

## 不同土壤水分对丹参叶片总酚酸类成分积累及相关酶活性的影响

梁宗锁<sup>1,2</sup>, 杨东风<sup>1</sup>, 杨宗岐<sup>1</sup>, 韩蕊莲<sup>1,2</sup>, 刘晓蕾<sup>2</sup>

(1. 浙江理工大学生命学院, 杭州 310018; 2. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**以丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)为材料,采用盆栽实验,研究丹参叶片在不同土壤水分(田间持水量的35%、55%、75%)条件下总酚酸类成分积累及相关酶活性的变化规律。结果表明干旱胁迫后期,丹参叶片总酚酸类成分积累明显提高,表现为总酚酸含量以55%处理最高,35%处理次之,75%处理最低,其中55%处理总酚酸含量达到75%处理的1.50倍,35%处理达到75%处理的1.31倍。处理前期,55%土壤含水量能够促进PAL酶活性提高,而处理中后期55%和35%土壤含水量均能够促进TAT酶活性提高,但干旱胁迫对C4H酶活性影响不显著。丹参叶片总酚酸类成分的积累与PAL和C4H酶相关,未发现与TAT有明显关系。这为丹参叶片资源的开发和丹参规范化种植与灌溉提供了理论参考,也为丹参药材的质量控制提供了指导。

**关键词:** 土壤水分; 总酚酸; 丹参; 酶活性

**中图分类号:** R282.2 **文献标志码:** A

### 0 引言

丹参是我国传统大宗药材,主要包括丹酚酸和丹参酮两类成分。酚酸类成分是一类含有芳香环和羟基的化合物,它们在植物中分布广泛,种类繁多,具有很强的抗氧化活性,是植物根系分泌物的重要组分,也是人类药品的重要来源。近些年来,由于丹酚酸类成分在治疗心脑血管疾病、肺纤维化以及恶性肿瘤等疾病方面的突出表现而备受关注<sup>[1-2]</sup>。已有研究表明,丹参叶片中也含有大量的酚酸类化合物,如丹酚酸B和迷迭香酸等,丹参叶片提取物也具有很强的抗氧化活性<sup>[3]</sup>,可以作为丹酚酸类药物的重要原料,具有很高的经济价值和广阔的开发前景。苯丙烷类代谢途径和色氨酸途径是丹酚酸类成分生物合成的重要来源,苯丙氨酸解氨酶(PAL)是位于初生代谢和次生代谢分支处的关键酶<sup>[4]</sup>,催化植物体内多种防御功能化合物的形成<sup>[5-7]</sup>,也是合成迷迭香酸分子结构上的咖啡酰基的关键酶,肉桂酸

4-羟化酶(C4H)是苯丙烷类代谢途径的重要酶,而酪氨酸氨基转移酶(TAT)则是色氨酸途径的关键酶。Razzaque等<sup>[8]</sup>认为迷迭香酸的累积与PAL酶活性呈一定正相关,焦蒙丽等<sup>[9]</sup>研究认为PAL在迷迭香酸合成过程中的限速作用比TAT大。我们在研究中也发现,丹参酚酸类成分的积累与PAL酶活性更为相关<sup>[10]</sup>。

干旱是影响植物生长的重要环境因子之一,干旱胁迫不仅能够抑制植物生长,而且能够改变细胞内代谢流,包括初生代谢和次生代谢。已有研究表明,水分胁迫显著促进了药用植物中次生代谢产物的积累<sup>[11-12]</sup>。金丽萍等<sup>[13]</sup>发现,蒙古扁桃叶内PAL和C4H活性随干旱胁迫程度的增加而逐渐增强,但水分胁迫对丹参叶片中酚酸类成分积累以及相关酶活性影响的研究尚未见报道。因此,本研究旨在通过盆栽试验,研究不同土壤水分处理对丹参叶片总酚酸类成分积累以及相关酶活性的影响,揭示丹参叶部酚酸类成分积累的关键时期以及最佳土壤水分

收稿日期: 2012-10-12

基金项目: 浙江理工大学科研启动基金(1204806-Y, 1204822-Y); 高等学校博士学科点专项科研基金(20110204110028)

