

镉胁迫对丹参生长及有效成分积累的影响研究

张鑫¹, 李昆伟², 陈康健¹, 梁健¹, 崔浪军^{1*}

(1. 药用植物资源与天然药物化学教育部重点实验室/陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062;

2. 勉县第一中学, 陕西勉县 724200)

摘要:采用盆栽试验方法, 研究了镉(Cd^{2+})对丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)的生长及其有效成分积累的影响。结果表明, 镉胁迫下丹参的生长受到了显著抑制, 体内 Cd^{2+} 残留量、可溶性蛋白含量和膜脂过氧化程度显著增加, 叶绿素含量降低。与对照相比, 镉胁迫下丹参叶片水溶性酚酸类化合物咖啡酸和迷迭香酸的含量显著降低($p < 0.05$), 原儿茶酸含量增加, 丹参素、原儿茶醛和丹酚酸B的含量也降低, 但变化均不显著($p > 0.05$)。而根系中这6种酚酸类化合物含量均降低, 其中迷迭香酸的含量变化极显著($p < 0.01$)。镉胁迫下丹参根系脂溶性丹参酮类化合物二氢丹参酮、丹参酮I和隐丹参酮含量均显著降低, 而丹参酮IIA含量变化不显著。丹参叶片中水溶性酚酸类化合物合成关键酶苯丙氨酸解氨酶(PAL)和酪氨酸氨基转移酶(TAT)的活性显著降低, 而肉桂酸4-羟化酶(C4H)和4-香豆酸CoA连接酶(4CL)的活性显著升高。这些结果均说明镉胁迫可以降低丹参的产量和质量。

关键词:镉胁迫; 丹参; 生长状况; 有效成分

中图分类号: S567; Q949.777.6

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2013)06-0583-07

Effects of Cadmium Stress on Seedlings Growth and Active Ingredients in *Salvia miltiorrhiza*

ZHANG Xin¹, LI Kun-Wei², CHEN Kang-Jian¹, LIANG Jian¹, CUI Lang-Jun^{1*}

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry, College of Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062 China;

2. No. 1 Middle School in Mianxian, Mianxian, Shaanxi 724200, China)

Abstract: Effects of cadmium stress on seedlings growth and active ingredients in *Salvia miltiorrhiza* were investigated. Results showed that cadmium stress inhibited seedlings growth and increased Cd^{2+} accumulation in both soil and seedlings. Moreover, both soluble protein content and membrane lipid peroxidation degree increased, while photosynthetic pigments content decreased under stress conditions. Compared with the control, in stressed *S. miltiorrhiza* leaves, the accumulation of six phenolic acid compounds showed different variant characteristics. Both caffeic acid and rosmarinic acid accumulation decreased significantly ($p < 0.05$), while the content of protocatechuic acid increased ($p > 0.05$), and the levels of tanshinol, protocatechuic aldehyde and salvianolic acid B decreased ($p > 0.05$). However, the accumulations of the phenolic acids components and four tanshinone ingredients all decreased in stressed roots, and the variances of rosmarinic acid, dihydrotanshinone, tanshinone I and cryptotanshinone were significant ($p < 0.05$). Moreover, in the leaves of the stressed plant, the activities of PAL and TAT decreased significantly, but C4H and 4CL content increased significantly. These results showed that cadmium stress could reduce the

收稿日期: 2013-03-19, 修回日期: 2013-05-22。

基金项目: 科技部科技惠民计划项目(2012GS610102); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(200807181002); 陕西师范大学优秀科技预研项目(200902003); 上海辰山植物园科研专项课题(G102404)。

作者简介: 张鑫(1991-), 男, 硕士研究生, 主要从事药用植物生理方面的研究。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: ljcui@snnu.edu.cn)。

production and quality of *S. miltiorrhiza*.

