

配方施肥对春季桑叶 1-脱氧野尻霉素产量的影响

殷浩^{1,2}, 王丽³, 佟万红¹, 黄盖群¹, 危玲¹, 郑继川¹, 刘刚^{1,4}

(1. 四川省农业科学院 蚕业研究所, 四川南充 637000; 2. 四川省蚕业科技开发总公司, 四川南充 637000; 3. 四川省林业科学院, 四川成都 610066; 4. 西南大学 蚕学与系统生物学研究所, 重庆 400716)

摘要: 为了提高春季桑叶 1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojimycin, DNJ)产量, 采用“3414”肥料设计方案, 调查氮磷钾不同施肥水平对桑叶中 DNJ 质量分数的影响。结果表明: 氮磷钾均对桑叶不同部位叶有较显著的影响, 随着单因素施肥量的增加, 桑叶不同部位叶中 DNJ 也随之增加, 在氮 240.0 kg·hm⁻², 磷 84.0 kg·hm⁻², 钾 120.0 kg·hm⁻² 时达到最大; 进一步以桑叶 DNJ 产量为目标函数, 氮磷钾肥的施肥水平为调控因子, 模拟其之间的回归关系。氮磷钾肥的施肥水平及其配比均能显著影响桑叶中 DNJ 质量分数。桑叶中总 DNJ 最佳经济产量为 23.23 kg·hm⁻², 推荐施肥指标氮为 286.1 kg·hm⁻², 五氧化二磷为 95.2 kg·hm⁻², 氧化钾为 159.6 kg·hm⁻²。该最佳施肥通过生产实践证实后, 可为 DNJ 高产桑园建设提供参考。图 1 表 2 参 20

关键词: 经济林学; 桑叶; 1-脱氧野尻霉素产量; 平衡施肥; 施肥效应函数

中图分类号: S794.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2012)02-0251-06

Springtime DNJ yield in mulberry leaves with NPK fertilizer treatments

YIN Hao^{1,2}, WANG Li³, TONG Wan-hong¹, HUANG Gai-qun¹, WEI Ling¹, ZHENG Ji-chuan¹, LIU Gang^{1,4}

(1. Institute of Sericultural Sciences of Sichuan Province, Nanchong 637000, Sichuan, China; 2. Sericulture Technology Development Corporation of Sichuan Province, Nanchong 637000, Sichuan, China; 3. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610066, Sichuan, China; 4. Institute of Sericulture and Systems Biology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: To scientifically increase the 1-deoxynojimycin (DNJ) yield of mulberry leaves in spring, a “3414” fertilizer experimental design with the DNJ yield of mulberry leaves as the objective function and fertilizer levels of N, P, and K as treatments was established. N, P, and K treatment levels were utilized and simulated with a regression applying to SPSS 11.5. The variance analysis between fertilizer rate and DNJ contents in mulberry leaves were treated by statistical analysis applying to SAS 9.0 DA software. Results showed, that the DNJ content significantly increased ($P < 0.05$) with the level 240.0 kg·hm⁻² (N), 84.0 kg·hm⁻² (P₂O₅), 120.0 kg·hm⁻² (K₂O) fertilizer treatment. The optimum recommended fertilizer was 286.1 kg·hm⁻² (N), 95.2 kg·hm⁻² (P₂O₅), and 159.6 kg·hm⁻² (K₂O) with an optimum economic yield of 23.23 kg·hm⁻². After confirmation in actual conditions, this optimum fertilizer design could increase the high yield and quality of mulberry leaves in the hilly areas of Sichuan Province. [Ch, 1 fig. 2 tab. 20 ref.]

