

# 植物生长物质对牛膝生长及主要药用成分积累的影响

李金亭, 齐婉楨, 韩学娉, 王 灿, 刘雪媛, 刘雅静, 马亚影

(河南师范大学 生命科学学院; 河南省高校道地中药材保育及  
利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007)

**摘 要:**采用不同植物生长物质组合对牛膝幼苗进行喷施处理和植物化学分析相结合的方法,研究植物生长物质对牛膝生长及其主要药用成分合成的影响.结果表明:1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> MJ(T4)协同处理最有利于牛膝地下部分生物量的增加;1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA(T3)协同处理最有利于牛膝根中齐墩果酸的积累;1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA(T2)和1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA(T3)处理最有利于牛膝根中蜕皮甾酮的积累.综合考虑各项指标,1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA(T3)处理无论是对于牛膝的生长还是主要药用成分三萜皂苷和蜕皮甾酮的积累均比对照有显著提高,最有利于牛膝药材产量和品质的提高.

**关键词:**牛膝;植物生长物质;生物学性状;齐墩果酸;蜕皮甾酮

**中图分类号:**R284.2

**文献标志码:**A

牛膝(*Achyranthes bidentata* BL.)为苋科牛膝属多年生草本植物,以干燥根入药,具有逐瘀通经,强筋骨,补肝肾,利尿通淋,引血下行等功效<sup>[1]</sup>.近年来,随着人们应用牛膝药物及其所含药用成分进行防病、治病日趋增多,对牛膝药材的需求量也随着加大.虽然牛膝目前已形成了大规模的人工栽培,但部分药农大量施用化肥,使得牛膝枝繁叶茂,药用部分根的产量却不高,根中牛膝皂苷、蜕皮甾酮等主要药用成分的含量亦偏低,严重影响了药材的产量和品质.目前国内外对牛膝的栽培、药理学、植物化学分析及结构发育与有效成分积累关系等方面的研究较多<sup>[2]</sup>,而有关植物生长物质对牛膝生长及主要药用成分积累的研究报道极少.植物生长物质是指一些能调节植物生长发育的微量化学物质,它包括植物激素和植物生长调节剂<sup>[3]</sup>.自20世纪发现生长素以来,有关植物激素在药用植物研究方面得到了广泛的应用<sup>[4-6]</sup>,研究表明外源植物生长物质在农作物上的推广应用已产生了巨大的经济效益和社会效益<sup>[7]</sup>.人们常应用吲哚丁酸(IBA)诱导根原体的形成,促进植物扦插生根,能促进植物细胞分裂和分化,有利于维管束系统的分化和新根的生成,促进不定根的形成.据 Waseem K 等<sup>[8]</sup>报道,在诱导菊花茎尖外植体的愈伤组织分化时,添加 0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA 于 1/2 MS 培养基中,可显著促进根的生长.广谱型植物生长物质萘乙酸(NAA)能促进细胞的分裂和生长,诱导不定根的形成,提高坐果率.朱敏等<sup>[9]</sup>报道,以 30 mg·L<sup>-1</sup> NAA 对芒果植株进行喷施处理具有促进坐果和疏果的双重作用,并可显著促进果实的膨大.第一个人工合成的细胞分裂素是 6-苄胺基腺嘌呤(6-BA),其主要功能是促进芽的生成,诱导愈伤组织的形成,提高植物的品质.房翠萍等<sup>[10]</sup>研究表明,添加 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+3.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA 于丹参愈伤组织分化培养的 1/2 MS 培养基上,能使丹参毛状根中丹参酮 II A 的含量显著提高.许种植物体内能产生内源性激素茉莉酸甲酯(MJ),并能作为信号转导分子在植物受到胁迫时激发其防御基因的表达,诱导机体产生化学防御<sup>[11]</sup>,也可作为诱导子激活调控基因的表达,调控植物次生代谢产物的合成<sup>[12-13]</sup>.Sirvent 等<sup>[14]</sup>用浓度为 200 μmol·L<sup>-1</sup> MJ 贯叶连翘植株进行处理,显著提高植株中金丝桃素类物质和贯叶金丝桃素的含量.IBA,6-BA,NAA 和 MJ 等植物生长物质已普遍应用于促进植物活性成分合成的研究中,但在牛膝的大田栽培中的应用研究甚少.因此,研究植物生长物质对牛膝生长发

收稿日期:2016-04-13;修回日期:2016-08-01.

基金项目:国家自然科学基金(81274076)

第1作者简介(通信作者):李金亭(1962-),女,河南新乡人,河南师范大学教授,博士,研究方向为药用植物学, E-mail: Ljt66882004@126.com.

