

不同光照强度对黄芪主要次生代谢物含量的影响*

王宇 刘洋 刘佳 张衷华** 唐中华

东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室 哈尔滨 150040

摘要 评价光环境对黄芪根部多种活性成分积累的共同影响, 对提高黄芪培育和高值利用具有重要作用。采用不同光强处理膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge] 和蒙古黄芪 [*A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao] 幼苗, 运用超高效液相色谱系统 (Ultra-Performance LC, Waters, Japan) 分析光强变化对黄芪根部毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、黄芪甲苷、环黄芪醇 5 种活性成分含量的同时影响。结果显示光强减弱对黄芪主要活性成分综合影响增加, 黑暗条件有利于毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷的积累, 膜荚黄芪和蒙古黄芪毛蕊异黄酮苷含量在黑暗条件下比中度光强分别增加了 6.39 倍和 4.42 倍; 低光有利于环黄芪醇的积累, 低光条件下环黄芪醇在膜荚黄芪和蒙古黄芪根中分别比中光增加了 4.80 倍和 1.75 倍, 高光有利于芒柄花苷的积累, 高光比中光条件下膜荚黄芪和蒙古黄芪根中芒柄花苷分别增加了 1.32 倍和 1.49 倍。在黑暗及低光情况下, 膜荚黄芪中毛蕊异黄酮和黄芪甲苷比蒙古黄芪中含量高, 但芒柄花苷比蒙古黄芪中含量低。本研究表明不同光照强度适宜不同药用成分积累, 定向培育应根据目的成分选择适宜光照强度。(图 4 参 26)

关键词 次生代谢; 次生代谢产物; 黄芪; 幼苗; 光照条件

CLC Q945.79 : R284

Effect of light intensity on the contents of main secondary metabolites in *Astragalus**

WANG Yu, LIU Yang, LIU Jia, ZHANG Zhonghua** & TANG Zhonghua

Ministry of Education Key Laboratory of Plant Ecology, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract The effects of light intensity on the accumulation of main secondary metabolites in roots has important consequences for improving the cultivation and utilization of *Astragalus*. Seedlings of *A. membranaceus* (Fisch.) Bge (*Astragalus*-1) and *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao (*Astragalus*-2) were treated with different light intensities, and five secondary metabolites—isoflavone glycosides, isoflavones, ononin, astragaloside IV, and cycloastragenol—were detected by ultra-performance LC. The results showed that dark conditions were conducive for accumulation of isoflavone glycosides, isoflavones, and astragaloside IV. The contents of isoflavone glycosides in *Astragalus*-1 and *Astragalus*-2 increased by 6.39 times and 4.42 times, respectively, in the dark compared to those under moderate light intensity. Low light was beneficial for accumulation of cycloastragenol. The contents of cycloastragenol in *Astragalus*-1 and *Astragalus*-2 increased by 4.80 times and 1.75 times, respectively, under low light compared to those under moderate light intensity. High light was beneficial for accumulation of ononin. The contents of ononin in *Astragalus*-1 and *Astragalus*-2 increased by 1.32 times and 1.49 times, respectively, under high light compared to those under moderate light intensity. In the dark and low light conditions, the contents of isoflavones and astragaloside IV in *Astragalus*-1 were higher than those in *Astragalus*-2, but the content of ononin in *Astragalus*-1 was lower than that in *Astragalus*-2. The present study indicated that different light intensities were suitable for accumulation of different secondary metabolites and that proper light intensity should be chosen according to the target components in directional cultivation.

Keywords secondary metabolism; secondary metabolites; *Astragalus*; seedling; light condition

次生代谢产物被认为是植物长期进化过程中对生态环境适应的结果, 在植物抵御环境胁迫中起到至关重要的作用, 其含量往往受到环境条件变化的影响^[1]。近年来, 环境胁迫对次生代谢产物含量的影响已被学者重视。其中光照是植

物生长过程中最重要的环境调控因子, 已有大量文献说明植物次生代谢物含量受光强变化的影响^[2]。不同植物受光照胁迫其次生代谢产物含量变化情况不同。王瑞等研究表明, 在弱光胁迫下烟叶内烟碱含量增加^[3]。王洋在对喜树幼苗叶片中喜树碱含量受光照强度影响时发现, 叶片中喜树碱含量随遮荫程度的增加而增加, 当光强是全光照的 40% 时喜树碱含量显著增加, 但当严重遮荫时喜树碱含量降低^[4]。张治安等研究发现人参在遮荫 20% 情况下根中人参皂苷的含量最高^[5]。

收稿日期 Received: 2016-10-19 接受日期 Accepted: 2016-10-29

*国家自然科学基金项目 (31570520) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31570520)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: en_cn@126.com)

朱肖峰等研究光照对马蹄金叶总黄酮含量影响时发现适度遮阴(透光率为76.19%),有利于马蹄金生长并能提高马蹄金叶中总黄酮的含量^[6].