作者简介: 梁宗锁(1965-),男,陕西扶风人,教授,博士生导师,主要从事药用植物次生代谢调控和中草药规范化栽培的理论和技术研究。

通信作者: 韩蕊莲,教授,电子邮箱: ruilianxiao@yahoo.com.cn

条件,阐明干旱胁迫对丹参叶片酚酸类成分积累的调控规律,为丹参规范化种植和合理灌溉提供理论参考,为控制丹参药材质量提供指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

供试丹参幼苗来自陕西省天士力商洛植物药业有限公司药源基地,苗期约 180 d。选择色泽鲜红、粗细均匀健壮、无病幼苗,移栽前去除地上部分,留一条主根减小失水,确保成活。

### 1.2 试验设计

实验采用盆栽法。于 2010 年 3 月 12 日选取大小一致幼苗移栽于高 27 cm、上口径 35 cm、下口径 22 cm 的塑料桶中,每桶装风干土 10 kg,每桶 3 株,共 50 桶,桶中装有试验地耕层土壤,土壤经自然风干、过筛去杂后与细河沙以及蚯蚓粪按质量  $W_{\text{土壤}} : W_{\text{细沙}} : W_{\text{蚯蚓粪}} = 3 : 1 : 1$  混匀,田间最大持水量为 27%,土壤容重为  $1.1 \text{ g/cm}^3$ 。盆栽桶放置于中国科学院水利部水土保持中心,透光防雨棚内。

移栽后,首次浇透水,使其缓苗,期间每 2d 补水至充足,缓苗生长 1 个月,待幼苗长势稳定后进行处理,选取大小长势基本一致的幼苗 42 桶,每桶 3 株,于 2010 年 4 月 15 日进行水分处理,不浇水至土壤水分自然消耗到设定标准后,用感量为 0.005 kg 的电子秤称重控制土壤含水量在设定范围。试验共设低、中、高 3 个土壤水分水平,分别为田间持水量的 35%,55%,75%。每个处理重复 14 桶,并设置对照桶(裸土),以除去盆中土壤的表面蒸发水分。

### 1.3 丹参叶片总酚酸含量测定

丹参叶片总酚酸类成分测定参照田树革<sup>[14]</sup>的方法,采用 Folin-Ciocalteu 法。

福林试剂的配制:称取 20 g 钨酸钠和 5 g 钼酸钠于圆底烧瓶中,用 140 mL 蒸馏水溶解,加入 85% 的磷酸溶液 10 mL 和 20 mL 浓盐酸,回流 10 h,然后加入 3 g 硫酸锂及 15 mL 双氧水,加热沸腾 15 min 至亮黄色,不得带微蓝和绿色。冷却,移入 250 mL 容量瓶中,定容,贮于棕色瓶中。

标准溶液的配制:以没食子酸为对照品,购自中国药品生物制品检定所。精确称取 0.0025 g 没食子酸,蒸馏水定容至 25 mL。该标准液浓度为  $0.1 \text{ mg/mL}$ 。

标准曲线的建立:准确量取上述标准液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加 6 mL 水,摇匀,再加 0.5 mL 福林试剂,充分摇匀。

1 min 之后加入 20% 碳酸钠溶液 1.5 mL,混匀定容。在 75℃ 下反应 10 min,于 765 nm 波长下测定吸光度,建立标准曲线。

样品溶液的制备:准确称取 0.5 g 冻干样品在 25 mL 75% 乙醇中超声提取 30 min,静置 10 min,取 2 mL 上清液,75% 乙醇定容至 10 mL 容量瓶,棕瓶贮藏。

样品的测定:准确量取制备好的样品溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 6 mL 蒸馏水,0.5 mL 福林试剂,再加入 1.5 mL 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,用水定容至刻度,混匀,75℃ 水浴 10 min,冷却后 765 nm 处测定吸光值。

### 1.4 丹参叶片相关酶活性测定

主要测定 PAL、C4H、TAT 酶活性,方法参考本课题组<sup>[15-16]</sup>建立的方法上加以改进,具体如下:

苯丙氨酸解氨酶(PAL):取新鲜丹参叶片,迅速用蒸馏水洗净表面杂质,吸水纸吸干水分。加入 5 mL 4℃ 下预冷的提取介质(0.05 mol/L 硼酸缓冲液、5.0 mmol/L 巯基乙醇、1.0 mmol/L EDTA- $\text{Na}_2$ 、5% 甘油, pH 8.8),冰浴下加入 5% PVP 迅速研磨匀浆后,过滤,滤液在 4℃ 下 5000 r/min 离心 15 min,上清液用于酶活性的检测。