育及其主要药用成分积累的影响,对牛膝生长发育和主要药用成分的合成进行人工调控,对提高牛膝药材的品质和产量都有重要的意义.

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料及试剂

实验材料为种植于河南温县农科所的怀牛膝,经河南师范大学李景原教授鉴定为苋科牛膝属植物的牛膝(*Achyranthes bidentata* BL.). 植物生长物质 IBA, NAA, 6-BA, MJ 等均为分析纯,购自 Sigma 公司. 齐墩果酸和蜕皮甾酮标准品(纯度 $\geq 98\%$ )购自南京春秋生物公司.

### 1.2 方 法

2015年7月15日将牛膝种子播种于温县农科所牛膝种植基地,待幼苗长至3~15 cm高时进行间苗. 出苗两周后,根据前期的实验结果,于2015年8月10日傍晚,选用不同植物生长物质组合对牛膝幼苗进行以下喷施处理:(1)CK(对照):蒸馏水;(2)T1:1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA;(3)T2:1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA;(4)T3:1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA;(5)T4:1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> MJ. 喷施致叶片正反两面挂满水珠为宜,每处理4行(50株/行),连续处理3 d(1次/d),植株生长期间进行正常的大田维护. 牛膝于处理后90 d(收获期)采收. 样品采集后,于105℃杀青30 min,60℃烘干、粉碎并过40目筛,置于干燥器中保存备用.

### 1.3 生物学指标

每处理随机采挖10株完整植株,测定其株高、根长以及根的其他量.

### 1.4 齐墩果酸和蜕皮甾酮的测定方法

#### 1.4.1 齐墩果酸的测定

样品制备:精确称取样品0.1 g(每样3份重复),加入10 mL甲醇,进行30 min超声粗提取,滤去残渣,容器和残渣用甲醇洗涤3次,合并提取液,于旋转蒸发仪减压浓缩至干后,加入4 mol·L<sup>-1</sup>盐酸10 mL,85℃水解1 h,冷却后加氯仿10 mL,60℃回流萃取2次(15 min/次),收集下层液并减压浓缩至干,用色谱纯甲醇定容至1 mL,混匀并过滤(滤膜孔径为0.22 μm),用于高效液相色谱(HPLC)测定<sup>[15]</sup>.

色谱条件:高效液相色谱仪(Agilent 1200 LC),Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×150 mm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(90:10:0.1);流速0.9 mL·min<sup>-1</sup>,柱温25℃,检测波长210 nm,进样量20 μL.

#### 1.4.2 蜕皮甾酮测定

样品制备:精确称取样品0.1 g(每样3份重复),加甲醇10 mL,超声提取30 min,滤去残渣,容器和残渣用甲醇洗涤3次,合并提取液,于旋转蒸发仪减压浓缩至干,加甲醇定容至3 mL,混匀后用孔径为0.22 μm的微孔滤膜过滤,用于HPLC的测定<sup>[16]</sup>.

色谱条件:流动相为甲醇-水-冰醋酸(16:84:0.1);流速1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温25℃,检测波长为252 nm,进样量20 μL.

### 1.5 数据处理

所有实验数据均进行方差分析,检验处理间的差异显著性用新复极差(Duncan's). 整个计算过程在SPSS和Excel软件系统下完成.

## 2 结 果

### 2.1 不同植物生长物质配比处理对牛膝生物学性状的影响

不同植物生长物质配比处理对牛膝生物学性状的影响见表1. 由表1可知,各处理组对牛膝的株高均有一定的促进作用,其中T2处理较CK显著提高了7.6%( $P<0.05$ ),其余处理与CK相比均没有达到显著性差异. 表明1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA协同处理可促进牛膝地上部分的生长. 各组处理对牛膝根长的影响较小,与CK比较均无显著性差异,但对牛膝地下部分生物量的积累均呈正效应( $P<0.05$ ),T1, T2, T3, T4处理分别比CK增加19.1%、29.2%、24.4%和34.8%,其中T4处理(1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+

1.0 mg · L<sup>-1</sup> MJ)对牛膝地下部分生物量积累最有利,其次为 T2(1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg · L<sup>-1</sup> NAA)处理.