黄芪是我国传统中药材^[7],来源于豆科植物蒙古黄芪[*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao]或膜荚黄芪[*A. membranaceus* (Fisch.) Bge.] 的干燥根^[8],具有补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌等功效^[9],主要含黄芪皂苷类、黄酮类和多糖类生物活性物质。黄芪皂苷类组分基本苷元为羊毛脂烷型的四环三萜皂苷,各单体组分差异在于取代基不同,当前对其皂苷类单一组分的研究主要集中黄芪甲苷^[10],黄芪甲苷也是当前我国黄芪质量评价的主要参考物质。环黄芪醇主要以苷元的形式存在于黄芪中,是黄芪甲苷的苷元,二者存在一定的转化关系^[11]。目前针对黄芪次生代谢物的研究中,另一类比较广泛的研究是黄酮类化合物。黄芪中的黄酮类化合物也具有调节免疫、抗病毒、清除自由基等多方面的药理作用,其中含量较高的为异黄酮苷类(毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷)及其相应的苷元(毛蕊异黄酮、芒柄花素)^[12]。2010年中国药典新增了毛蕊异黄酮苷含量测定方法。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷和环黄芪醇是黄芪次生代谢物皂苷类和黄酮类中主要的生物活性物质^[13],对人类健康具有积极的作用。但到目前为止,研究光照对黄芪影响仅局限于不同光照强度或光质对黄芪植株中总黄酮和总皂苷类物质影响^[14],对黄芪主要活性成分毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、环黄芪醇的影响尚未见报道。

因此,本研究通过不同光强处理黄芪幼苗,观察根部主要药用次生代谢物含量变化,以期揭示不同光照强度对以上5种主要生物活性成分的影响,为精确调控次生代谢物积累的人工培植提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蒙古黄芪及膜荚黄芪种子均购于河北省安国市元泰药用植物种子站。毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、环黄芪醇和黄芪甲苷(纯度均≥98%)等标准品均购于上海纯正生物科技有限公司。乙醇、色谱级甲醇、乙腈购于北京百灵威化学有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 材料种植与处理 于2015年12月31日在东北林业大学温室内进行种植,2016年1月14日选取植株健康、长势相近的膜荚黄芪和蒙古黄芪幼苗为实验材料^[15-16],将其转入4个光照强度不同的培养架上(黑暗、低、中和高光照),辐射强度通过Li6400XT光合仪(Licor, USA)测定,平均光照强度分别为0、100、500和700 μmol m⁻² s⁻¹(由于本批次黄芪幼苗生长在500 μmol m⁻² s⁻¹的光照强度下,按照光强提高20%为其可耐受光强范围应为600 μmol m⁻² s⁻¹,但考虑到农田生长的膜荚黄芪和蒙古黄芪幼苗实际生长环境光强可达1 500 μmol m⁻² s⁻¹和其半饱和光强700 μmol m⁻² s⁻¹的基因特性可确定黄芪幼苗仍存在较大的光诱导空间,且本批次黄芪幼苗的较大的光强适应空间和处理的时间为7 d,700 μmol m⁻² s⁻¹应为其处理

时间内较高光照强度的耐受范围,因此设置700 μmol m⁻² s⁻¹为本批次实验的光强上限。本批次黄芪幼苗光补偿点约为60 μmol m⁻² s⁻¹,确定100 μmol m⁻² s⁻¹适合反映其弱光生长胁迫)。处理光周期12 h,光照温度28 ℃,黑暗温度24 ℃,处理7 d后,各取3株黄芪幼苗,用于测定。

1.2.2 供试样品溶液的制备 取膜荚黄芪和蒙古黄芪根部各1 g分别加入80%乙醇20 mL超声提取(100 kHz, 40 ℃)45 min,过滤后将残渣再加入20 mL溶剂超声提取45 min,过滤后合并两次滤液,通过真空旋转蒸发仪浓缩至干。用1 mL色谱级甲醇复溶,以14 000 r/min离心10 min,取上清液保存于-20 ℃冰箱中备用,该制备方法在前期实验中已经被证实具有良好溶出效果,通过高效液相质谱已证实可以溶出5种成分^[17]。测定前用0.45 μm的微孔滤膜过滤。