Key words: Cadmium stress; *Salvia miltiorrhiza* Bunge; Growth condition; Active ingredients

随着我国工业现代化进程的加快及有色金属的大量开采，重金属污染程度日益严重。其中镉是环境中继汞和铅之后对环境、动植物和人类危害最大的第三种重金属元素^[1]。镉主要来源于化工冶炼产生的“三废”和大量使用的农药化肥，具有移动性强、毒性大，易吸收积累等特征。高浓度的镉不仅对植物产生明显的毒害作用，而且极易通过食物链进入人体，破坏人体正常的新陈代谢^[2]。镉污染已经引起了全世界范围内的高度关注。

研究表明，镉污染能引起大多数粮食作物、蔬菜、水果、花卉、林木等植物的生理代谢紊乱，抑制其正常生长发育，从而降低产量与质量。中药材是我国传统医学和文化的瑰宝，是我国医药产业的重要组成部分。而当前随着土壤环境中镉、铜等重金属污染加重，重金属已成为中药材的重要污染物。已有的研究表明，镉、铜、锌等重金属能抑制黄芪、丹参、甘草、西洋参和金银花等多种中药材的生长，加重植物体内重金属残留，进而影响到中成药制剂的品质^[3]。重金属残留已成为我国中药现代化、国际化的重要限制因子之一，也是中药材GAP实施过程中必须解决的关键问题之一^[4]。

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)又名赤参、紫丹参、红参等，为唇形科鼠尾草属多年生草本植物，以干燥的根茎入药，为我国历版《药典》收录的传统名贵大宗中药材，广泛种植于我国华北、华东、中南、西北、西南部分省区，是我国年销售量最大的几种中药材之一^[5]。丹参主要有效成分包括两大类，即水溶性酚酸类化合物和脂溶性丹参酮类化合物。现代药理学研究表明，丹参具有预防心脏缺氧、改善机体微循环、减少血栓形成以及抗菌消炎等作用^[6,7]，现已广泛应用于冠心病、心绞痛以及由病毒引起的乙肝和艾滋病的治疗中^[8]。随着近年来丹参需求量剧增，丹参在我国的主产区种植面积逐年扩大。但是，环境中的镉对丹参的生长及品质的影响尚不清楚。为此，本研究结合丹参主产区的土壤镉浓度，通过盆栽试验，研究了镉胁迫下丹参的生长状况、镉残留状况及其有效成分含量的变化，旨在为镉对丹参的生理生化影响机理和规

范化种植提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A HT 高效液相色谱仪，Milli-QG 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司)，紫外分光光度计(THERMOE)，原子吸收分光光度计(北京普析通用，TAS-990)，分析天平。甲醇为色谱纯(Fisher)，水为超纯水，镉试剂 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 为分析纯。对照品丹参素、原儿茶醛、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A 均购自中国药品生物制品检定所(批号分别为 110855-200506、110810-200506、852-9908、0867-200205、110766-200417)，对照品咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸购自 Sigma-ALDRICH(批号分别为 CO625-2G、A5502-5G、536954-5G)。

1.2 实验设计

实验用丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)种子由陕西天士力植物药业有限公司商州药源基地提供。选取形态饱满、健康无病害的丹参种子，消毒后播种于盛有培养基质(蛭石：营养土 = 1 : 1)的周转箱中萌发，每隔两天浇一次水，在温室中培养两个月后选择长势良好且均匀的植株用于镉胁迫处理。将 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配成水溶液，与过筛土反复混匀，配制成镉浓度为 50 mg/kg 的基质后装入花盆，每盆中培养基质质量约 2 kg。然后将丹参实生苗移栽入花盆，每盆 1 株。对照组的培养基质中不加 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 。每处理重复 6 次，每周浇一次无镉 Hongland 溶液($\text{pH} = 7.8 \pm 0.2$)。生长 30 d 后，采集样品，测定丹参的生物量、 Cd^{2+} 残留、可溶性蛋白、丙二醛(MDA)和叶绿素含量、4 种关键酶以及有效成分含量的变化。

