
 [13] 李飞,杨铁钊,张小全,等. 不同施氮量烤烟氮素代谢差异及其对香气前体物形成的影响[J]. 华北农学报,2014,29(1):170.
 [14] 罗世琼. 黄花蒿土壤微生物与抗疟相关成分的关联性研究[D]. 重庆:西南大学,2013.
 [15] 曹晋军,温祥珍,李亚灵. 空气相对湿度变化对温室番茄植株糖代谢的影响[J]. 山西农业大学学报:自然科学版,2011,31(3):235.

[责任编辑 刘德文]