1.2.3 色谱条件 采用超高效液相色谱系统(Ultra-Performance LC, Waters, Japan),进样量为10 μL,流动相为水和乙腈,流速保持在0.25 mL/min。梯度洗脱程序为:最初0-1 min 8%乙腈,1-1.5 min 8%-34%乙腈,1.5-4 min 34%乙腈,4-6 min 34%-60%乙腈,6-7 min 60%乙腈,7-7.5 min 60%-8%乙腈,7.5-9 min 8%乙腈。

1.2.4 质谱条件 采用电喷雾离子源(Electrospray ionization, ESI),正离子扫描、多离子反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM)扫描方式。优化后最终的质谱条件:电喷雾离子源喷雾电压为5 500 V,离子源雾化温度为500 ℃,雾化气压为25 psi,气帘气压为20 psi。毛蕊异黄酮苷:m/z 446.9→284.2,去簇电压104 V,碰撞电压24 V,碰撞室射出电压8 V;毛蕊异黄酮:m/z 285.0→269.9,去簇电压117 V,碰撞电压33 V,碰撞室射出电压17 V,去簇电压80 V,碰撞电压50 V,碰撞室射出电压17 V;野黄芩苷(IS):m/z 463.0→287.0,去簇电压100 V,碰撞电压29 V,碰撞室射出电压8 V。

1.3 数据处理与分析

实验设置3个平行,数据测定均重复3次,利用SPSS 13.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)软件进行主成分分析,计算主成分的综合得分Q值,用Q值反映4种光处理对黄芪主要5种活性成分的综合影响。不同光处理影响的差异采用SPSS单因素方差分析,并进行t检验,当P < 0.05时认为具有统计学意义。

Q值的计算公式如下:

$$F_1 = \alpha_{11} X_1 + \alpha_{12} X_2 + \alpha_{13} X_3$$

$$F_2 = \alpha_{21} X_1 + \alpha_{22} X_2 + \alpha_{23} X_3$$

$$F_p = \alpha_{p1} X_1 + \alpha_{p2} X_2 + \alpha_{p3} X_3$$

$$Q = (\lambda_1 F_1 + \lambda_2 F_2 + \dots + \lambda_p F_p) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_p)$$

其中, F_p ($p = 1, 2, \dots, 3$)为主成分得分; $\alpha_{p1}, \alpha_{p2}, \dots, \alpha_{p3}$ 为主成分表达矩阵系数(Component score coefficient),其被计算为主成分加载向量(在分量矩阵中)除以对应特征值的平方根(在所解释的总方差中)。 X 是通过标准化的原始变量的值。 λ 是初始特征值方差的比例。

2 结果

2.1 不同光照强度对黄芪5种活性成分的综合影响

通过SPSS软件进行主成分分析,用主成分综合得分(Q

值)说明不同光条件膜荚黄芪和蒙古黄芪根5种主要药用次生代谢物含量变化(图1)。相对于中光条件下的代谢水平,黑暗环境对两种黄芪根部5种常用药用次生代谢物含量影响最大,其次是低光,高光对5种代谢物整体影响最小。

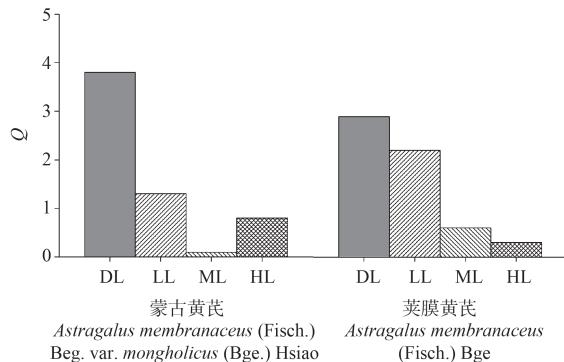


图1 不同光照强度对两种黄芪次生代谢物的影响. DL: 黑暗; LL: 低光; ML: 中光; HL: 高光. Q值: 主成分综合得分.

Fig. 1 The effects of light intensity on secondary metabolites in the 2 species of *Astragalus*. DL: Dark; LL: Low light; ML: Moderate light; HL: High light. Q value: Principal component comprehensive score.