1.3 测定指标

1.3.1 生物量的测定

随机选取 3 株丹参，测量样品株高后收获全株。将植株分为叶片和根系两部分，清洗干净，40℃ 烘至恒重。用分析天平分别称量各部分干重，计算根冠比。

1.3.2 Cd²⁺残留的测定

待土壤风干并将植株烘至恒重, 经盐酸和硝酸加热消煮后用原子吸收分光光度计测定镉的含量, 特征波长为 228.8 nm^[9]。

1.3.3 可溶性蛋白含量的测定

采集全株, 用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[10] 测定植物的可溶性蛋白含量。

1.3.4 MDA 含量和叶绿素含量的测定

采集新鲜叶片, 分别用硫代巴比妥(TBA)法^[11] 和分光光度法^[12] 测定植物的 MDA 和叶绿素含量。

1.3.5 酚酸类化合物合成关键酶活性的测定

取新鲜叶片, 用蒸馏水冲洗干净, 用滤纸吸干水分, 经液氮充分研磨后分别参照宛国伟等^[13]、Dong 等^[14]、Koopmann^[15]、毕咏梅等^[16] 的方法测定苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、酪氨酸氨基转移酶(Tyrosine aminotransferase, TAT)、肉桂酸 4-羟化酶(Cinnamate 4-hydroxylase, C4H)、4-香豆酸 CoA 连接酶(4-Coumarate: coenzyme A ligase, 4CL)活性。

1.3.6 有效成分含量的测定

将叶片和根系 35℃ 烘至恒重, 研磨充分后过 100 目筛。精密称取各样品叶片和根系粉末 200 mg, 置 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mg/mL BHT(70% 甲醇配制) 500 μL, 摆匀, 超声提取 20 min, 8000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 重复 3 次。3 次的上清液混合后摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

色谱条件: 大连依利特 Hypersil BDS C18 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-4%乙酸水溶液, 梯度洗脱(表 1)。检测波长为 280 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温 30℃, 进样体积 15 μL。

对照品溶液的配制: 精密称取经减压干燥 24 h

后的丹参素、咖啡酸、原儿茶醛、丹酚酸、迷迭香酸、二氢丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A 对照品适量, 分别置于棕色量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摆匀, 配得各自浓度分别为 1.98、1.01、1.99、1.97、2.02、0.98、0.99、0.50、0.99 mg/mL 的单一对照品储备液, 其它不同浓度的对照品溶液由储备液稀释得到。

表 1 梯度洗脱时间程序表

Table 1 Time schedule of gradient elution

时间(min) Time	甲醇(%) Methanol	4%乙酸水溶液(%) 4% acetic acid solution
0.01	2	98
5	10	90
10	15	85
15	20	80
25	25	75
30	40	60
40	50	50
50	55	45
60	65	35
65	85	15
70	100	0
90	100	0

线性关系考察、精密度、重复性和加样回收率试验参照王川等^[17] 的方法。

1.4 数据处理

实验数据用 SPSS 软件 One-Way ANOVA 进行统计学分析, 对照组与胁迫组之间的差异性用 t-test 进行比较。实验结果作图通过 Excel 来实现。

2 结果

2.1 镉胁迫对丹参生长的影响

从表 2 中可以看出, 与对照组相比, 镉胁迫显著地抑制了丹参的生长, 其中株高降低了 19.7%, 而叶片和根系的干物质分别降低了 44.4% 和 39.9%。根冠比略有增加(7.9%), 但差异不显著。

表 2 镉胁迫对丹参生长的影响

Table 2 Effect of cadmium stress on the growth of *Salvia miltiorrhiza*

处理 Treatment	株高(cm) Height	叶片(g) Leaves	根系(g) Roots	根冠比 Root/Shoot ratio
对照 Control	9.12 ± 0.96	0.54 ± 0.01	1.58 ± 0.02	2.93 ± 0.09
镉胁迫 Cadmium stress	7.32 ± 0.19*	0.30 ± 0.03**	0.95 ± 0.16**	3.18 ± 0.34

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 下同。

Notes: * presents $p < 0.05$, ** presents $p < 0.01$, same below.