Key words: cash forestry; mulberry; 1-deoxynojimycin yield (DNJ); formula fertilization; function of fertilizer effect

收稿日期: 2011-07-08; 修回日期: 2011-09-01

基金项目: 四川省财政基因工程青年基金专项(2011JYGC-QNJ-021); 四川省农业科学院优秀论文基金项目(2011JYGC-LWJJ-07); 现代农业产业技术体系建设专项(蚕桑)

作者简介: 殷浩, 助理研究员, 从事蚕桑综合利用研究。E-mail: s20060428@163.com。通信作者: 刘刚, 副研究员, 博士, 从事桑树种质资源、遗传育种、抗性鉴定、良种繁育及新品种示范等研究。E-mail: liugang2004380@sina.com

1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojimycin, DNJ)是一种哌啶类生物碱,一种高效的 α -糖苷酶抑制剂,具有显著的降血糖功效^[1-3]。目前,人们所知的天然植物中,桑树 *Morus alba* 中 DNJ 质量分数最高^[4],而且作为桑树的主要产物——桑叶,其 DNJ 约为 $10.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,是降血糖天然药物开发的优质原料。大量学者对桑叶中的 DNJ 进行了广泛的研究^[5-11],但大多仅限于其质量分数,而作为植物生长及代谢的重要因素的肥料却少见相关报道,尤其是配方施肥对桑叶 DNJ 质量分数及其总产量的影响,迄今尚未见相关报道。基于以上设想,本实验初步探讨了“3414”配方施肥对桑叶 DNJ 质量分数和产量的影响,并进一步拟合肥料效应函数,获得推荐施肥参数,为建设 DNJ 高产优质桑园提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器试剂和 DNJ 的测定方法

1.1.1 试剂 1-deoxynojimycin-HCl (DNJ-HCl)为美国 Sigma 公司产品; 9-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOC-Cl)为美国 Fluka 公司产品; 乙腈色谱纯为中国天津市凯通化学试剂有限公司出品; 其他试剂皆为分析纯(中国); 试验用水为自制双蒸水。

1.1.2 仪器 Dionex 500E 型高效液相色谱仪为美国 Dionex 公司产品, 色谱柱为科瑞 Venus-C18-5u, 检测器为 UVD170U 紫外检测器, 分析软件为 Dionex chromeleox 工作站; TGL-16G 台式离心机(中国), KQ-600 型超声波清洗器(中国), 电子恒温水浴锅(中国), 旋涡混合器(中国)等均。

1.1.3 DNJ 的测定方法 参照 KIM 等^[12]报道的方法的基本原理, 按照 Yin 等^[13]描述的方法测定。①测试样品的提取: 称取待测桑叶粉 30 mg, 加入 1 mL $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸 (HCl), 涡流 1 min, 超声波处理 40 min, $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 收集上清液, 沉淀物再按上步重复抽提 1 次, 合并 2 次上清液, 定容至 2 mL, 即得样品提取液。②DNJ 的衍生化: 取桑叶粉提取液 140 μL 于 1.5 mL 的离心管, 加入 $0.40 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸钾缓冲液 (pH 8.5) 169 μL , 再加入 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的衍生化试剂 FMOC-Cl (溶解于体积分数为 50%乙腈中) 250 μL , 混匀, $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中反应 20 min, 加入 $1.00 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甘氨酸 (gly) 25 μL 中和剩余的 FMOC-Cl 以终止反应, 再加体积分数为 1% 的醋酸溶液 66 μL , 用水定容至 707 μL , 最后用孔径 0.2 μm 尼龙膜过滤, 收集滤液, 即得测试液。③测定方法: 采用反相高效液相层析 (RP-HPLC) 法测定, 色谱柱为科瑞 Venus-C18-5u, 检测器为 UVD170U 紫外检测器, 检测波长 254 nm, 流动相为乙腈: 体积分数 0.1% 醋酸 = 11 : 16 (体积比), 流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 20 μL 。分析软件为 Dionex chromeleox 工作站, 外标法分析计算。所有样品均测定 3 次, 平均值为其 DNJ 质量分数。

1.2 试验点基本情况

试验于 2010 年在四川省农业科学院蚕业研究所涪溪科研试验桑园进行。该试验地土壤类型为紫色土。2 月测定 0~20 cm 土层的土壤肥力为: 有机质 $33.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮 (N) $1.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 有效磷 (P_2O_5) $117.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾 (K_2O) $164.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 土壤 pH 7.72。试验桑园栽植桑树品种为川 826, 树龄 6 a。桑树栽植株行距为 $0.66 \text{ m} \times 1.33 \text{ m}$, 栽植密度为 $11\ 400 \text{ 株}\cdot\text{hm}^{-2}$, 各小区均设置隔离带。1 月上旬修枝整形, 枝条 8 根 $\cdot\text{株}^{-1}$, 其他田间管理与常规管理相同。

