

决明毛状根诱导及激素与诱导子对毛状根生长和蒽醌类化合物合成的影响

杨世海¹, 刘晓峰², 果德安³, 郑俊华³

(1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林亚泰(集团)股份有限公司, 吉林 长春 130031; 3. 北京大学药学院, 北京 100083)

摘要:目的 研究激素与诱导子对决明毛状根生长和蒽醌类化合物合成的影响。方法 用发根农杆菌 LBA9402 感染决明 *Cassia obtusifolia* 外植体, 建立决明毛状根培养系统。结果 NAA 为决明毛状根培养的最适外源激素, 培养基中添加 0.05% NAA 可使毛状根中 5 种蒽醌类化合物总和提高 4 倍。黑曲霉诱导子对毛状根生长影响不大, 却明显促进蒽醌类化合物的形成, 其中每 50 mL 培养基加入 2.0 mL 诱导子可使蒽醌类化合物总量增加 2 倍多。茉莉酸(JA)对决明毛状根中蒽醌类化合物合成具有明显的促进作用, 其中 10 $\mu\text{mol/L}$ 作用最强, 蒽醌类化合物总量比对照提高 73%, JA 对毛状根生长有抑制作用, 但不太显著。结论 为进一步筛选适宜的决明毛状根培养系统并调控次生代谢产物的研究奠定了基础。

关键词: 决明; 毛状根; 激素; 蒽醌类化合物

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0752-05

Effect of phytohormones and elicitors on growth and anthraquinone production of *Cassia obtusifolia* hairy roots

YANG Shi-hai¹, LIU Xiao-feng², GUO De-an³, ZHENG Jun-hua³

(1. College of Chinese Medicinal Material, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Changchun YaTai Group Co., Ltd., Changchun 130031, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of phytohormones and elicitors on the growth and anthraquinone production of *Cassia obtusifolia* hairy roots. **Methods** Blades and petioles of *C. obtusifolia* were infected with *Agrobacterium rhizogenes* LBA9402 and the *in vitro* culture system of the hairy root was established. **Results** Hairy roots were induced by *A. rhizogenes* LBA9402. The results showed that the addition of 0.5% NAA to the hairy roots increased the content of five kinds of anthraquinones by four times, and *Aspergillus niger* elicitor had no much effect and JA had slightly inhibitory effect on root growth, but both of them significantly promoted the anthraquinone accumulation, the anthraquinone yield increased more than two times with the treatment of 2.0 mL elicitor/50 mL medium and by 73% with the treatment of 10 $\mu\text{mol/L}$ jasmin acid (JA), respectively. JA had little inhibitory effect on the growth of hairy roots. **Conclusion** The foundation has been established for further optimizing the proper cultural system for *C. obtusifolia* hairy roots and regulating the secondary metabolite.

Key words: *Cassia obtusifolia* L.; hairy root; hormone; anthraquinones

发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes* 感染植物后能引起植物产生毛状根。发根农杆菌中含有致使植物产生毛状根的 Ri 质粒, 在 vir 区基因产物协助下, Ri 质粒中的 T-DNA 片段转移进植物核基因组中, 就导致了毛状根的大量出现^[1]。由于毛状根培养时生长迅速且不需添加外源激素, 拥有亲本植株的次级代谢途径, 遗传的稳定性, 处于分化状态等特点, 引起了人们的浓厚兴趣。用发根农杆菌诱导药用

植物产生毛状根, 寻求建立适合生产次生代谢产物的培养系统, 已成为药用植物培养系统的一个研究热点^[2~4]。

决明 *Cassia obtusifolia* L. 种子为常用中药, 主要含蒽醌类化合物。现代医学证明, 决明子具有保肝作用, 能显著降低血浆胆固醇和甘油三酯的含量, 降血压, 并能抑制血小板凝聚。许多蒽醌类化合物如大黄素、大黄酸、大黄酚-1-甲醚、大黄酚-8-甲醚等都具

有上皮生长因子受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂活性^[5]。

本研究选用发根农杆菌 LBA9402 菌株诱导决明外植体,产生毛状根,建立毛状根离体培养体系,并研究不同激素与诱导子对决明毛状根生长及蒽醌类化合物合成的影响,为进一步筛选适宜的决明毛状根培养系统并调控次生代谢产物的研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 无菌外植体的制备:决明种子采自河南邓州,经北京大学药学院陈虎彪教授鉴定为 *C. obtusifolia* L.。决明种子用 0.1% HgCl_2 浸 12 min,用无菌水冲洗 3 次,用灭过菌的滤纸吸干种子表面水分,置 MS_0 (不添加任何激素)琼脂培养基上,25℃光照培养,2 d 后种子伸出胚根,4 d 后种子伸出子叶,待子叶完全张开后,剪下子叶切成小块,作为遗传转化用的外植体。