表1 不同植物生长物质组合处理对牛膝生物学性状的影响

处理/(mg · L <sup>-1</sup> )	株高/cm	根长/cm	根干质量/g
CK	83.33±1.45(b)	31.00±0.58(a)	3.75±0.07(d)
1.0 IBA(T1)	85.00±1.53(ab)	32.33±0.88(a)	4.47±0.06(c)
1.0 IBA+2.0 NAA(T2)	89.67±1.86(a)	30.67±0.67(a)	4.85±0.11(ab)
1.0 IBA+1.0 6-BA(T3)	84.40±0.95(b)	30.93±0.52(a)	4.67±0.09(bc)
1.0 IBA+1.0 MJ(T4)	86.33±2.03(ab)	31.67±0.88(a)	5.06±0.05(a)

注:表中不同字母表示 LSD 试验 5% 水平差异显著,下同.

## 2.2 不同植物生长物质配比处理对牛膝根中齐墩果酸含量的影响

不同植物生长物质配比处理对牛膝根中齐墩果酸含量的影响见表2.从根中齐墩果酸的相对含量(mg/g)来看,各处理均较 CK 有不同程度的下降,其中 T3 处理较 CK 稍有下降,并无显著性差异.但从牛膝根中齐墩果酸的总量(即相对含量×根干重)来看,除 T4 处理外,其他各处理均较 CK 有所提高,其中 T3 处理比 CK 显著增加了 17.7%( $P<0.05$ ),表明 1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 协同处理可促进牛膝根中齐墩果酸的合成,而其他处理则不利于牛膝根中齐墩果酸的积累.

表2 不同植物生长物质组合处理对牛膝根中齐墩果酸含量的影响

处理/(mg · L <sup>-1</sup> )	齐墩果酸含量/(mg · g <sup>-1</sup> )	齐墩果酸总量/(mg · 株 <sup>-1</sup> )
CK	22.42±0.77(a)	84.15±2.97(bc)
1.0 IBA(T1)	19.77±0.35(bc)	88.38±1.55(bc)
1.0 IBA+2.0 NAA(T2)	18.49±0.11(c)	89.63±1.70(b)
1.0 IBA+1.0 6-BA(T3)	21.24±0.66(ab)	99.04±1.18(a)
1.0 IBA+1.0 MJ(T4)	16.85±0.43(d)	83.32±1.62(c)

## 2.3 不同植物生长物质配比处理对牛膝根中蜕皮甾酮含量的影响

不同激素配比处理对牛膝根中蜕皮甾酮含量的影响见表3.从牛膝根中蜕皮甾酮的相对含量(mg · g<sup>-1</sup>)来看,各处理组均较 CK 有所增加,其中 T1, T2 和 T3 处理后牛膝根中的蜕皮甾酮相对含量达显著性差异,分别增加了 24%、32%、28%,T1、T2 和 T3 间并没有显著性差异.从牛膝根中蜕皮甾酮总量(即相对含量×根干重)来看,各处理组均较 CK 有显著性增加( $P<0.05$ ),影响顺序由大到小是:T2, T3, T1, T4,其中 T2 处理组的牛膝中蜕皮甾酮总量居前,比 CK 增加 81.5%.但 T2 和 T3 间并没有显著性差异.说明 1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg · L<sup>-1</sup> NAA 和 1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 处理最有利于牛膝根中蜕皮甾酮的积累.

表3 不同植物生长物质组合处理对牛膝根中蜕皮甾酮含量的影响

处理/(mg · L <sup>-1</sup> )	蜕皮甾酮含量/(mg · g <sup>-1</sup> )	蜕皮甾酮总量/(mg · 株 <sup>-1</sup> )
CK	0.25±0.004(c)	0.92±0.03(c)
1.0 IBA(T1)	0.31±0.004(ab)	1.37±0.008(b)
1.0 IBA+2.0 NAA(T2)	0.33±0.01(a)	1.62±0.09(a)
1.0 IBA+1.0 6-BA(T3)	0.32±0.02(a)	1.47±0.06(ab)
1.0 IBA+1.0 MJ(T4)	0.27±0.02(bc)	1.36±0.18(b)

## 3 分析讨论

不同植物生长物质对植物的生长发育具有广泛的作用,并能诱导多种次级代谢产物的形成<sup>[17-18]</sup>. IBA 和 NAA 属于生长素类植物调节剂,对植物细胞的分裂、伸长生长及分化均有一定的影响<sup>[19]</sup>. 本研究结果显示,1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA 单独喷施牛膝幼苗叶片对牛膝的株高、根长及生物量的积累均有促进作用,这与本课题组前期的研究结果一致<sup>[20]</sup>. 总体看来,1.0 mg · L<sup>-1</sup> IBA+2.0 mg · L<sup>-1</sup> NAA(T2)协同处理与 IBA 单独处理对牛膝生物学性状的影响趋势基本一致. 孙玉新等研究表明,施用适量的植物外源生长素能够促进丹参的生长<sup>[21]</sup>. 本试验采用两种植物生长物质(IBA 和 NAA)处理牛膝的结果与此基本相符. 各组处理对牛膝根

长均无显著影响,对牛膝地下部分生物量的积累均呈显著的正效应,其中  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  MJ(T4)处理最有利于牛膝地下部分生物量的积累,其次为 T2( $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA)处理.牛膝的根是主要的药用部分,这对于提高其产量具有重要的实践意义.