由此说明镉胁迫下丹参的叶片和根系生长均受到了显著抑制。

2.2 镉胁迫下 Cd²⁺在培养基质和丹参体内的积累情况

与对照相比, 镉胁迫下培养基质与丹参体内的 Cd²⁺含量均极显著增加(见表3)。其中 Cd²⁺含量在培养基质中增加了5.65倍, 在根系和叶片中分别增加了66.9倍和257.5倍, 而对照组丹参根系和叶片中只能检测到微量的镉。

表3 镉在培养基质及丹参中的含量变化

Table 3 Cd content in culture medium and *S. miltiorrhiza* plants (mg/kg)

处理 Treatment	培养基质 Culture medium	根系 Roots	叶片 Leaf
对照 Control	5.37 ± 0.97	0.13 ± 0.01	0.03 ± 0.00
镉胁迫 Cadmium stress	35.74 ± 2.58 **	8.83 ± 0.98 **	7.76 ± 0.37 **

2.3 镉胁迫下丹参可溶性蛋白、MDA 和叶绿素含量的变化

可溶性蛋白、MDA 和叶绿素含量的变化是衡量植物受氧胁迫及光合作用强弱的重要指标^[18]。与对照相比, 镉胁迫下丹参体内的可溶性蛋白、

MDA 含量均显著增加, 而叶绿素a(ca)和叶绿素b(cb)含量均显著降低, ca/cb略有增加, 但变化不显著(表4)。

2.4 镉胁迫下丹参中 TAT、PAL、C4H、4CL 酶活性的影响

丹参水溶性酚酸类化合物中除丹参素和咖啡酸等几种单苯环物质可由氨基酸直接氧化脱氨生成外, 其余均是通过苯丙烷代谢途径和酪氨酸代谢途径合成的。其中, PAL、C4H 和 4CL 是苯丙烷代谢途径的关键酶, TAT 是酪氨酸代谢途径的关键酶^[19]。与对照组相比, 镉胁迫下丹参的4种酶活性变化均极显著, 其中TAT和PAL活性分别降低了47.05%和37.18%, 而C4H和4CL活性分别增加了634.62%和121.17%(表5)。

2.5 镉胁迫下丹参水溶性酚酸类化合物与脂溶性丹参酮类化合物的积累

由于脂溶性丹参酮类化合物主要分布在丹参的根系中^[20], 因此本试验只检测了丹参根系中的脂溶性丹参酮类化合物, 而水溶性酚酸类化合物则检测了全株。与对照组相比, 水溶性酚酸类化合物中的咖啡酸和迷迭香酸以及脂溶性丹参酮类化合物中的二氢丹参酮、丹参酮I和隐丹参酮含量均降低,

表4 镉胁迫下丹参可溶性蛋白、MDA 和叶绿素含量变化

Table 4 Content changes in soluble protein, MDA and chlorophyll in *S. miltiorrhiza* under cadmium stress

处理 Treatment	可溶性蛋白(mg/mL) Soluble protein	MDA(nmol/g)	ca (mg/g)	cb (mg/g)	ca/cb
对照 Control	0.05 ± 0.01	6.27 ± 0.2	0.98 ± 0.06	0.82 ± 0.02	1.19 ± 0.06
镉胁迫 Cadmium stress	0.09 ± 0.00 **	8.58 ± 0.36 **	0.83 ± 0.06 *	0.61 ± 0.06 **	1.37 ± 0.14

注: ca. 叶绿素a; cb. 叶绿素b。

Notes: ca. Chlorophyll a; cb. Chlorophyll b.