测定系统含有酶液 0.05 mL,硼酸缓冲液(pH 8.8) 2 mL、L-苯丙氨酸(0.02 mol/L) 1 mL、蒸馏水 1 mL;对照不加 L-苯丙氨酸,加入 1 mL 蒸馏水代替。反应液于 37℃ 水浴中保温 60 min 后加入 0.2 mL 6 mol/L HCl 终止反应,在 257 nm 下测定吸光度,以每分钟 OD 值变化 0.01 为一个酶活单位 U。

肉桂酸 4-羟化酶(C4H):取新鲜丹参叶片,迅速用蒸馏水洗净表面杂质,吸水纸吸干水分。加入 5 mL 4℃ 下预冷的提取介质(0.1 mol/L 磷酸缓冲液、0.25 mol/L 蔗糖、0.5 mmol/L EDTA、2 mmol/L 巯基乙醇, pH 7.6),冰浴下迅速研磨匀浆后,过滤,滤液在 4℃ 下 7200 r/min 离心 30 min,上清液用于酶活性的检测。

测定系统含有酶液 0.02 mL,50 mmol/L 肉桂酸 0.2 mL,0.4 mg/mL NADPH 0.2 mL,0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.6) 3 mL,对照不加肉桂酸,加入 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.6) 0.2 mL 代替。反应液于 30℃ 保温 30 min,加入浓盐酸调 pH 2.0 终止反应,取上清液用 NaOH 调 pH 11,在 310 nm 下测定吸光度,以每分钟 OD 值变化 0.01 为一个酶活单位 U。

酪氨酸氨基转移酶(TAT):取新鲜材料,迅速

用蒸馏水洗净表面杂质,吸水纸吸干水分。加入 5 mL 4℃下预冷的提取介质(0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液,0.1 mmol/L EDTA,80 mmol/L  $\alpha$ -酮戊二酸,0.2 mmol/L VB<sub>6</sub>,1 mmol/L DTT,pH 7.3),冰浴下迅速研磨匀浆后,过滤,滤液在 4℃下 7200 r/min 离心 30 min,上清液用于酶活性的检测。

测定系统含有 0.2 mL 酶液,0.2 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.5)3 mL,10 mmol/L  $\alpha$ -酮戊二酸 0.2 mL,88 mmol/L 酪氨酸 0.2 mL,0.2 mmol/L VB<sub>6</sub> 0.1 mL。对照不加酪氨酸,加入 0.2 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.5)0.2 mL 代替。反应液于 37℃水浴中保温 30 min 后加入 1 mL 10 mol/L NaOH 终止反应。然后于 37℃水浴中继续保温 30 min。在 331 nm 下测定吸光度,以每分钟 OD 值变化 0.01 为一个酶活单位 U。

### 1.5 数据统计及分析方法

采用 Microsoft Excel2003、DPS7.55 数据分析软件对原始数据进行统计分析,差异显著性采用 LSD 法进行多重比较检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同土壤水分对丹参叶片总酚酸含量的影响

由图 1 可知,干旱胁迫初期(5月28日—6月28日),3种水分处理对于丹参叶片总酚酸含量影响差异不明显,7月份进入丹参生长旺盛期,表现为 55%田间持水量处理下总酚酸成分含量最高,75%处理下含量次之,而 35%处理下含量最低。随后 3 种水分处理下酚酸含量都迅速降低,不同处理间差异不明显。8月以后总酚酸类含量又逐渐升高,呈直线稳步上升趋势,55%和 35%处理下总酚酸含量上升较快,上升幅度明显高于 75%处理下的总酚酸含量,说明 8月份以后是丹参叶片总酚酸类成分积累上升的重要时期。至 10月份采收期为止,3种水