1.3 试验设计

采用现代肥料二次回归“3414”试验设计, 在试验设计中对氮磷钾 3 因素 4 水平 14 个处理 (表 1), 随机排列。设计中 4 个水平: 0 水平指不施肥, 2 水平指当地推荐施肥量, 1 水平为 2 水平 $\times 0.5$, 3 水平为 2 水平 $\times 1.5$ (该水平为过量施肥水平)。各种处理为 3 个试验小区, 小区面积为 30 m^2 。在有机肥 $6\ 000 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 的基础上布置各施肥处理, 肥料采用尿素 (N, $460 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 过磷酸钙 (P_2O_5 , $120 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 氯化钾 (K_2O , $600 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 在 2 月下旬施肥。

1.4 调查方法

1.4.1 肥料对桑树不同部位叶 DNJ 质量分数的影响 2010 年 5 月 20 日, 查看并标记正常发育, 树形较好的桑树。各小区选择 6 株桑树, 每株桑树选择 2 条典型桑枝。6 月 10 日在相同部位分别采摘 2 片嫩芽、嫩叶、成熟叶、老叶, 各处理的各小区的各部位叶分别混合, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干后, 研磨过 200 目筛, 测定各处理桑树不同部位叶的 DNJ 质量分数。

1.4.2 肥料对桑叶 DNJ 产量的影响 各处理实收测产调查, 收集各处理所有的桑叶, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干后推算

表 1 “3414” 施肥设计方案
Table 1 “3414” fertilization experiment design

编号	处理	氮(N)/(kg·hm ⁻²)	磷(P ₂ O ₅)/(kg·hm ⁻²)	钾(K ₂ O)/(kg·hm ⁻²)
1	N ₀ P ₀ K ₀	0	0	0
2	N ₀ P ₂ K ₂	0	84.0	120.0
3	N ₁ P ₂ K ₂	120.0	84.0	120.0
4	N ₂ P ₀ K ₂	240.0	0	120.0
5	N ₂ P ₁ K ₂	240.0	42.0	120.0
6	N ₂ P ₂ K ₂	240.0	84.0	120.0
7	N ₂ P ₃ K ₂	240.0	126.0	120.0
8	N ₂ P ₂ K ₀	240.0	84.0	0
9	N ₂ P ₂ K ₁	240.0	84.0	60.0
10	N ₂ P ₂ K ₃	240.0	84.0	180.0
11	N ₃ P ₂ K ₂	360.0	84.0	120.0
12	N ₁ P ₁ K ₂	120.0	42.0	120.0
13	N ₁ P ₂ K ₁	120.0	84.0	60.0
14	N ₂ P ₁ K ₁	240.0	42.0	60.0

单位面积桑树的干桑叶产量。将各处理烘干的桑叶混合均匀，研磨过 200 目筛，测定各处理桑叶的 DNJ 平均质量分数。干桑叶产量(kg·hm⁻²) = 平均单株干桑叶质量(kg) × 750(667 m² 桑树株数) × 15。桑叶 DNJ 产量(kg·hm⁻²) = 桑叶干物质(kg·hm⁻²) × 桑叶 DNJ 的平均质量分数(g·kg⁻¹)。

1.5 数据分析

采用 SPSS 13.0 和 SAS 9.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 施肥量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响

2.1.1 施氮量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响 选取 N₀P₂K₂, N₁P₂K₂, N₂P₂K₂ 和 N₃P₂K₂, 探讨施氮量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响(图 1-A)。结果表明：在同一处理中，春季上位叶 DNJ 质量分数明显高于下位叶：嫩芽 > 嫩叶 > 成熟叶 > 老叶；桑叶中 DNJ 质量分数随着施氮量的增加而显著增高，在 N₂ 水平时，嫩芽、嫩叶、成熟叶和老叶 DNJ 达到最大，分别为 3.988, 3.496, 2.462 和 1.671 g·kg⁻¹，随着施氮量的进一步增加，即 N₃ 水平，桑叶中 DNJ 质量分数显著降低，但仍显著高于 N₁ 水平。