1.2 激素与诱导子:本实验采用的 3 种生长素为 2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)、IAA(吲哚乙酸)和 NAA(萘乙酸),分别取 0.1、0.5、1.0 mg/mL 3 种质量浓度进行试验;所用真菌为黑曲霉 *Aspergillus niger*,每 50 mL 培养基按 1.0、1.5、2.0、2.5 mL 诱导子加入到培养基中;所用茉莉酸(jasmonic acid, JA)浓度为 0.1、1.0、10.0、100.0 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.3 发根农杆菌的活化:发根农杆菌 LBA9402 在附加 50 mg/L 卡那霉素(Kanamycin)的 YMB 琼脂培养基上划线培养。挑取单菌落接种于 YMB 液体培养基中,25℃,150 r/min 振荡培养,过夜。

1.4 毛状根的诱导:将外植体置于 MS_0 琼脂培养基上,25℃,每天光照 16 h,预培养 2~3 d 后,用于转化。将外植体浸于已活化的菌液中 20~30 min,用灭过菌的滤纸吸干外植体表面菌液,置于 MS_0 琼脂培养基上,25℃,慢射光下培养。共培养 3~5 d 后,转移到附加 25 mg/L 卡那霉素、200 mg/L 头孢霉素的 MS_0 琼脂培养基上(抗性培养基)除农杆菌,一般在接种 10 d 后,外植体上即有不定根长出,待根长到 1.5 cm 以上时,剪下转移到上述抗性培养基继续培养杀菌,每 2 周一次,直至完全除菌。取完全除菌的毛状根转移到 MS_0 液体培养基中,建立毛状根离体培养体系。

1.5 Ri 质粒转化根的鉴定:采用 Southern blotting 杂交技术,用 ^{32}P 标记的 Ri 质粒 T-DNA 上的 rolC 做探针,与决明毛状根 DNA 杂交,结果表明,由发根农杆菌 LBA9402 诱导的毛状根 DNA 有明显的杂交信号,而来源于未转化植物材料的 DNA 则无杂交信号,证明 Ri 质粒上的 T-DNA 已转移并整合

到决明细胞核基因组中。

1.6 决明毛状根生物量的测定:收获决明毛状根培养物。先用镊子取出根,挤净根中所含培养基,用分析天平称鲜重。用蒸馏水漂洗 1 min,80℃烘干,称干重。

1.7 真菌诱导子的制备:黑曲霉接种于马铃薯葡萄糖液体培养基中(每升培养基中含葡萄糖 2 g,20%马铃薯浸汁 100 mL),于普通摇床上 110 r/min、25℃、暗培养 6 d 收获。悬浮培养的菌球抽滤,加入 10 倍体积的蒸馏水,匀浆,匀浆液于高压灭菌锅(121℃)中处理 20 min,抽滤,滤液即为真菌诱导子。采用苯酚-硫酸法测定其总糖质量,以葡萄糖为对照品。

1.8 蒽醌类化合物的测定

1.8.1 总蒽醌类化合物的提取:将称好干重的毛状根,用研钵研成粉末,分别装入 5 mL 试管中,每个试管中加入 2 mL 丙酮-甲醇(1:1)混合液,超声振荡 5 min 后置于 4℃冰箱中过夜。用注射器吸取每管中上清液,通过滤膜滤于 1.5 Eppendorf 管中,通风橱中挥干溶剂后准确加入 2 mL 甲醇,液相色谱测试。

1.8.2 对照品溶液配制:分别称取芦荟大黄素 2.5 mg、大黄酸 4.9 mg、大黄素 2.4 mg、大黄酚 4.1 mg、大黄素甲醚 2.9 mg 对照品,将它们共同溶于丙酮-甲醇(1:1)的溶液中,定容成 25 mL 作为对照品储备液,取 1 mL 该储备液定容于 25 mL 量瓶中作为测试对照品溶液。