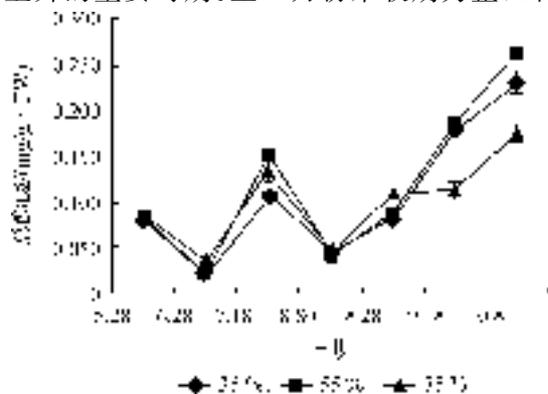


图1 不同土壤水分对丹参叶片总酚酸含量的影响

分处理下,总酚酸含量差异明显,达到极显著差异水平( $p < 0.01$ ),表现为总酚酸含量以 55%处理最高,35%处理次之,75%处理最低,其中 55%处理总酚酸含量达到 75%处理的 1.50 倍,35%处理下达到 75%处理下的 1.31 倍。说明适当的干旱胁迫有利于丹参叶片总酚酸含量的积累,10月份总酚酸积累较高,适宜采收。

### 2.2 不同土壤水分对丹参叶片酚酸类代谢相关酶活性的影响

如图 2(A)和图 2(B)所示,丹参叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)和肉桂酸 4-羟化酶(C4H)在整个生育期内变化趋势基本相同,呈降低-升高-降低-升高的折线型变化,7月份活性最高,8月份活性达到最低后又逐渐升高。3种水分处理下,PAL 活性在 8月份之前均呈现 55%土壤水分下酶活性最高,75%处理次之,35%处理活性最小;而 8月份之后,3种水分条件下活性变化差异不明显。在整个测定期内,3种水分处理对 C4H 活性影响不明显。说明 PAL 作为苯丙氨酸支路的第一个限速酶,在水分调控下起主导作用,而 C4H 可能只起到辅助调节的作用。不同时期,C4H 酶活性变化趋势与 PAL 相似,也在 6月份降低,7月份达到最高,8月份降至最低,以后又呈逐步上升趋势。整体而言,适度干旱可提高 PAL 活性。

酪氨酸氨基转移酶(TAT)活性如图 2(C)所示,不同时期 TAT 活性变化趋势与 PAL 和 C4H 有所不同,呈现 6月急剧降低,8月升至最高,以后又逐步降低的趋势。这与 PAL 和 C4H 在 8月达到活性最低点这一现象完全相反。75%水分下活性除 5月外,其余均保持在较低水平;6月底至 7月中下旬,35%水分下酶活性保持在较高水平;进入 8月丹参旺盛生长期,则以 55%处理下 TAT 酶活性最高,极显著高于另外两个处理( $p < 0.01$ );8月份以后,则仍以 35%水分处理下 TAT 酶活性较高。由此可知,TAT 与 PAL 相似,适度的土壤干旱可提高 TAT 酶活性。

### 2.3 酶活性变化与总酚酸含量变化的相关性分析

由表 1 中的数据可知,从整体水平来看,丹参叶片总酚酸积累与 PAL、C4H 和 TAT 酶活性的相关程度为:PAL > C4H > TAT。PAL 酶活性与总酚酸含量在 0.01 水平上达到极显著正相关关系。

PAL 活性在 3 种土壤水分下均与总酚酸含量呈正相关关系。在 35%和 75%水分处理下,PAL 酶活性与总酚酸的相关系数均达到 0.7 以上,呈强相关;55%处理下,相关系数达到 0.4 以上,呈中度相关。3 种土壤水分下,35%处理下 PAL 活性与总酚酸

含量相关性最强,35%和75%处理下达到极显著水平,55%处理下达到显著水平。C4H酶活性在3种土壤水分下与总酚酸含量的相关系数均在0.2以上,呈弱相关,且与PAL酶相同,也是35%下的相关系数最大,但均未达到显著水平。而TAT活性与总酚酸含量呈负相关。纵观3种土壤水分处理可以看出,PAL和C4H活性与总酚酸含量的相关程度为:35%处理二者相关性最高,75%处理次之,55%处理最低。