2.1.2 施磷量对桑叶 DNJ 质量分数的影响 选取 N₂P₀K₂, N₂P₁K₂, N₂P₂K₂, N₂P₃K₂, 探讨施磷量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响(图 1-B)。结果表明：在同一处理中春季上位叶 DNJ 质量明显高于下位叶：嫩芽 > 嫩叶 > 成熟叶 > 老叶。嫩芽和嫩叶中 DNJ 质量分数变化趋势相同，P₂ 和 P₃, P₀ 和 P₁ 相互之间桑叶中 DNJ 质量分数均没有显著差异，但前者 DNJ 显著高于后者，嫩芽和嫩叶中 DNJ 最高质量分数分别为 3.988 g·kg⁻¹ 和 3.496 g·kg⁻¹。磷肥对春季成熟叶中 DNJ 影响较大，随着施磷量的增加，成熟叶中 DNJ 也显著增加，在 P₂ 水平时达到最大值 2.462 g·kg⁻¹，P₃ 水平时又显著降低，但仍显著高于 P₁ 水平。随着施磷量的增加，春季老叶中 DNJ 也显著增加，在 P₂ 水平时达到最大值(1.671 g·kg⁻¹)，P₃ 与 P₂ 之间没有显著差异。

2.1.3 施钾量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响 选取 N₂P₂K₀, N₂P₂K₁, N₂P₂K₂ 和 N₂P₂K₃, 探讨施钾量对桑叶中 DNJ 质量分数的影响(图 1-C)。结果表明：在同一处理中，春季上位叶中 DN 质量分数大于下位叶：嫩芽 > 嫩叶 > 成熟叶 > 老叶。嫩芽中 DNJ 质量分数在 K₀, K₁ 和 K₃ 水平上均没有显著差异，但均显著低于 K₂ 水平的嫩芽中 DNJ 质量分数(3.988 g·kg⁻¹)；嫩叶、成熟叶和老叶中 DNJ 随着施钾量的增加表现相同

的变化: K_2 和 K_3 , K_0 和 K_1 相互之间均没有显著变化, 但前者显著高于后者, DNJ 最大值分别为 3.496, 2.462 和 1.671 $g \cdot kg^{-1}$ 。

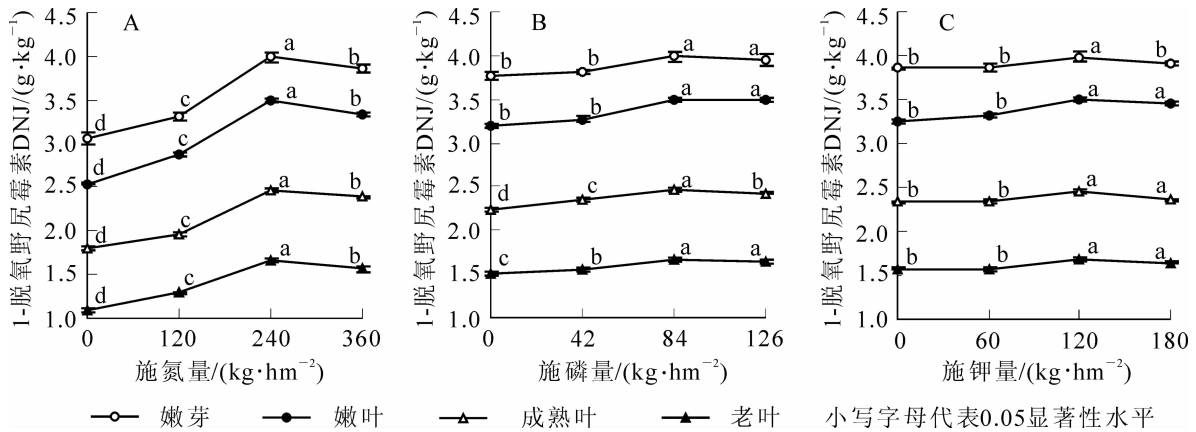


图1 施氮量、放磷量和施钾量对桑叶 DNJ 质量分数的影响

Figure 1 Effects of nitrogen phosphorus and potassium rate on the DNJ contents of mulberry leaf