1.8.3 HPLC 色谱条件:TSP P100 高效液相色谱仪,TSP UV100 紫外检测器,Phenomenex ODS-3 色谱柱,流动相为甲醇-1%高氯酸(85:15),体积流量 1 mL/min,检测波长为 254 nm。

1.8.4 标准工作曲线的绘制:精密称取对照品,各约 2.50 mg 分别置于 10 mL 量瓶中,加乙腈定容,即为对照品液。分别取对照液适量,混合,用乙腈定容至一定体积,得到 9 种质量浓度的系列对照品溶液,用以测定标准工作曲线。

对各对照品分别求得标准工作曲线,其中 X 为质量浓度($\mu\text{g/mL}$), Y 为峰面积, r 为相关系数。

芦荟大黄素: $Y=31.37786X-1.41111$, $r=0.9996$, 线性范围 0.63~50.60 $\mu\text{g/mL}$ 。大黄酸: $Y=23.96157X-27.97333$, $r=0.9987$, 线性范围 0.70~56.00 $\mu\text{g/mL}$ 。大黄素: $Y=20.31695X-11.07349$, $r=0.9970$, 线性范围 0.25~49.00 $\mu\text{g/mL}$ 。大黄酚: $Y=32.54191X-0.87336$, $r=0.9998$, 线性范围 0.22~43.00 $\mu\text{g/mL}$ 。大黄素甲

醚: $Y=22.705\ 38\ X-2.756\ 62$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 $0.29\sim57.60\ \mu\text{g/mL}$ 。

1.8.5 测定与分析:在上述色谱条件下,用 HPLC 测定各样品的峰面积,根据回归方程计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚。

2 结果

2.1 决明毛状根的生长曲线:决明毛状根在接种后第 5~20 天为对数生长期,20 d 后毛状根逐渐成熟,35 d 毛状根完全老化;在第 20~35 天毛状根向培养基中释放大量的游离蒽醌化合物(图 1)。据此将毛状根的周期选为 35 d 较为合适。在 MS₀(无激素的 MS)液体培养基中建立起的决明毛状根离体培养体系,每隔一个月继代培养 1 次。决明毛状根在 MS 液体培养基中悬浮培养情况见图 2。

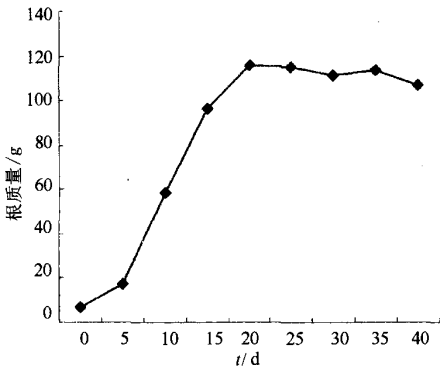


图 1 离体培养决明毛状根的生长动态
Fig. 1 Time course of hairy root growth of *C. obtusifolia* in MS liquid medium



图 2 MS 液体培养基中悬浮培养的决明毛状根
Fig. 2 Hairy root of *C. obtusifolia* in MS liquid medium

2.2 不同激素对毛状根生长和游离蒽醌化合物合成的影响:本实验采用 3 种激素(2,4-D、IAA、NAA),取 3 种不同的质量浓度,以期找到适合决明毛状根生长和蒽醌类化合物合成的激素种类和质量浓度,结果见表 1。2,4-D 对决明毛状根生长及蒽醌类化合物合成均不利,NAA 虽对毛状根生长有抑制作用,却明显促进蒽醌类化合物的合成。其中 0.5

mg/L 的 NAA 可使毛状根中蒽醌类化合物的质量浓度提高 4 倍。而 IAA 虽对毛状根生长有促进作用,但对蒽醌类化合物合成的促进作用不明显。因此综合生物量和次生产物合成两方面,确定 NAA 为决明毛状根培养最适外源激素。

2.3 真菌诱导子对毛状根生长和游离蒽醌化合物合成的影响:本实验选用黑曲霉作为真菌诱导子,取 4 种不同的量加到培养基中,考察真菌诱导子对毛状根生长和游离蒽醌化合物合成的影响,结果见表 2。黑曲霉诱导子对毛状根生长影响不大,却明显促进蒽醌类化合物的形成,其中每 50 mL 培养基加入 2.0 mL 诱导子可使蒽醌类化合物总量增加 2 倍多。