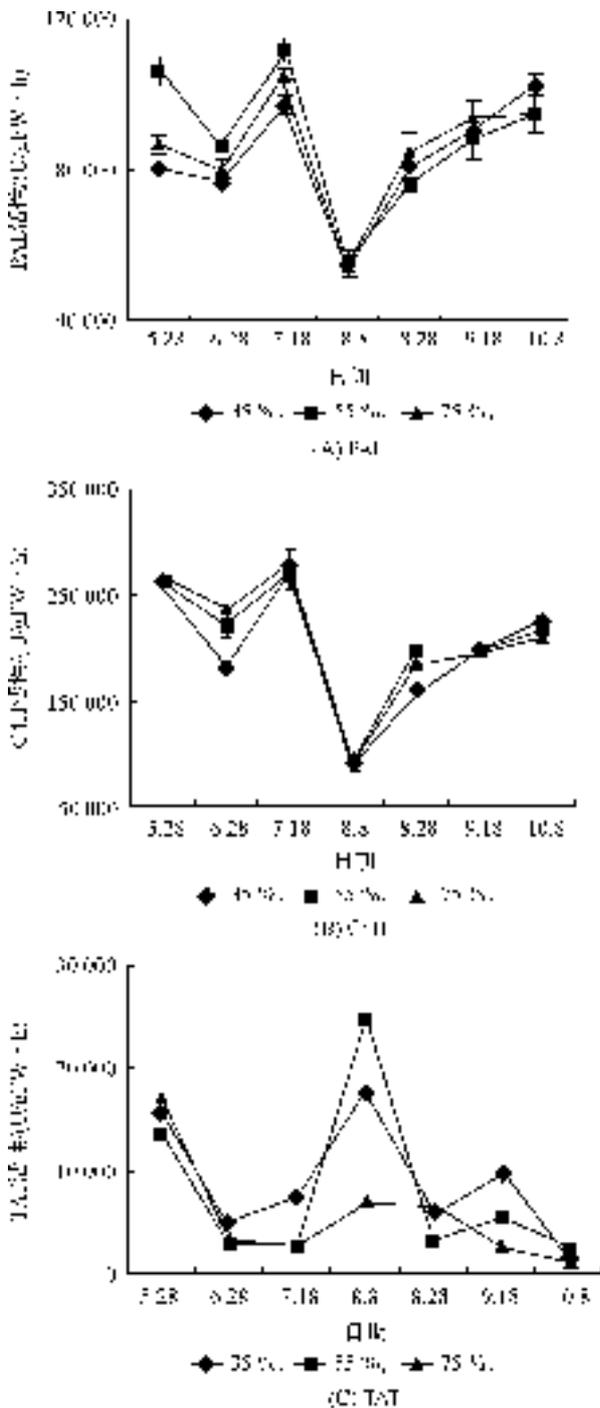


图2 不同土壤水分对丹参叶片PAL、C4H和TAT酶活性的影响

由此可知,当壤水分环境恶劣,土壤含水量降低到一定程度时,激活丹参体内水溶性代谢途径上的关键酶系统,调节酶活性发生改变,从而促进总酚酸含量的增加,调控酚酸类物质的积累。PAL作为苯丙氨酸支路的第一限速酶,在水分调控下起主导作用,参与酚类主要物质的诱导合成,而C4H仅起到辅助调节的作用;TAT作为酪氨酸支路上的限速酶对总酚酸起负调控作用。PAL和C4H活性在35%下与总酚酸含量相关性最大,75%次之,55%最小,说明这两个酶对于总酚酸积累的调控可能与土壤水分胁迫程度,35%水分处理调控作用最强,75%其次,55%最小。

表1 不同水分处理下PAL、C4H、TAT酶活性与总酚酸含量的相关性分析

相关性系数	35% 田间持水量	55% 田间持水量	75% 田间持水量	整体水平
PAL	0.759**	0.408*	0.733**	0.588**
C4H	0.383	0.271	0.281	0.303
TAT	-0.433	-0.452	-0.357	-0.400

注:\*\*表示与对照相比在0.01水平上极显著相关,\*表示与对照相比在0.05水平上显著相关。

### 3 讨论

干旱胁迫不仅能够抑制植物生长,也能改变初生代谢和次生代谢产物的积累。尽管次生代谢产物可能不是植物生长发育所必须的,但它在植物与环境间的相互作用中起着重要作用<sup>[16]</sup>,已有研究表明次生代谢产物积累可能与植物耐水分胁迫反应有关<sup>[16-18]</sup>。我们的前期研究结果表明,水分胁迫能够显著促进玄参中环烯醚萜甙<sup>[12]</sup>以及丹参中丹参酮类成分的积累<sup>[19-21]</sup>。Hernandez I等<sup>[22]</sup>也认为干旱胁迫能够促进Cistus clusii叶片中总酚酸类成分的积累,这与本研究结果一致,干旱胁迫处理能够促进丹参叶片中总酚酸类成分的积累,但这主要表现在处理后期,而在处理前期差异则不显著。

