

李晓东,徐世千,张建国,等. 苯丙氨酸、茉莉酸甲酯对百里香不定芽基础代谢及精油提取率的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):245-249.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.069

苯丙氨酸、茉莉酸甲酯对百里香不定芽基础代谢及精油提取率的影响

李晓东¹, 徐世千^{1,2}, 张建国², 鲁朝辉¹, 于 燕³

(1. 深圳职业技术学院化工学院, 广东深圳 518055; 2. 华南农业大学农学院, 广东广州 510641;

3. 深圳职业技术学院继续教育与培训学院, 广东深圳 518055)

摘要:以离体培养的百里香不定芽为材料,研究添加不同浓度苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MJ)对不定芽生长过程中基础生理代谢、精油提取率的影响。结果表明:添加供试浓度 Phe、MJ 显著提高了百里香不定芽中可溶性蛋白、可溶性糖含量,其含量随着 Phe、MJ 浓度的上升呈先上升后下降的趋势;适宜浓度的 Phe、MJ 增强不定芽中 SOD、POD、PAL 活性,抑制 PPO 活性,且具有明显的浓度效应,其中添加 100 mg/L Phe、150 mg/L MJ 效果最佳。在此基础上,提取了百里香精油,添加 100 mg/L Phe、150 $\mu\text{mol/L}$ MJ 的提取率分别为 0.42%、0.39%,分别比对照(0.31%)高 35.5%、25.8%。

关键词:苯丙氨酸;茉莉酸甲酯;百里香;生理代谢;精油提取率

中图分类号: S567.23*9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0245-05

百里香(*Thymus vulgaris* L.)是唇形科(Lamiaceae)百里香属(*Thymus*)多年生芳香植物,是一种重要的芳香和药用植物,同时也可作为环保、观赏以及蜜源植物,极具开发价值^[1]。百里香植株花茎叶可提取芳香油,百里香精油是重要的天然香料、天然防腐剂以及天然抗氧化剂,具有广泛的商业价值^[2-4],其主要成分百里酚、香芹酚可以预防和治疗人类疾病^[5];同时百里香提取物还具有化感作用^[6-7],有望成为新型的生物除草剂。百里香精油的市场需求日益增大,但是野生百里香资源有限,而且栽培百里香的生长周期长且提取率很低。因此,人们开始尝试利用各种途径提高次生代谢产物的产量,其中刺激剂的利用是最有效的方法之一。

收稿日期:2015-03-06

基金项目:广东省深圳市科技项目(编号:2109k3070009)。

作者简介:李晓东(1969—),男,陕西安康人,博士,教授,从事园林植物基因工程与植物组织培养研究。Tel: (0755)26019170;E-mail: lixiaodong@szpt.edu.cn。

本试验结果表明,种源对丹参的各项指标有部分影响,海拔则对生理生化指标有一定影响,对丹参的农艺性状有极显著的影响,结果为更深入研究提供了一定参考。由于受试验地区和种源的影响,本试验仅对河南省范围内的丹参育苗进行了研究。

参考文献:

- [1] 周 燕. 丹参的药理作用与临床应用效果观察[J]. 大家健康:下旬版,2015,9(2):45.
- [2] 王引权,王 艳,陈红刚,等. 海拔梯度对药用植物品质形成影响的研究进展[J]. 中国现代中药,2012,14(5):41-44.
- [3] 乔富廉. 植物生理学实验分析测定技术[M]. 北京:中国农业科

学技术出版社,2002.

苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)是植物必需的一种氨基酸,它可以作为碳源以及通过参与蛋白质的合成来影响植物的生长发育;同时,在植物细胞的次生代谢中,苯丙氨酸还是合成一些木质素、生物碱、黄酮、异黄酮以及香豆素等次生物质的前体^[8]。茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MJ)是一类新确认的植物内源生长调节物质,它能调节植物体保护酶活性及次生代谢酶类活性,促进基因表达,诱导蛋白质及次生物质的合成^[9]。已有研究表明,用 10 $\mu\text{mol/L}$ 苯丙氨酸处理大豆悬浮细胞 48 h 后,悬浮细胞中大豆素含量增加为对照细胞的 1.3 倍,同时染料木素含量增加为对照的 1.38 倍^[10]。罗建平等报道,用 200 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯处理怀槐悬浮培养细胞 9 d 后,可以使悬浮细胞中的异黄酮含量增加 417.18%^[11]。本研究主要探讨不同浓度的苯丙氨酸、茉莉酸甲酯处理对百里香不定芽中 SOD、POD、PPO、PAL 等保护酶活性以及可溶性蛋白、可溶性糖含量的影响,从而筛选出最佳添加浓度并进行精油的提取,为利用苯丙氨酸、茉莉酸甲酯调控百里香次生代谢产物含量提供理论依据。

学技术出版社,2002.

- [4] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [5] 李俊清. 森林生态学[M]. 北京:高等教育出版社,2006:371.
- [6] 张兴国,王义明,罗国安,等. 丹参品种资源特性的研究[J]. 中草药,2002,33(8):742-747.
- [7] 田 伟,谢晓亮,彭卫欣,等. 不同丹参种质田间比较试验[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(1):22-24.
- [8] 张红瑞,李志敏,高致明,等. 裕丹参变异类型分析[J]. 河南农业大学学报,2007,41(4):421-424.
- [9] 舒志明,梁宗锁,孙 群,等. 不同丹参种质生物学性状比较与评价[J]. 西安文理学院学报:自然科学版,2007,10(2):24-29.
- [10] 杨新杰,万德光,林贵兵,等. 不同种源丹参异地引种后质量分析[J]. 成都医学院学报,2011,6(4):291-295.

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为百里香 (*Thymus vulgaris* L.) 不定芽, 品种名为冬季百里香。

1.2 材料培养与处理

百里香不定芽培养的对照培养基为 MS + 0.25 mg/L NAA + 0.25 mg/L 6-BA, 附加 0.6% 琼脂, 3% 蔗糖; 在对照培养基中分别添加 50、100、150、200、250 mg/L 苯丙氨酸组成 5 水平的苯丙氨酸处理培养基; 在对照培养基中分别添加 50、100、150、200、250 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯组成 5 水平的茉莉酸甲酯处理培养基。灭菌前调节 pH 值至 5.8 ~ 6.0, 其中苯丙氨酸、茉莉酸甲酯采用过滤灭菌, 每种培养基接种 20 瓶, 每瓶接种 0.5 g 不定芽, 培养室温度 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 光照度 2 000 ~ 2 500 lx, 光照周期 12 h/d。

1.3 生理指标的测定

百里香不定芽生长 60 d 后, 取各个处理的芽体较幼嫩部分 0.5 g 进行生理指标的测定, 每个处理 3 次重复。采用考马斯亮蓝 G-250 测定可溶性蛋白鲜质量含量; 蒽酮比色法测定可溶性糖鲜质量含量; 依据超氧化物歧化酶 (SOD) 抑制氮蓝四唑 (NBT) 在光照下的还原程度来确定活性的大小, 1 min 抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个 SOD 活性单位 (U); 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法测定, 以 1 min $D_{470\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U); 多酚氧化酶 (PPO) 采用儿茶酚法测定, 以 1 min 内 $D_{525\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U); 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 采用紫外吸收法测定, 以 1 min $D_{290\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U)。以上生理指标的测定均参照王学奎的方法^[12]。

1.4 精油的提取

切取百里香全苗, 于自然条件下阴干, 然后粉碎并置于 1 L 圆底烧瓶中, 按 1 g : 10 mL 料液比加入蒸馏水。采用水蒸气蒸馏法, 蒸馏时间为微沸 3.0 ~ 3.5 h, 将挥发油经正己烷萃取, 保存于 2 mL Agilent 样品瓶中, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测。