植物生长物质不仅能影响植物的生长,对细胞次级代谢产物的积累也有重要的影响<sup>[22]</sup>.不同的研究表明,IBA,NAA,6-BA,MJ以及不同种类、不同比例植物生长物质协同处理植物,均可使控制合成三萜类化合物相关基因的表达上调,从而促进三萜类物质的合成<sup>[23-26]</sup>.前人多利用细胞悬浮培养、植物组织培养、盆栽苗等为实验材料研究 IBA、NAA、6-BA、MJ 单独或协同处理对植物中三萜类物质合成的影响,本研究通过应用不同组合植物生长物质对牛膝大田栽培苗进行处理,得到了相似的结果.除 T4 处理外,其余各处理组的牛膝根中齐墩果酸的总量均有所增加,其中 T3 处理组与 CK 相比差异达显著水平,比 CK 增加了 17.7% ( $P < 0.05$ ),说明  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 协同处理可促进牛膝根中齐墩果酸的积累.在植物次生代谢过程中,植物激素起着诱导信号传导的作用,对次生代谢过程中各种酶的合成和活性具有调节作用<sup>[10]</sup>. $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 协同处理可能促进了牛膝三萜皂苷代谢途径中关键酶基因的表达,增强了相关酶的合成量及活性,从而促进了牛膝根中三萜皂苷的积累.其作用机理还有待于进一步研究.相同的植物生长调节剂对不同次生代谢产物积累的影响不同.本研究结果表明,不同植物生长物质组合处理对牛膝根中蜕皮甾酮的总量均呈显著的正效应,影响由大到小为:T2,T3,T1,T4,而 T2 和 T3 间并没有显著性差异,对牛膝根中蜕皮甾酮总量增幅最大,达到 81.5%和 59.8%.表明  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 和  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 处理对牛膝根中蜕皮甾酮的积累最有利.

中药属于复杂性科学体系,药性是其整体化学成分的协同综合作用结果<sup>[27]</sup>.因此,综合考虑各项指标, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  MJ(T4)处理虽然最有利于牛膝地下部分生物量的积累,但对根中三萜皂苷和蜕皮甾酮的积累并不是最佳的处理. $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA (T3)处理无论是对牛膝的生长发育还是对三萜皂苷和蜕皮甾酮的积累均比对照组 CK 有显著性提高,最有利于牛膝药材产量和品质的提高.

## 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会.中国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:72-73.
- [2] 胡正海.药用植物的结构、发育与药用成分的关系[M].上海:上海科技出版社,2014.
- [3] 潘瑞炽,董愚得.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2012.
- [4] 宋运贤,石晶莹,薛建平.大量元素和植物生长物质对怀牛膝愈伤组织生长及多糖量的影响[J].中草药,2009,40(1):135-137.
- [5] 王平,王海霞,马英姿,等.蛻壳花椒叶片不定芽诱导与内源激素的变化规律[J].中草药,2008,39(9):1400-1403.
- [6] 孙玉新,郭亚勤,吴慧贞,等.植物外源激素对丹参生长和丹参酮类物质积累的影响[J].中草药,2010,41(5):813-818.
- [7] 陶龙兴,王熹,黄效林,等.植物生长调节剂在农业中的应用及发展趋势[J].浙江农业学报,2001,13(5):322-326.
- [8] Waseem K, Jilani M S. Rapid plant regeneration of chrysanthemum (*chrysanthemum morifolium* L.) through shoot tip culture[J]. African Journal of Biotechnology, 2009,8(9):1871-1877.
- [9] 朱敏,邓穗生,何书强,等.NAA 和爱多收对海南“贵妃”杧产量和果实品质的影响[J].中国农学通报 2015,31(1):116-121.
- [10] 房翠萍,王维婷,王志芬,等.植物激素对丹参毛状根生长和丹参酮生物合成的影响[J].中药,2011,34(5):661-664.
- [11] Wang Y, Wu L F, Yu Z L. The role of jasmonic acid and methyl jasmonate in plant induced disease resistance[J]. J Biol, 2007,17(1):11-12.
- [12] Bonfill M, Mangas S, Moyano E, et al. Production of centellosides and phytosterols in cell suspension cultures of *Centella asiatica*[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2011,104:61-67.
- [13] Mangas S, Bonfill M, Osuna L, et al. The effect of methyl jasmonate on triterpene and sterol metabolisms of *Centella asiatica*, *Ruscus aculeatus* and *Galphimia glauca* cultured plants[J]. Phytochemistry, 2006,67(8):2041-2049.
- [14] Sirvent T, Gibson D. Induction of hypericins and hyperforin in *Hypericum* L. in response to biotic and chemical elicitors[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 2002,60(6):311-320.
- [15] Li J T, Hu Z H. Accumulation and Dynamic Trends of Triterpenoid Saponin in Vegetative Organs of *Achyranthes bidentata* BL[J]. J integr Plant Biol, 2009,51(2):122-129.
- [16] 李金亭,滕红梅,胡正海.牛膝营养器官中蜕皮甾酮的积累动态研究[J].中草药,2007,38(10):1570-1575.
- [17] 韩锦峰,赫冬梅,刘华山,等.不同植物激素处理方法对烤烟内烟碱含量的影响[J].中国烟草学报,2001,7(2):22-25.
- [18] Sun J W, Zhang H, Wang F Y, et al. Effects of methyl jasmonate on accumulation and release of main tropane alkaloids in liquid cul-