2.2 桑叶平衡施肥设计肥料效应模型的配置

采用 SPSS 13.0 统计软件, 利用当年的肥料和 DNJ 价格: 氮(N)4.10 元· kg^{-1} , 磷(P_2O_5)3.20 元· kg^{-1} , 钾(K_2O)5.00 元· kg^{-1} , DNJ 为 2.00×10^8 元· kg^{-1} 及表 1~2, 建立以桑叶总 DNJ 产量为函数, 氮磷钾为因子的肥料效应函数, 求出最佳施肥量及最佳产量。

表2 施肥水平对桑叶 DNJ 产量的影响

Table 2 Effect of fertilization level on the DNJ content of mulberry

编号	处理	桑叶干物质量/($kg \cdot hm^{-2}$)	桑叶 DNJ/($g \cdot kg^{-1}$)	桑叶 DNJ 产量/($kg \cdot hm^{-2}$)
2	$N_0P_2K_2$	10 000.15 ± 15.23	0.140 6 ± 0.003 6	14.09
3	$N_1P_2K_2$	11 219.99 ± 11.37	1.711 0 ± 0.043 0	19.55
4	$N_2P_0K_2$	11 488.22 ± 9.55	1.905 0 ± 0.018 0	21.48
5	$N_2P_1K_2$	11 962.29 ± 21.61	1.907 0 ± 0.022 0	23.01
6	$N_2P_2K_2$	12 344.43 ± 16.94	2.001 0 ± 0.012 0	24.24
7	$N_2P_3K_2$	11 824.42 ± 8.58	1.904 0 ± 0.017 0	22.88
8	$N_2P_2K_0$	11 583.49 ± 13.88	1.914 0 ± 0.014 0	21.60
9	$N_2P_2K_1$	11 839.00 ± 10.11	1.920 0 ± 0.043 0	22.70
10	$N_2P_2K_3$	11 934.27 ± 14.76	1.916 0 ± 0.027 0	22.74
11	$N_3P_2K_2$	11 855.35 ± 19.48	1.906 0 ± 0.019 0	22.07
12	$N_1P_1K_2$	11 182.01 ± 19.67	1.710 0 ± 0.031 0	18.99
13	$N_1P_2K_1$	11 204.10 ± 11.82	1.721 0 ± 0.022 0	19.58
14	$N_2P_1K_1$	11 632.38 ± 19.35	1.908 0 ± 0.027 0	21.60

2.2.1 三元二次肥料效应函数 桑叶三元二次肥料效应函数: $y=11.356 7+0.063 936 N+0.041 096 P+0.009 627 K-0.000 12 N^2-0.000 15P^2-0.000 075K^2-0.000 039NP+0.000 0529NK-0.000 008 6PK(R=0.98, P=0.003 66<0.05)$ 。由上述全因子模型, 求出最佳施肥量及最佳产量。

2.2.2 多种肥料效应函数的施肥决策信息 桑叶中总 DNJ 最佳经济产量为 23.23 $kg \cdot hm^{-2}$, 推荐施肥指标氮(N)为 286.1 $kg \cdot hm^{-2}$, 磷(P_2O_5)为 95.2 $kg \cdot hm^{-2}$, 钾(K_2O)为 159.6 $kg \cdot hm^{-2}$ 。

3 讨论

氮磷钾是植物生长的 3 种基本要素, 但不同的植物对其需要量及其比例是不同的, 不同肥力水平的

土壤，施用肥料的最佳用量差别很大，尤其是药用植物，对其精准施肥的研究不仅要追求其含量及其产量，还要注重次生代谢产物的产量。张燕等^[14]报道：单施氮肥对益母草 *Leonurus japonicus* 中水苏碱和总生物碱有很大的促进作用，足量的磷元素与氮元素的合理配施可以提高氮的肥效。纪瑛等^[15]研究表明：施用氮肥能显著提高苦参 *Sophora flavescens* 中总生物碱的含量及其产量，但过量施用则呈降低趋势。陈泉等^[16]报道：施肥并不能显著影响植物生物碱的含量，只是显著提高植物干物质产量，从而增加了生物碱产量。其他相关研究结果也证明氮素对植物体内生物碱含量具有提高和促进效应^[17-19]。肥料对桑叶中 DNJ 的质量及其产量的影响的相关研究报道较少。Yin 等^[10]报道了不同氮素形态及其配比均能显著影响桑叶中 DNJ 质量分数。而本试验结果表明：氮磷钾单因素均能显著影响春季桑叶中 DNJ 的质量分数，不同氮磷钾施入量及其配比能显著影响春季桑叶 DNJ 产量。氮素是 DNJ 合成的必需元素，所以施氮量对其质量分数及其产量的影响较大，而磷钾元素可能直接或间接影响 DNJ 的合成；过量施肥，桑叶 DNJ 不会提高，甚至会显著降低，这可能是破坏了土壤环境的养分平衡或 DNJ 达到一个平台后表现的饱和反应。