表5 镉胁迫下丹参叶片4种酶活性

Table 5 Four kinds of enzymes in leaves of *S. miltiorrhiza* under copper stress

(U·mg⁻¹ prot·min⁻¹)

处理 Treatment	Tyrosine aminotransferase (TAT)	Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)	Cinnamate 4-hydroxylase (C4H)	4-Coumarate: coenzyme A ligase (4CL)
对照 Control	15.07 ± 1.56	53.09 ± 1.33	0.26 ± 0.04	3.59 ± 0.11
镉胁迫 Cadmium stress	7.98 ± 1.05 **	33.35 ± 2.22 **	1.91 ± 0.09 **	7.94 ± 0.53 **

且达到极显著水平($p < 0.01$)；而丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、丹酚酸B和丹参酮ⅡA含量的变化均不显著(表6, 表7)。

3 讨论

镉是环境中危害最大的有毒重金属污染物之一, 能够对植物正常的生长发育造成巨大影响。本研究结果表明, 镉胁迫下丹参的生长受阻, 其中地上部分的生物量降低幅度大于根系, 导致根冠比增加。而重金属等逆境胁迫下植物根冠比增加反映了植物对水分和养分的需求和竞争能力更强, 是植物通过自身调节适应逆境的一种表现^[21]。本研究所设置的镉处理水平是在全国范围内丹参主产区进行大量调查后设置的, 由此说明, 虽然镉抑制了丹参的生长, 但在该浓度下, 丹参仍具有抵御逆境的能力。

已有研究表明, 镉对植物的主要影响之一是抑制植物矿质元素的运输^[22,23], 导致植物吸收的Cd²⁺大量积累在植物根系。本研究表明, 镉胁迫下丹参叶片和根系中Cd²⁺含量极显著增加。丹参药用部位是根系, 其中残留的高浓度镉能通过传统水煎、有效成分提取、中药制剂等环节最终进入人体, 从而产生毒副作用。汪洪等的研究表明, 低浓

度的镉对植物生长没有明显的抑制作用, 只有当植物体内的镉积累到一定浓度时才会对植物产生毒害作用^[24]。镉进入植物后可以通过电子传递链的传递, 诱导大量自由基和活性氧的产生^[25]。当植物体内自由基和活性氧积累到一定程度就会对植物产生毒害作用, 如细胞超微结构的破坏、膜脂过氧化程度、可溶性蛋白含量增加以及叶绿素含量的降低等^[26,27]。本研究结果表明, 镉胁迫30 d后, 丹参MDA含量显著增加, 说明镉胁迫导致了膜脂过氧化程度增加。此外, 丹参叶片的叶绿素a和叶绿素b含量均显著降低, 其原因可能是由于丹参体内的自由基和活性氧破坏了叶绿素的结构^[24]; 另一方面, 镉被植物吸收以后可以改变叶绿素合成酶的正常构型, 抑制这些酶的活性, 阻碍叶绿素的合成^[28]。此外, 本研究结果还表明, 50 mg/kg镉胁迫30 d后, 细胞内可溶性蛋白含量显著增加。镉胁迫下, 可溶性蛋白含量的增加对于植物抵御逆境具有至关重要的意义^[18]。其机制可能是进入植物体内的Cd²⁺诱导相关基因的高效表达, 植物通过合成可溶性蛋白质络合进入体内的重金属离子, 避免植物体内的酶和组织受损^[29]。这很可能是本研究所选择的镉处理水平下, 丹参尚具有抵御逆境的能力的主要原因之一。

表6 镉胁迫下丹参水溶性酚酸类化合物积累状况

Table 6 Accumulated status of water-soluble phenols in *S. miltiorrhiza* Bunge under cadmium stress (mg/g)

样品部位 Spot sample	处理 Treatment	丹参素 Tanshinol	原儿茶酸 Protocatechuic acid	原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde	咖啡酸 Caffeic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid	丹酚酸 Salvianolic acid B
叶片 Leaves	对照 Control	0.44 ± 0.08	1.24 ± 0.13	0.36 ± 0.06	0.52 ± 0.04	40.80 ± 0.75	90.59 ± 4.90
	镉胁迫 Cadmium stress	0.35 ± 0.06	1.53 ± 0.19	0.27 ± 0.05	0.41 ± 0.03 *	23.80 ± 2.75 **	78.89 ± 11.48
根系 Root	对照 Control	0.60 ± 0.05	1.02 ± 0.19	0.42 ± 0.18	0.54 ± 0.02	18.34 ± 0.12	103.50 ± 6.21
	镉胁迫 Cadmium stress	0.42 ± 0.10	0.97 ± 0.13	0.27 ± 0.05	0.38 ± 0.02 **	14.35 ± 0.25 **	96.04 ± 21.21