2.2 不同光照强度对3种黄酮类活性成分含量的影响

由图2可知,膜荚黄芪和蒙古黄芪根中毛蕊异黄酮苷含量随光照强度增加呈下降趋势,其中黑暗环境下黄芪毛蕊异黄酮苷显著高于低光、中光和高光环境($P < 0.05$)。在黑暗条

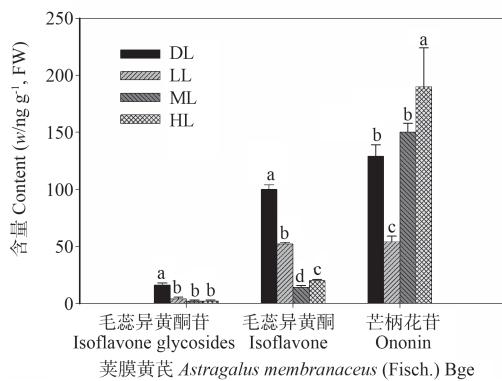


图2 光强对黄芪3种黄酮类活性成分含量的影响. DL: 黑暗; LL: 低光; ML: 中光; HL: 高光. 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$).

Fig. 2 The effects of light intensity on the 3 kinds of flavonoids. DL: Dark; LL: Low light; ML: Moderate light; HL: High light. Different lowercase letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level.

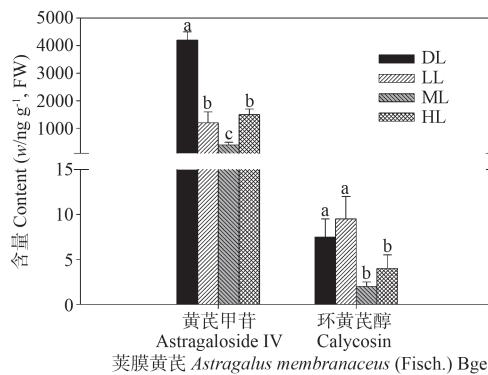


图3 光强对黄芪2种皂苷类活性成分含量的影响. DL: 黑暗; LL: 低光; ML: 中光; HL: 高光. 不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$).

Fig. 3 The effects of light intensity on the 2 kinds of saponins. DL: Dark; LL: Low light; ML: Moderate light; HL: High light. Different lowercase letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level.

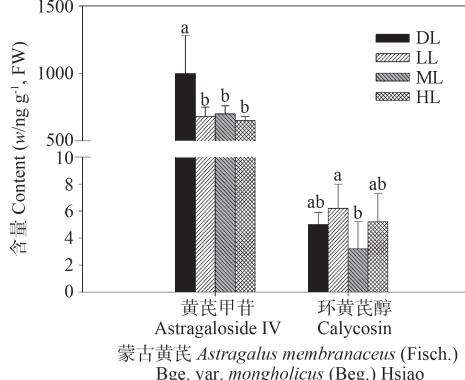
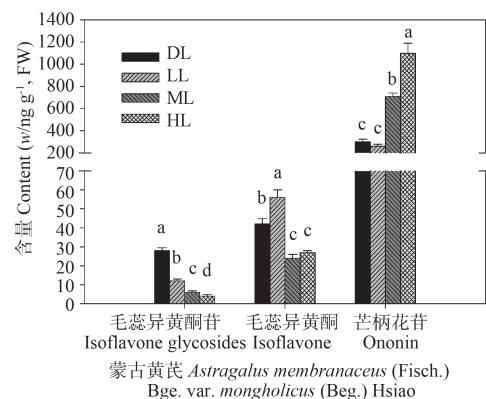
件下膜荚黄芪根中毛蕊异黄酮苷是中光条件的6.39倍,蒙古黄芪根部毛蕊异黄酮苷的含量是中光条件的4.42倍。

低光处理下膜荚黄芪根中毛蕊异黄酮比黑暗环境含量低,当达到中光时含量最少,高光含量有所增加,4种光照对膜荚黄芪根中毛蕊异黄酮含量的影响存在显著差异($P < 0.05$)。黑暗和低光条件下蒙古黄芪毛蕊异黄酮含量存在显著差异($P < 0.05$),随光照强度增加含量减少,但中光和高光环境含量差异不显著($P > 0.05$),说明中度光强已经不利于蒙古黄芪根部毛蕊异黄酮的积累,超过中度光强毛蕊异黄酮含量变化不大。