本试验利用肥料效应函数得到桑叶 DNJ 的最佳产量及其最佳施肥指标，为以桑叶为主要原料，并以 DNJ 为主要成分的产品开发，提供获得高产优质原料的施肥方法，为解决人工栽培中存在的药材质量不稳定等问题提供参考。

植物次生代谢产物的合成过程较为复杂，生物因素和非生物因素均能显著影响其含量^[20]，所以对它们仍需系统的研究，尤其是影响 DNJ 生物合成的具体机制需要进一步研究探讨。

4 结论

氮磷钾的施肥水平能显著影响桑叶中的 DNJ 质量分数。在单因素水平时，随着施肥量的增加，桑叶中 DNJ 也随之显著增加，在 $N_2P_2K_2$ 水平时达到最大，再增施肥料，其质量分数基本没有变化或者显著降低，所以科学施肥能显著提高桑叶的 DNJ 产量。通过建立肥料效应函数，得到桑叶的推荐施肥指标和 DNJ 最佳经济产量：桑叶中总 DNJ 最佳经济产量为 $23.23 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ，推荐施肥指标氮(N)为 $286.1 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ，磷(P_2O_5)为 $95.2 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ，钾(K_2O)为 $159.6 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。

参考文献：

- [1] KIMURA T, NAKAGAWA K, KUBOTA H, *et al.* Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, **55** (14): 5869 – 5874
- [2] YATSUNAMI K, ICHIDA M, ONODERA S, *et al.* The relationship between 1-deoxynojirimycin content and alpha-glucosidase inhibitory activity in leaves of 276 mulberry cultivars (*Morus* spp.) in Kyoto [J]. *Jpn J Nat Med*, 2008, **62** (1): 63 – 66.
- [3] 耿鹏, 朱元元, 杨洋, 等. 桑树资源中 1-脱氧野尻霉素的测定及其生物活性分析[J]. *中草药*, 2005, **36** (8): 1151 – 1154.
GENG Peng, ZHU Yuanyuan, YANG Yang, *et al.* Determination of 1-deoxynojirimycin from mulberry resources and analysis of their bioactivities [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2005, **36** (8): 1151 – 1154.
- [4] 雷晓燕, 黄海华. 1-脱氧野尻霉素及其衍生物的药理学与合成研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*, 2000, **17** (6): 456 – 460.
LEI Xiaoyan, HUANG Haihua. The update on the pharmacological activities and synthetic methods of 1-deoxynojirimycin and its derivatives [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2000, **17** (6): 456 – 460.
- [5] 关丽萍, 郑光浩, 金晴昊, 等. RP-HPLC 测定不同地区、不同采集期桑叶中 1-脱氧野尻霉素[J]. *中草药*, 2005, **36** (12): 1881 – 1882.
GUAN Liping, ZHENG Guanghao, JIN Qinghao, *et al.* Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaf at different areas and collecting period by RP-HPLCs [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2005, **36** (12): 1881 – 1882.
- [6] 李凡, 裘雅渔, 钱文春, 等. 桑叶中总生物碱和 1-脱氧野尻霉素的含量考察[J]. *中国药学杂志*, 2008, **43** (3): 176 – 179.