表7 镉胁迫下丹参根系脂溶性丹参酮类化合物积累状况

Table 7 Accumulated status of lipid-soluble ketones in *S. miltiorrhiza* Bunge under cadmium stress (mg/g)

处理 Treatment	二氢丹参酮 Dihydrotanshinone	丹参酮I Tanshinone I	丹参酮II A Tanshinone II A	隐丹参酮 Cryptotanshinone
对照 Control	1.10 ± 0.16	2.12 ± 0.23	3.68 ± 0.59	3.63 ± 0.32
镉胁迫 Cadmium stress	0.67 ± 0.18 *	1.00 ± 0.31 **	3.43 ± 0.62	2.59 ± 0.44 *

丹参中的水溶性酚酸类化合物和脂溶性丹参酮类化合物是丹参主要的药理学活性成分。本研究表明, 镉胁迫下, 丹参除叶片的原儿茶酸含量增加外($p > 0.05$), 叶片其他 5 种水溶性酚酸类成分、根系的 6 种酚酸类化合物与 4 种脂溶性丹参酮类化合物含量均降低, 其中部分成分, 如全株的迷迭香酸、根系的二氢丹参酮等变化达显著水平。由此说明, 土壤中较高浓度的镉对丹参品质的影响明显, 这也正是丹参实施 GAP 生产中高度关注的问题之一^[30]。苯丙烷代谢途径和酪氨酸代谢途径是丹参酚酸类化合物的基础代谢途径, 而 PAL、C4H 和 4CL 是苯丙烷代谢途径中的关键酶, TAT 是酪氨酸代谢途径的关键酶^[19]。本研究结果表明, 镉胁迫下 PAL 和 TAT 活性降低极显著, 而 C4H 和 4CL 活性显著增加。由此说明, 镉胁迫可能通过调节丹参水溶性酚酸类物质合成的关键酶活性的变化, 进而影响相关活性成分的合成。

上述结果说明镉胁迫会降低丹参的产量和质量, 因此在丹参规范化种植时, 要关注土壤的镉污染状况。

参考文献:

- [1] 柳絮, 范仲学, 张斌, 毕玉平. 我国土壤镉污染及其修复研究 [J]. 山东农业科学, 2008 (6): 94–97.
- [2] 贾夏, 周春娟, 董岁明. 镉胁迫对小麦的影响及小麦对镉毒害响应的研究进展 [J]. 麦类作物学报, 2011, 31(4): 786–792.
- [3] 谭忠谋, 杨帆, 韦升坚. 5 种常见中草药中有害元素铅、镉、铜的含量测定与分析 [J]. 中南药学, 2011, 9(11): 844–847.
- [4] 吴加伦. 中药材 GAP 的环境污染物检测对象与限量指标探讨 [J]. 中国现代中药, 2008, 10(12): 3–8.
- [5] 马立如, 李荣. 2008~2009 年我院中成药使用情况分析 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2010 (5): 436–438.
- [6] Qian Q, Qian S, Fan P, Huo D, Wang S. Effect of *Salvia miltiorrhiza* hydrophilic extract on antioxidant enzymes in diabetic patients with chronic heart disease: A randomized controlled trial [J]. *Phytother Res*, 2011, 26(1): 60–66.
- [7] 刘剑刚, 张大武, 李婕, 丰加涛, 杨小平, 史大卓, 梁鑫森. 丹参、红花水溶性组分及配伍对大鼠心肌缺血/再灌注损伤作用的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 189–194.
- [8] 袁淑兰, 王修杰, 魏于全. 丹参酮抗肿瘤作用及机理的研究 [J]. 癌症, 2003, 22 (12): 1363–1366.
- [9] 王永青. 火焰原子吸收法连续测定铜镉渣中的铜镉铅锌 [J]. 湖南有色金属, 2010, 26(6): 61–63.
- [10] 杨建雄. 生物化学与分子生物学实验技术教程 [M]. 第 2 版. 北京: 科学技术出版社, 2009: 35–36.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [12] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 35–36, 124.
- [13] 宛国伟, 董娟娥, 梁宗锁, 李进瞳, 王武军. 培养条件对离体丹参根苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性的影响 [J]. 西北植物学报, 2007, 27 (12): 2417–2477.
- [14] Dong J, Wan G, Liang Z. Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture [J]. *J Biotechnol*, 2010, 148(2): 99–104.
- [15] Koopmann E, Logemann E, Hahlbrock K. Regulation and functional expression of cinnamate 4-Hydroxylase from parsley [J]. *Plant Physiol*, 1991, 119: 49–56.
- [16] 毕咏梅, 欧阳光察. 水稻 4-香豆酸 CoA 连接酶的基本性质 [J]. 植物生理学通讯, 1990(6): 18–20.
- [17] 王川, 李昆伟, 魏宇昆, 崔浪军, 李发荣. Cu^{2+} 胁迫对丹参生长及有效成分积累的影响 [J]. 植物研究, 2012, 32(1): 124–128.
- [18] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD, POD, MDA 及可溶性蛋白比较研究 [J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1449–1453.
- [19] Xiao Y, Zhang L, Gao S, Saechao S, Di P, Chen J, Chen W. The c4h, tat, hppr and hppd genes prompted engineering of rosmarinic acid biosynthetic pathway in *Salvia miltiorrhiza* Hairy root cultures [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29713.
- [20] 刘芬, 崔浪军, 何刚, 杨章民. 不同生长季节丹参营养器官中有效成分的动态变化 [J]. 植物科学学报, 2011, 29(1): 93–98.
- [21] 李正文, 李兰平, 岑华飞, 杨平飞, 周琼, 周瑞

- 阳, 李志刚. 不同浓度镉·铅胁迫对红麻生长的影响 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(31): 15210–15213.
- [22] Posmyk M M, Kontek R, Janas K M. Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2009, 72: 596–602.
- [23] Chiraz C H, Afef H N, Donia B, Maaroufi D H, Chiraz B D, Jamel M, Houda G. Response of tomato (*Solanum lycopersicon*) to cadmium toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll content and photosynthesis rate [J]. *Afr J Plant Sci*, 2012, 6(1): 1–7.
- [24] 汪洪, 赵士诚, 夏文建, 王秀斌, 范洪黎, 周卫. 不同浓度镉胁迫对玉米幼苗光合作用、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(1): 36–42.
- [25] Bazzaz F A, Rolfe G L, Carlson R M. Effect of Cd on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower [J]. *Physiol Plant*, 1974, 32: 372–376.
- [26] Rauaer W E. Structure and function of metal chelators produced by plants; the case for organic acids, amino acids, phytin and metallothioneins [J]. *Cell Biochem Biophys*, 1999(31): 19–48.
- [27] Yang Q S, Wang Y Q, Zhang J J, Shi W P, Qian C M, Peng X X. Identification of aluminum-responsive proteins in rice roots by a proteomic approach: Cysteine synthase as a key player in Al response [J]. *Proteomics*, 2007(7): 737–749.
- [28] Singh S, Singh S, Ramachandran V, Eapen S. Copper tolerance and response of antioxidative enzymes in axenically grown *Brassica juncea* (L.) plants [J]. *Ecotoxicol Environ Safe*, 2010, 73: 1975–1981.
- [29] Wang Y D, Fang J, Leonard S S, Krishna Rao K M. Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species [J]. *Free Radical Biol Med*, 2004, 36(11): 1434–1443.
- [30] 黄志勇, 庄峙夏, 王小如, Frank S C Lee. GAP 质控下栽培丹参重金属内控标准物的制备和表征 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 808–811.

(责任编辑: 王豫鄂)