芒柄花苷含量随光照强度的增加呈上升趋势。高光条件下膜荚黄芪芒柄花苷含量显著高于中光、低光和黑暗处理,高光环境芒柄花苷含量是中光环境的1.31倍。蒙古黄芪根部芒柄花苷含量在高光环境最高,其次为中光环境,二者存在显著差异($P < 0.05$)。在黑暗和低光条件下含量较低,二者不存在显著差异,黑暗和低光抑制蒙古黄芪芒柄花苷的积累。

2.3 不同光照强度对黄芪甲苷和环黄芪醇含量的影响

由图3可知,在黑暗环境下膜荚黄芪与蒙古黄芪黄芪甲苷含量均最高,均与低光、中光和高光环境存在显著差异($P < 0.05$),中光和黑暗环境下膜荚黄芪黄芪甲苷含量次之,二者不存在显著差异,均显著高于中光环境。蒙古黄芪黄芪甲苷在低光、中光和高光环境下不存在显著差异。



膜荚黄芪与蒙古黄芪环黄芪醇含量的变化存在相同的趋势,二者都在低光环境下含量最高,在中光环境下含量最低。其中,膜荚黄芪环黄芪醇含量低光和黑暗环境下显著高于中光和高光环境,而蒙古黄芪环黄芪醇含量在低光、黑暗和高光环境差异不显著,三者显著高于中光环境。

3 讨论

3.1 光照对膜荚黄芪和蒙古黄芪影响的差异

大量文献报道了膜荚黄芪与蒙古黄芪在产地、种类、生长年限、采收时期之间存在的差异,并发现蒙古黄芪与膜荚黄芪有很大不同^[18]。杜昊等利用高效液相色谱法测定蒙古黄芪和膜荚黄芪中黄芪甲苷含量时发现蒙古黄芪中黄芪甲苷含量低于膜荚黄芪^[19]。刘凤波在黄芪药材质量的差异及影响因素研究中对不同基原黄芪药材中黄芪甲苷含量进行比较,得出膜荚黄芪含量大于蒙古黄芪,而总皂苷含量蒙古黄芪大于膜荚黄芪,毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷含量蒙古黄芪大于膜荚黄芪^[20]。这与本研究结果类似,本研究中4种光照强度下膜荚黄芪根中黄芪甲苷含量明显高于蒙古黄芪根中黄芪甲

苷含量,而毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷蒙古黄芪含量大于膜荚黄芪含量。不同光照处理主要影响根中黄芪甲苷和芒柄花苷的含量,蒙古黄芪与膜荚黄芪中黄芪甲苷在黑暗情况下分别比中光情况下增加了1.41倍和11.34倍。宋宁就膜荚黄芪和蒙古黄芪光能利用及其耐光性进行了研究,发现膜荚黄芪和蒙古黄芪的幼苗均能适应初夏强光照条件,但蒙古黄芪在强光下的PSII反应中心活性、光能利用率、电子传递速率以及耐光性等方面的能力均高于膜荚黄芪^[16]。膜荚黄芪与蒙古黄芪对光适应情况不同,本研究通过双因素方差分析,分别检验膜荚黄芪与蒙古黄芪种间差异与光照作用对5种主要药用次生代谢产物的影响是否显著,结果表明,毛蕊异黄酮和环黄芪醇两种代谢产物种间差异显著($P < 0.05$),毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷和黄芪甲苷种间差异不显著($P > 0.05$),说明毛蕊异黄酮和环黄芪醇在膜荚黄芪与蒙古黄芪中无明显差别。就处理类别而言,5种代谢产物均呈现显著性差异($P > 0.05$),说明不同光照强度对5种药用次生代谢产物产生了显著影响。