PAL、C4H和TAT是苯丙烷代谢途径3个重要酶,已有大量研究表明,植物苯丙烷代谢途径相关酶活性变化与酚酸类成分的积累密切相关,随着PAL、C4H活性的提高,植物体内会大量积累酚酸和黄酮类物质<sup>[6,23]</sup>。本研究发现药用植物丹参中PAL和C4H活性与植物的抗旱性呈正相关关系,土壤适度干旱可提高丹参叶片PAL和TAT活性,但对C4H酶活性影响不显著。3种水分处理下,随干旱时间的延长总酚酸含量变化与PAL和C4H酶

活性变化趋势相似,呈降低再升高又降低之后稳步升高的趋势。3种土壤水分下,PAL和C4H活性与总酚酸含量从8月份开始均呈直线稳步上升趋势,说明从8月开始丹参叶片进入有效成分大量积累期。至10月采收期为止,总酚酸含量表现为:55%处理含量最高,35%处理次之,75%处理最低,说明55%水分处理较适宜丹参叶片总酚酸类成分的积累,10月后酚酸积累量较高,适宜采收。

Razzaque等<sup>[8]</sup>对PAL酶活性与迷迭香酸累积的相关性进行了研究,认为迷迭香酸的累积与PAL酶活性呈正相关,焦蒙丽等<sup>[9]</sup>则认为PAL对迷迭香酸合成的限速作用比TAT明显。在水杨酸诱导丹参细胞悬浮培养物中酚酸类成分积累的研究中也发现,与TAT酶相比,PAL酶活性与丹参酚酸类成分的积累更为相关<sup>[4]</sup>。本研究对3种土壤水分下丹参叶片PAL、C4H和TAT活性变化与总酚酸含量变化进行了线性相关性分析,结果PAL活性与总酚酸含量的相关程度最高,在0.01水平上呈极显著正相关;C4H次之,呈弱相关,而TAT与总酚酸呈负相关,这进一步表明丹参叶片总酚酸成分积累与PAL和C4H酶有关。不同水分下PAL、C4H活性与总酚酸含量的相关程度均为:35%处理二者相关性最高,75%处理次之,55%处理最低,表明这两个酶对总酚酸积累的调控与丹参植株所处的土壤水分环境也有关联。

总之,本研究表明适度的干旱胁迫能够促进丹参叶片中总酚酸类成分的积累及PAL和TAT酶活性的提高,但对C4H酶活性影响不显著。丹参叶片总酚酸类成分的积累与PAL和C4H酶相关,但可能与TAT关系不大。这为丹参叶片资源的开发和丹参规范化种植与灌溉提供了理论参考,也为丹参药材的质量控制提供了指导。