表 1 不同种类激素对决明毛状根生长及蒽醌化合物合成的影响

Table 1 Effect of different phytohormones on growth and anthraquinone production of hairy root of <i>C. obtusifolia</i>							
激素/(mg·L ⁻¹)	鲜重(干重)/(g·瓶 ⁻¹)	游离蒽醌化合物/(μg·L ⁻¹)				总 量	
		芦荟 大黄素	大黄 素	大黄 酚	大黄素 甲醚		
对照	49.33 (3.14)	29.83	213.52	191.54	195.47	630.36	
IAA 0.1	50.27 (3.34)	30.89	381.59	262.19	384.10	1 058.77	
0.5	56.33 (3.65)	85.78	271.01	287.44	439.83	1 084.06	
1.0	53.15 (3.06)	微量	290.70	174.42	390.92	856.04	
2,4-D 0.1	17.14 (1.56)	8.19	118.17	62.79	70.98	260.13	
0.5	15.19 (1.25)	4.69	39.69	61.56	65.94	171.88	
1.0	11.82 (1.05)	3.15	32.29	29.14	39.90	104.48	
NAA 0.1	17.00 (1.43)	5.72	130.85	36.47	686.40	859.44	
0.5	25.57 (2.65)	微量	389.55	160.99	2 262.44	2 812.98	
1.0	19.67 (1.94)	5.82	102.34	22.31	753.21	883.68	

表 2 黑曲霉诱导子对决明毛状根生长及蒽醌化合物合成的影响

Table 2 Effect of <i>A. niger</i> elicitor concentration on growth and anthraquinone production of hairy root of <i>C. obtusifolia</i>						
真菌诱导子/(mL·50 mL ⁻¹ 培养基)	鲜重(干重)/(g·瓶 ⁻¹)	游离蒽醌化合物/(μg·L ⁻¹)				
		芦荟大黄素	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	总 量
0	51.48 (3.27)	23.71	344.99	309.02	215.82	893.54
1.0	52.03 (3.31)	19.03	413.75	285.49	273.08	991.35
1.5	52.29 (3.32)	11.62	401.72	953.67	199.20	1 566.21
2.0	52.34 (3.35)	84.59	462.30	1 098.80	175.88	1 821.57
2.5	52.09 (3.34)	20.04	501.84	448.39	332.33	1 302.60

2.4 茉莉酸对毛状根生长和游离蒽醌化合物合成的影响:本实验在培养基中加入 4 种不同浓度的茉莉酸,旨在探讨茉莉酸对决明毛状根的生长和蒽醌类化合物形成的作用,结果见表 3。JA 对决明毛状根中蒽醌类化合物合成具有明显的促进作用,其中 10 μmol/L 作用最强,蒽醌类化合物总量比对照提高

表3 茉莉酸对决明毛状根生长及蒽醌化合物合成的影响

Table 3 Effect of JA on growth and anthraquinone production of hairy root of *C. obtusifolia*

JA/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	鲜重(干 重)/(g· 瓶 ⁻¹)	游离蒽醌化合物/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)				
		芦荟 大黄素	大黄素	大黄酚	大黄素 甲醚	总量
0	51.48 (3.27)	23.71	344.99	309.02	215.82	893.54
0.1	51.07 (3.21)	60.19	390.82	276.86	252.79	980.66
1.0	50.24 (3.10)	63.55	483.60	459.58	294.50	1301.23
10.0	49.36 (2.99)	50.83	753.48	374.49	367.02	1527.82
100.0	49.04 (2.94)	83.79	396.90	299.88	257.99	1038.56

73%, JA 对毛状根生长有抑制作用, 但不太显著。

3 讨论

许多报道表明, 毛状根都能在无激素的培养基上快速自主生长, 并迅速繁殖。据报道, 有的植物毛状根在适宜的条件下, 其生长速度比非转化根快 100~1 000 倍。本实验中决明毛状根在液体培养基中呈现出正常离体器官的生长模式, 具有快速生长特性。

尽管毛状根具有激素自主性, 能在无激素的培养基上正常生长, 但适当的加入外源激素仍能促进毛状根生长及次生产物合成。然而, 激素种类不同对毛状根的作用也不同。有报道, IAA 对茜草 *Rubia tinctorum* 毛状根生长和蒽醌类化合物的合成均有促进作用^[6]; 1 mg/L NAA 可使甜舌草 *Lippia dulcis* 毛状根中 hernandulcin 的量增加 100%^[7]; NAA 和 IBA 能显著促进人参毛状根的生长, 其中 0.5 mg/L IBA 对人参毛状根的生长和总皂苷积累的促进作用最明显^[8]。本实验结果表明 NAA 为决明毛状根培养最适外源激素。