3.2 不同光照条件下黄芪皂苷类和黄酮类相互作用

图4描述了5种代谢物在两种代谢途径中的关系,在三萜

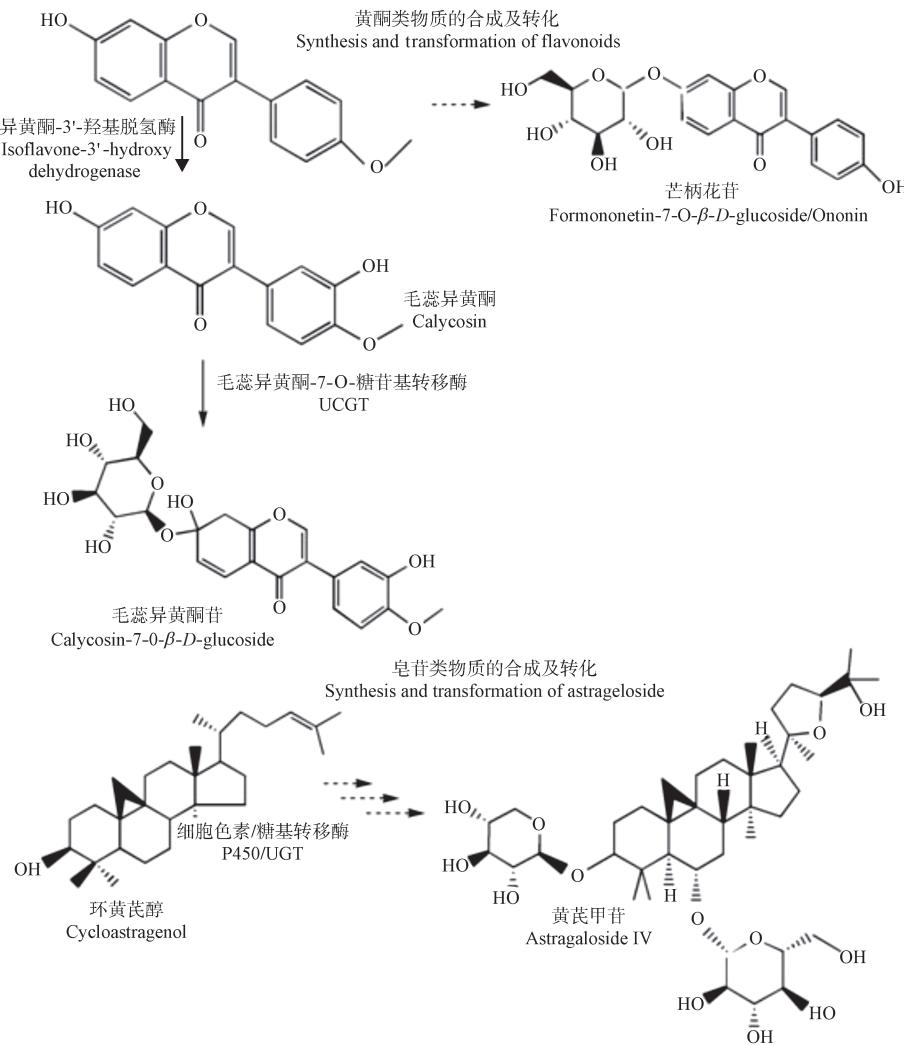


图4 目标物质的合成及转化。

Fig. 4 Synthesis and transformation of target compounds.

皂苷途径中, 环黄芪醇是黄芪甲苷的合成前体化合物^[21], 蒙古黄芪在黑暗低光和高光情况下, 环黄芪醇的含量增加而黄芪甲苷的合成含量积累减少, 这可能是由环黄芪醇糖基化形成黄芪甲苷的过程受到抑制, 导致黄芪甲苷的含量减少^[22]。在黄酮途径中, 毛蕊异黄酮是毛蕊异黄酮苷的合成前体, 芒柄花素是芒柄花苷和毛蕊异黄酮的共同合成前体, 在蒙古黄芪和膜荚黄芪中, 毛蕊异黄酮积累量随光照强度增加而减少, 而芒柄花苷呈现同毛蕊异黄酮相反的趋势, 导致这一现象可能是由于光照强度的增加促进了芒柄花素向芒柄花苷的转化, 而降低了向毛蕊异黄酮的转化, 从而导致毛蕊异黄酮糖基化转化成毛蕊异黄酮苷的含量降低。毛蕊异黄酮苷含量变化表现为黑暗>中光>高光>低光; 毛蕊异黄酮随光照强度增加含量降低, 表现为黑暗>低光>中光>高光。光照较低情况下有利于黄酮的积累, 王华田等对成年大树树冠不同部位及郁闭采叶专用银杏园不同叶幕层叶片黄酮含量测定表明, 处于树冠外围和林冠上层、光照充足的叶片, 黄酮含量明显高于树冠内膛或下层光照不足的叶片, 说明充足的光照适合黄酮类物质的积累^[23]。吴爰爰等在对野生蔬菜马齿苋进行遮光处理后发现对于蛋白质含量的影响不明显, 但对总黄酮含量的作用显著, 表现为光照条件越弱, 总黄酮的含量就越高^[24]。本文结果低光照强度下环黄芪醇的积累最多, 这与曹建军等对黄芪进行遮阴处理的研究结果^[25]一致。人在人工栽培时需遮荫, 在20%透光棚下根中人参皂苷的量最高, 低光照促进了人参皂苷含量的积累, 光强过大时人参皂苷的量反而下降, 可能与光强过大造成叶片损伤有关^[5], 国外也有关报道指出, 人参低光照(15%透光棚)处理下叶片中皂苷的含量最高^[26], 与本研究低光照比高光照更适宜两种皂苷类物质积累结论相似。