- LI Fan, QIU Yayu, QIAN Wenchun, *et al.* Determination and investigation of total alkaloids and 1-deoxynojirimycin in folium mori [J]. *Chin Pharmac J*, 2008, **43** (3): 176 – 179.
- [7] 欧阳臻, 陈钧. 不同季节桑叶中 1-脱氧野尻霉素(DNJ)含量的测定[J]. 食品科学, 2004, **25** (10): 211.
OUYANG Zhen, CHEN Jun. Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves in different seasons [J]. *Food Sci*, 2004, **25** (10): 211.
- [8] 施新琴, 崔为正, 裘立群, 等. 用反相高效液相色谱-紫外检测法测定 1-脱氧野尻霉素的含量[J]. 蚕业科学, 2006, **32** (1): 146 – 149.
SHI Xinqin, CUI Weizheng, QIU Liqun, *et al.* Determination of 1-deoxynojirimycin content by ultraviolet reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *Sci Seric*, 2006, **32** (1): 146 – 149.
- [9] MENG Xia, OUYANG Zhen, CHANG Yu, *et al.* Contrast of 1-deoxynojirimycin content in mulberry leaves from different habitats [J]. *J Chin Med Mater*, 2008, **31** (1): 8 – 10.
- [10] 殷浩, 佟万红, 叶晶晶, 等. 施氮量及氮素形态对桑叶中 1-脱氧野尻霉素含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, **38** (32): 18129 – 18131.
YIN Hao, TONG Wanhong, YE Jingjing, *et al.* Effects of nitrogen amount and nitrogen form on 1-deoxynojirimycin content in mulberry leaf [J]. *J Anhui Agric Sci*, **38** (32): 18129 – 18131.
- [11] 殷浩, 佟万红, 叶晶晶, 等. 光照强度对桑叶中 1-脱氧野尻霉素含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, **38** (28): 15634 – 15635, 15654.
YIN Hao, TONG Wanhong, YE Jingjing, *et al.* The effect of light intensity on 1-deoxynojirimycin content in mulberry leaf [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2010, **38** (28): 15634 – 15635, 15654.
- [12] KIM J W, KIM S U, LEE H S, *et al.* Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2003, **1002** (1/2): 93 – 99.
- [13] YIN Hao, SHI Xingqin, SUN Bo, *et al.* Accumulation of 1-deoxynojirimycin (1-DNJ) in silkworm, *Bombyx mori* L. [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2010, **11** (4): 286 – 291.
- [14] 张燕, 王文全, 杜世雄, 等. 氮、磷、钾对益母草生长及水苏碱和总生物碱影响的研究[J]. 中草药, 2007, **38** (12): 1881 – 1884.
ZHANG Yan, WANG Wenquan, DU Shixiong, *et al.* Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium on seedling growth and stachydrine and total alkaloid from *Leonurus japonicus* [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2007, **38** (12): 1881 – 1884.
- [15] 纪瑛, 张庆霞, 蔺海明, 等. 氮肥对苦参生长和生物总碱的效应[J]. 草业学报, 2008, **18** (3): 159 – 164.
JI Ying, ZHANG Qingxia, LIN Haiming, *et al.* Effect of nitrogen on growth and total alkaloids of *Sophora flavescens* [J]. *Acta Pratac Sin*, 2008, **18** (3): 159 – 164.
- [16] 陈泉, 李建国. 栽培因子影响长春花生物碱含量的研究进展[J]. 热带农业科学, 2009, **29** (4): 49 – 54.
CHEN Quan, LI Jianguo. Advances on effects of cultural factors on alkaloid concentration of *Catharanthus roseus* [J]. *Chin J Trop Agric*, 2009, **29** (4): 49 – 54.
- [17] SREEVALLI Y, KULKAMI R N, BASKARAN K, *et al.* Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization [J]. *Ind Crop Prod*, 2004, **19** (2): 191 – 195.
- [18] AFIDI M M R K Afaq, WASIUDDIUN S H, KHALIQUE A, *et al.* Effect of different level of nitrogen on growth and alkaloid content of *Datura innoxia* L. [J]. *Ind J Pharm*, 1997, **6**: 165 – 166.
- [19] DEMEYER K, DEJAEGERE R. Influence of the ion-balance in the growth medium on the yield and alkaloid content of *Datura stramonium* [J]. *Plant Soil*, 1989, **114** (2): 289 – 294.
- [20] 沈晓霞, 盛束军, 徐建中. 环境因子对益母草总生物碱含量的影响[J]. 浙江农业学报, 2002, **14** (4): 221 – 225.
SHEN Xiaoxia, SHENG Shujun, XU Jianzhong, *et al.* Effect of environmental factors on the total alkaloid content in Yimu Cao (*Leonurus artemisia* S.Y. Hu)[J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2002, **14** (4): 221 – 225.