#### 参考文献:

- [1] Pan H J, Li D Y, Fang F, et al. Salvianolic acid a demonstrates cardioprotective effects in rat hearts and cardiomyocytes after ischemia/reperfusion injury[J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2011, 58(5): 535-542.
- [2] Cao W, Guo X W, Zheng H Z, et al. Current progress of research on pharmacologic actions of salvianolic acid B [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2012, 18(4): 316-320.
- [3] Zhang Y A, Li X, Wang Z Z. Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(10): 2656-2662.
- [4] Dixon R A, Paiva N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(7): 1085-1097.
- [5] Zhao J, Davis L C, Verpoorte R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites[J]. *Biotechnology Advances*, 2005, 23(4): 283-333.
- [6] Sgarbi E, Fornasiero R B, Lins A P, et al. Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape(*Vitis vinifera* L.) leaf[J]. *Plant Science*, 2003, 165(5): 951-957.
- [7] Solecka D, Kacperska A. Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold[J]. *Physiologia Plantarum*, 2003, 119(2): 253-262.
- [8] Razzaque A, Ellis B E. Rosmarinic acid production in *Coleus* cell cultures[J]. *Planta*, 1997, 137(3): 287-291.
- [9] 焦蒙丽,曹蓉蓉,陈红艳,等.水杨酸对丹参培养细胞中迷迭香酸生物合成及其相关酶的影响[J].*生物工程学报*, 2012, 28(3): 320-328.
- [10] Dong J A, Wan G W, Liang Z S. Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell cultures[J]. *Journal of Biotechnology*, 2010, 148(2-3): 99-104.
- [11] Zhu Z B, Liang Z S, Han R L. Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. plants[J]. *Environment Experimental Botany*, 2009, 66(2): 326-333.
- [12] Wang D H, Du F, Liu H Y, et al. Drought stress increases iridoid glycosides biosynthesis in the roots of *Scrophularia ningpoensis* seedlings[J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4(24): 2691-2699.
- [13] 金丽萍,崔世茂,杜金伟.干旱胁迫对不同生态条件下蒙古扁桃叶片PAL和C4H活性的影响[J].*华北农学*, 2009, 24(5): 118-122.
- [14] 田树革,魏玉龙,刘宏炳. Folin-Ciocalteu 比色法测定石榴不同部位总多酚的含量[J].*光谱实验室*, 2009, 26(2): 341-344.
- [15] 李倩.光质对生菜、丹参生长和次生代谢物的影响[D].陕西杨陵:西北农林科技大学,2010:69-70.
- [16] 孙群,胡景江.植物生理学研究技术[M].陕西杨陵:西北农林科技大学出版社,2006:178-179.
- [17] Hartmann T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism[J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(22-24): 2831-2846.
- [18] Oh M M, Trick H N, Rajashekar C B. Secondary me-

- tabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(2): 180-191.
- [19] Liu H, Wang X, Wang D, et al. Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge[J]. *Industrial Crops and Product*, 2011, 33(1): 84-88.
- [20] Yang D, Sheng D, Duan Q, et al. PEG and ABA trigger the burst of reactive oxygen species to increase tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2012, 31(4): 579-587.
- [21] Yang D, Ma P, Liang X, et al. (2012) PEG and ABA trigger methyl jasmonate accumulation to induce the MEP pathway and increase tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots[J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 146(2): 1399-3054.
- [22] Hernandez I, Alegre L, Munne-Bosch S, Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus clusii* grown under mediterranean field conditions[J]. *Tree Physiology*, 2004, 24(11): 1303-1311.
- [23] Beckman C H. Phenolic-storing cells; keys to Programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plant [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2000, 57(3): 101-110.

## Effect of Different Soil Moistures on Total Phenolic Acid Composition Accumulation and Relevant Enzymatic Activity of *Salvia Miltiorrhiza* Lamina

LIANG Zong-suo<sup>1,2</sup>, YANG Dong-feng<sup>1,2</sup>, YANG Zong-qi<sup>1</sup>, HAN Rui-lian<sup>1,2</sup>, LIU Xiao-lei<sup>2</sup>

(1. School of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;

2. School of Life Science, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** This paper studies total phenolic acid composition accumulation and change rules of relevant enzymatic activity of *salvia miltiorrhiza* lamina under the condition of different soil moistures (35%, 55% and 75% of field capacity) through pot experiment with *Salvia miltiorrhiza* Bunge as the material. The result shows that, in the later period of drought stress, the total phenolic acid composition accumulation of *salvia miltiorrhiza* lamina significantly increases. The total phenolic acid content is the highest when treated at 55%, followed by 35% and 75%. The total phenolic acid content treated at 55% is 1.50 times of that at 75%; that at 35% is 1.31 times of that at 75%. In the earlier stage of treatment, 55% soil moisture can promote the increase of PAL enzymatic activity, while 55% and 35% soil moisture in the later period of treatment can promote the increase of TAT enzymatic activity, but drought stress doesn't have significant influence on C4H enzymatic activity. The accumulation of total phenolic acid composition of *salvia miltiorrhiza* lamina is related to PAL and C4H enzyme and its obvious relation with TAT is not found. This provides theoretical reference for the development of *salvia miltiorrhiza* lamina resources and standard plantation and irrigation of *salvia miltiorrhiza* and provides guidance for the quality control of *salvia miltiorrhiza* medicinal material.

**Key words:** soil moisture; total phenolic acid; *salvia miltiorrhiza*; enzymatic activity

(责任编辑: 许惠儿)