4 结论

本研究发现不同光照条件对膜荚黄芪与蒙古黄芪中5种主要药用次生代谢物含量变化整体影响较大(SPPS软件差异性分析4种光照对蒙古黄芪和膜荚黄芪幼苗根中主要药用次生代谢物含量差异显著, $P < 0.05$), 影响最大为黑暗, 其次为低光, 说明5种主要药用次生代谢物在黑暗情况下积累量最多。黑暗条件下有利于毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮和黄芪甲苷的积累, 低光有利于环黄芪醇的积累, 高光有利于芒柄花苷的积累。通过调节不同光强对黄芪幼苗根部某一种或几种药用次生代谢物含量进行有针对性的调控, 可为建立更高效且节约资源的人工培植黄芪模式提供理论依据。由于实验在温室中进行, 温室环境与室外环境存在着一定差异, 有一定的局限性, 进一步研究将探索室外不同光照强度下黄芪主要次生代谢物含量变化情况, 为大田实施针对性调节次生代谢物含量提供理论依据。

参考文献 [References]

- 苏文华, 张光飞, 李秀华, 欧晓昆. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系[J]. 中草药, 2005, 36 (9): 1415-1418 [Su WH, Zhang GF, Li XH, Ou XK. Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2005, 36 (9): 1415-1418]
- Gehring CA. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species [J]. Plant Ecol, 2003, 167 (1): 127-139
- 王瑞, 刘国顺, 陈国华, 向德恩, 吴云平. 光强对苗期烤烟光合作用及干物质生产的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21 (8): 2072-2077 [Wang R, Liu GS, Chen GH, Xing DE, Wu YP. Effects of light intensity on photosynthesis and dry matter production of flue-cured tobacco at its seedling stage [J]. Chin J Appl Ecol, 2010, 21 (8): 2072-2077]
- 王洋, 戴绍军, 阎秀峰. 光强对喜树幼苗叶片次生代谢产物喜树碱的影响[J]. 生态学报, 2004, 24 (6): 1118-1122 [Wang Y, Dai SJ, Yan XJ. Effects of light intensity on secondary metabolite camptothecin production in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings [J]. Acta Ecol Sin, 2004, 24 (6): 1118-1122]
- 张治安, 徐克章. 光照条件对参株碳水化合物和人参皂苷含量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 1994, 16 (3): 15-17 [Zhang ZA, Xu KZ. Effect of light intensity on content of soluble sugar, starch and ginseng saponin in ginseng plant [J]. J Jilin Agric Univ, 1994, 16 (3): 15-17]
- 朱肖峰, 周守标, 杨集辉, 郑和权, 刘寿峰. 不同光照强度对马蹄金叶的特征及总黄酮含量的影响[J]. 激光生物学报, 2009, 18 (1): 62-66 [Zhu XF, Zhou SB, Yang JH, Zheng HQ, Liu SF. Effects on leaf characteristics and total flavone content of *Dichondra repens* under different light intensity [J]. Acta Laser Biol Sin, 2009, 18 (1): 62-66]
- 张星华. 黄芪应用的历史沿革[J]. 江西中医药, 2008, 39 (2): 43 [Zhang XH. The historical evolution of *Astragalus* application [J]. Jiangxi J Trad Chin Med, 2008, 39 (2): 43]
- 王萍娟. 吉林省不同种植地不同类型膜荚黄芪生物学特性和药材质量的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2006 [Wang PJ. Research of the biological characteristics and quality of *Astagalus membranceus* and different types from different planting areas in Jilin Province [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2006]
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典临床用药须知: 2005年版. 中药卷[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005 [National Pharmacopoeia Commission. Notes on Clinical Medication in People's Republic of China Pharmacopoeia: 2005 Edition. Chinese Medicine Volume [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005]
- 万春平. 黄芪皂苷类组分生物活性研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2011, 32 (8): 79-81 [Wan CP. Recent advances in biological activities of saponins in *Astragalus* [J]. Yunnan J Trad Chin Med Mat Med, 2011, 32 (8): 79-81]
- 曹艳玲, 吴亚丽, 李赓. 重症急性胰腺炎患者远期生存质量及相关因素分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34 (3): 270-273 [Cao YL, Wu YL, Li G. Analyze the long term quality of life and related factors in patients with severe acute pancreatitis [J]. J Ningxia Med Univ, 2012, 34 (3): 270-273]
- 蔡海霞, 陈君, 李萍. 一测多评法测定黄芪中4种异黄酮的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (20): 2712-2717 [Cai HX, Chen J, Li P. Simultaneous assay of four isoflavonoids in *Astragalus radix* by QAMS [J]. China J Chin Mat Med, 2010, 35 (20): 2712-2717]
- Shao BM, Xu W, Dai H. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese

- medicinal herb [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **320** (4): 1103-1111
- 14 李树娜. 栽植密度与播种时期对蒙古黄芪生长发育及次生代谢产物积累的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015 [Li SN. Effects of planting density and sowing-date on growth and secondary metabolites accumulation of *Astragalus mongolicus* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015]
- 15 李锡龙. 光和氮素对长春花形态及次生代谢产物的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010 [Li XL. The effect of light and nitrogenon biomass and secondary metabolites of *Catharanthus roseus* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2010]
- 16 宋宁, 郭平毅, 原向阳. 膜荚黄芪与蒙古黄芪幼苗的光能利用及其耐光性研究[J]. 西北植物学报, 2011, **31** (11): 2283-2289 [Song N, Guo PY, Yuan XY. Light use heat dissipation and light patience of *Astragalus membranaceus* var. *membranaceus* and *A. membranaceus* var. *mongolicus* seedlings [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin*, 2011, **31** (11): 2283-2289]
- 17 Yang L, Jia L, Yu Wang, Abozeid A, Tang ZH. Simultaneous determination of six active metabolites in *Astragalus mongolicus* (Fisch.) Bge. under salt stress by ultra-pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Springerplus*, 2016, **5** (1): 1-11
- 18 王尔彤, 刘政. 两种黄芪主根内部构造和有效成分含量变化规律的研究[J]. 植物研究, 1995, **15** (1): 92-96 [Wang ET, Liu M. The study on variations of internal structure and the active constituent of two *Radix astragali* [J]. *J Plant Res*, 1995, **15** (1): 92-96]
- 19 杜旻, 吴晓俊, 刘涤, 胡之璧. 黄芪化学质量标准的初步研究[J]. 中成药, 2001, **23** (10): 745-748 [Du H, Wu XJ, Liu D, Hu ZB. Study on chemical quality standard of *Radix astragali* [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2001, **23** (10): 745-748]
- 20 刘凤波. 黄芪药材质量的差异及影响因素研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013 [Liu FB. Studies on the quality difference and influencing factors of *Astragalus radix* [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2013]
- 21 Mustafa NR, Verpoorte R. phenolic compounds in *catharanthus roseus* [J]. *Phytochem Rev*, 2007, **6** (2): 243-258
- 22 Kim YB, Thwe AA, Li X, PA Tuan. Accumulation of flavonoids and related gene expressions in different organs of *Astragalus membranaceus* Bge [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, **173** (8): 2076-2085
- 23 王华田, 孙明高, 程鹏飞. 影响银杏叶黄酮含量的相关因素[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 1997, **28** (3): 342-346 [Wang HT, Sun GM. Studies on the effects of flavonoids content in *Ginkgo biloba* leaves [J]. *J Shandong Agric Univ Nat Sci Ed*, 1997, **28** (3): 342-346]
- 24 吴爱爱, 刘迎辉, 李震, 邓洪平. 马齿苋在不同光照强度下生物量及营养成分的动态变化研究[J]. 食品工业科技, 2008, **29** (6): 102-103 [Wu YY, Liu YH, Li Z, Deng HP. Dynamic variety study on the biomass and nutrients of *Poaulaca oleracea* L. in different illumination intensities [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2008, **29** (6): 102-103]
- 25 曹建军. 中药黄芪种质资源及环境因素对品质的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006 [Cao JJ. Studies on indoplasm resource of Chinese traditional medicine astragalus and effects of environmental factors on quality [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006]
- 26 匡双便, 徐祥赠, 孟珍贵, 张广辉, 杨生超. 不同透光率对三七生长及根皂苷含量的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21** (2): 279-286 [Kuang SB, Xu XZ, Meng ZG, Zhang GH, Yang SC. Effects of different light transmittance on plant growth and root ginsenoside content of *Panax notoginseng* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (2): 279-286]