植物激素对植物细胞中各种酶的合成和活性具有调节作用。激素可以通过促进合成或抑制降解来增加酶的活性。植物激素对酶活性的调节可以帮助人们从分子水平上进一步探讨激素的作用机制。研究证明, 生长素和细胞分裂素可以调节蛋白质的代谢, 并且对植物基因的表达有显著的调节作用^[9]。由此可以推测, 植物激素之所以能影响毛状根的生长及次生代谢产物的合成, 可能由于其对某些基因的调控, 影响了蒽醌类化合物生物合成中某些关键酶合成的缘故。

真菌诱导子是来源于真菌的一种确定的化学信号。在植物与真菌的相互作用中, 能快速、高度专一和选择地诱导植物特定基因的表达, 进而活化特定次生代谢途径, 积累特定的目的次生产物。

利用真菌诱导子作为调控植物次生代谢, 进而

提高目的次生产物含量的一种手段, 已在植物组织和细胞培养中得到广泛应用。真菌诱导子对毛状根的作用也有报道。在菊科植物 *Bidens elba* 毛状根培养中加入疫霉菌 *Phytophthora* spp. 菌丝提取物, 使多炔类含量显著提高^[10]。万寿菊毛状根培养物经黑曲霉菌丝体匀浆物处理, 会促进噻吩成分的积累, 比对照提高 85%^[11]。长春花毛状根培养中加入曲霉菌 *Aspergillus* spp. 匀浆物, 可使阿吗碱和长春花碱分别提高 66% 和 19%^[12]。本实验中发现, 黑曲霉诱导子可明显促进决明毛状根中蒽醌类化合物的积累。

茉莉酸和茉莉酸甲酯是近年研究极为热门的一类新的芳香类物质, 具有多种生物活性, 它作为一类信号转导物, 在植物细胞培养中, 它们诱导次生代谢物形成过程中基因的转录激活, 最终导致次生代谢物的合成^[13]。在毛状根培养上的应用, 有报道在长春花的毛状根培养物中加入茉莉酸, 可使阿吗碱的量提高 80%^[14]。在本实验决明毛状根的培养中, JA 同样对蒽醌类化合物合成具有明显的促进作用。

References:

- [1] Chilton M D, Tepfer D A, Petit A, et al. *Agrobacterium rhizogenes* inserts T-DNA into the genomes of the host plant root cells [J]. *Nature*, 1982, 295: 432-436.
- [2] Liu B Y, Ye H C, Li G F. The latest progress of the application of Ri plasmid in plant science [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 1998, 15 (4): 1-7.
- [3] Liu D, Hu Z B. Perspectives of plant biotechnology application in the production of traditional drugs [J]. *Prog Biotechnol* (生物工程进展), 1997, 17 (1): 37-41.
- [4] Zhou L G, Wang J J, Yang C R. Progress on plant hairy root culture and its chemistry. 2. Secondary metabolism of plant hairy roots [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11 (3): 104-112.
- [5] Chang Z Z. Studies on *in vitro* culture and active constituents of Ri plasmid-transformed roots of *Rheum wittrochii* Lundser., *Rheum palmatum* L., *Cassia obtusifolia* L. [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Beijing Medical University* (北京医科大学博士学位论文) [D]. Beijing: Beijing Medical University, 1997.
- [6] Kyoko S, Takeshi Y. Anthraquinone production by transformed root cultures of *Rubia tinctorum*; Influence of phytohormones and sucrose concentration [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30 (5): 1507-1509.
- [7] Sauerwein M, Yamazaki T, Shimomura K. Hernandulcin in hairy root cultures of *Lippia dulcis* [J]. *Plant Cell Rep*, 1991, 9: 579-581.
- [8] Zhou Q Y, Ding J Y, Liu J, et al. Effect of different phytohormones on the growth and ginsenoside content of *Panax ginseng* hairy root [J]. *J Plant Resour Environ* (植物资源与环境学报), 2003, 12 (1): 26-28.
- [9] Schumlig T, Silke S, George R. Cytokinins as regulation of gene expression [J]. *Physiol Plant*, 1997, 100: 505-519.
- [10] Flores H E, Pickard J J, Signs M. Elicitation of polyacetylene production in hairy root cultures of *Asteraceae* [J]. *Plant Physiol*, 1988, 86: 108-110.
- [11] Buitelaar R M, Cesario M T. Elicitation of thiophene