- tures of *Datura stramonium* hairy root[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(11):1712-1718.
- [19] 赵普庆,童富淡,王俏梅. 生长素信号转导研究进展[J]. *细胞生物学杂志*, 2004, 26(2):113-118.
- [20] 李金亭,张元昊,郭晓双,等. 吡啶丁酸对怀牛膝幼苗生长及谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2014, 42(3):105-108.
- [21] 孙玉新,郭亚勤,吴慧贞,等. 植物外源激素对丹参生长和丹参酮类物质积累的影响[J]. *中草药*, 2010, 41(5):813-818.
- [22] Meyer H J, Standen J. The in vitro production of an anthocyanin from cell cultures of *Oxalis linearis*[J]. *Plant cell tissue and organ culture*, 1995, 40:55-58.
- [23] Luo H M, Zhu Y J. Transcriptional data mining of *Salvia miltiorrhiza* in response to methyl jasmonate to examine the mechanism of bioactive compound biosynthesis and regulation[J]. *Physiologia Plantarum*, 2014, 152(2):241-255.
- [24] Wang X Y, Cui G H, Huang L Q, et al. Effects of methyl jasmonate on accumulation and release of tanshinones in suspension cultures of *Salvia miltiorrhiza* hairy root[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(4):300-302.
- [25] Wu S Q, Yu X K, Lian M L, et al. Several factors affecting hypericin production of *Hypericum perforatum* during adventitious root culture in airlift bioreactors[J]. *Acta Physiologica Plantarum*, 2014, 36(4):975-981.
- [26] Wang Q J, Zheng L P. Propagation of *Salvia miltiorrhiza* from hairy root explants via somatic embryogenesis and tanshinone content in obtained plants[J]. *Industrial Crops and Products*, 50:648-653.
- [27] 孙国祥,王真,金杰,等. 中药红外光谱指纹图谱专家系统网格(TCM-IRFP-ESG)构建与应用[J]. *中南药学*, 2009, 7(8):622-625.

## Effects of plant growth substance on Growth and Major Medicinal Components Accumulation of *Achyranthes bidentata* Bl

LI Jinting, QI Wanzhen, HAN Xueping, WANG Can, LIU Xueyuan, LIU Yajing, MA Yaying

(College of Life Sciences; Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, University of Henan Province, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** The effect of plant growth substance on the growth and major medicinal components of *Achyranthes bidentata* Bl. was investigated by spraying cultured seedlings with different combinations of exogenous hormones and phytochemical method. The results showed that  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  MJ (T4) coordination treatment significantly promoted underground biomass increasing in *A. bidentata*.  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA (T3) coordination treatment was benefit for oleanolic acid accumulation in root, whereas  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA (T2) and  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA (T3) treatment also significantly promoted ecdysterone accumulation in roots. Taking into account of each index in this experiment,  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA (T3) treatment was advantageous to growth, the oleanolic acid and ecdysterone total contents increasing in root of *A. bidentata*, and are beneficial to the improvement the output and quality of *A. bidentata* crude drug.

**Keywords:** *Achyranthes bidentata* Bl.; plant growth substance; biological characteristics; oleanolic acid; ecdysterone