- production by hairy roots of *Tagetes patula* [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1996, 14: 2-7.
- [12] Vazquez-Flota F, Moreno-Valenzuela O, Miranda-Ham M L, et al. Catharanthine and ajmalicine synthesis in *Catharanthus roseus* hairy root cultures in an induction medium and during elicitation [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1994, 34: 243-247.
- [13] Sembdner G, Parthier B. The biochemistry and the physiology and molecular actions of jasmonates [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1993, 44: 569-589.
- [14] Rihwani S K, Shanks J V. Effect of elicitor dosage and exposure time on biosynthesis of indole alkaloids by *Catharanthus roseus* hairy root cultures [J]. *Biotechnol Prog*, 1998, 14 (3): 442-449.

氮、磷对丹参生长及丹参素和丹参酮Ⅱ_A积累规律研究

韩建萍^{1,2}, 梁宗锁^{1*}

(1. 中国科学院、水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100; 2. 北京师范大学
大学资源学院资源药物与中药资源研究所, 北京 100875)

摘要:目的 研究氮、磷肥对丹参生长发育及次生代谢物的影响。方法 采用大田试验与室内分析相结合的方法。结果 氮对丹参素及丹参酮Ⅱ_A的积累表现了负面的效应, 随施氮量的增加, 丹参素及丹参酮Ⅱ_A的质量分数逐渐减小。磷肥对于丹参素和丹参酮Ⅱ_A的积累表现正效应。施用磷肥可以缓解施氮造成的丹参素和丹参酮Ⅱ_A的下降。丹参酮Ⅱ_A和丹参素的积累高峰值均出现在150 d左右。结论 施氮有利于丹参产量的增加, 施磷有利于丹参素和丹参酮Ⅱ_A的积累。

关键词: 丹参; 丹参素; 丹参酮Ⅱ_A; 积累

中图分类号: R282

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0756-04

Regulation of *Salvia miltiorrhizae* growth and danshensu and tanshinon II_A accumulation under nitrogen and phosphorus

HAN Jian-ping^{1,2}, LIANG Zong-suo¹

(1. Institute of Soil and Water Conservation, Ministry of Water Conservancy, Chinese Academy of Science, Yangling 712100, China; 2. Institute of Natural Medicine and Chinese Medicine Resources, College of Resource Science and Technology, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; danshensu; tanshinon II_A; accumulation

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 为常用活血祛瘀的重要中药, 每年的需要量较大, 为满足市场需求, 各地开始进行大面积人工栽培。而当野生药材转化为人工种植时, 植株的生长条件得到了优化, 药材的品质也会有不同程度的变化, 各种栽培措施对丹参次生代谢物的合成有一定的影响。有研究表明: 丹参酮与根直径呈负相关^[1,2], 氮、磷肥作为一种常见的增产措施, 已被广泛采用, 但有关该措施对丹参产量及其次生代谢物的影响的研究并不多见, 本实验研究规范化栽培中氮、磷对丹参生长发育及次生代谢物的影响, 试图找出氮、磷与丹参产量及其次生代谢物积累之间的规律, 为合理栽培丹参提供理论依据。

1 材料与方法

本实验于天士力商洛药业有限公司的丹参基地进行。种植材料来源于商南丹参基地培育的丹参苗。0~60 cm 土层的土壤基本理化性质为: 有机质 10.2 g/kg、全氮 0.7 g/kg、速效氮 67.5 mg/kg、速效磷 14.9 mg/kg、速效钾 130.9 mg/kg、有效铁 16.8 mg/kg、有效铜 1.6 mg/kg、有效锰 12.1 mg/kg、有效锌 0.8 mg/kg。

试验方案见表1, 重复3次, 小区面积24 m², 氮肥的1/3做基肥, 另外的2/3做追肥, 磷肥全部做基肥。丹参苗于2002年3月8日移栽入试验小区, 6月开始取样, 每30 d取样1次。测定根鲜重、根干重、地上部分鲜重、地上部分干重、根长、根粗、根数、株高。保存干样用于测定丹参酮Ⅱ_A和丹参素。生长

收稿日期: 2004-08-22

基金项目: 陕西省科技攻关基金(2001K01-G15-03); 陕西天士力植物药业有限公司基金(TSL01001)

作者简介: 韩建萍(1977—), 女, 新疆石河子人, 北京师范大学在读博士生, 主要研究施肥对中草药生长及有效成分积累的影响。

* 通讯作者 Tel: (029)87014582 E-mail: liangzs819@163.net