1.5 数据分析

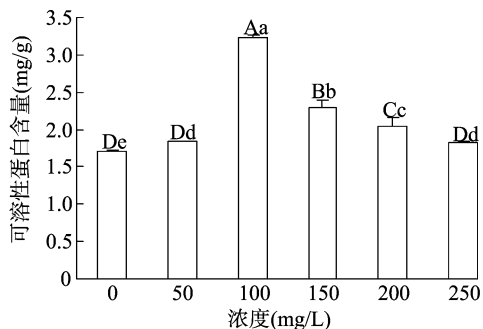
试验数据经整理后输入 Excel 2007 进行处理, 应用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析和 LSD 多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同刺激剂浓度对百里香不定芽中可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响

2.1.1 苯丙氨酸浓度对百里香不定芽中可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响 由图 1 可以看出, 添加 50 ~ 250 mg/L Phe 均不同程度地提高了不定芽中可溶性蛋白的含量, 且添加物处理与对照相比, 均达到了显著差异 ($P < 0.05$); 当加入 100 mg/L Phe 时, 不定芽中的可溶性蛋白质的鲜质量含量达到最高值 3.21 mg/g, 比对照极显著提高了 87.48% ($P < 0.01$); 当增加 Phe 的浓度时, 其增加的幅度在下降。由此可知, Phe 的最佳浓度为 100 mg/L, 可溶性糖含量反映了体内作为有效营养物的碳水化合物和能量水平。

由图 2 可以看出, 添加 Phe 后对不定芽中可溶性糖的影响与可溶性蛋白的影响相似, 各个 Phe 浓度的处理的可溶性



不同处理间标有不同小写、大写字母分别表示差异显著 ($P < 0.05$)、极显著 ($P < 0.01$)。下同

图1 不同浓度的苯丙氨酸对百里香不定芽可溶性蛋白含量的影响

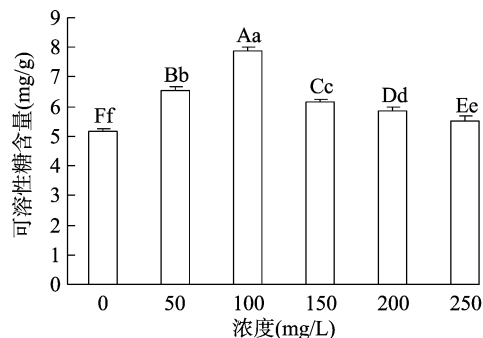


图2 不同浓度苯丙氨酸对百里香不定芽可溶性糖含量的影响

糖含量均显著高于对照组, 其中 100 mg/L Phe 可溶性糖的鲜质量含量高达 7.89 mg/g, 极显著高于其他处理。

2.1.2 茉莉酸甲酯浓度对百里香不定芽中可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响 由图 3 可以看出, 在 MJ 处理下, 极大地提高了不定芽中可溶性蛋白含量, 说明添加 MJ 后细胞代谢更加活跃, 促进了蛋白质的大量合成。在 50 ~ 150 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度范围内, 随着 MJ 浓度的升高, 促进作用增强; MJ 浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ 时, 可溶性蛋白含量达到最大值 7.66 mg/g, 为对照的 4.44 倍; 当浓度超过 150 $\mu\text{mol/L}$ 后, 其促进作用又开始下降, 因此 MJ 最佳添加浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ 。

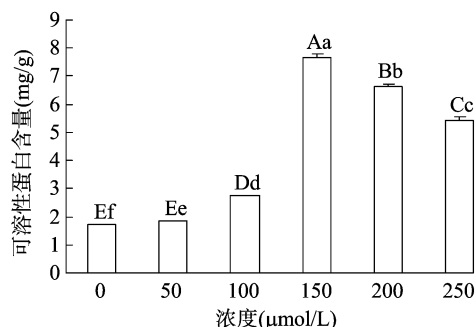


图3 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽可溶性蛋白含量的影响

由图 4 可以看出, 与对照相比, 所有添加物处理都达到了极显著差异且大部分处理之间都达到了极显著差异 ($P < 0.01$), 添加物处理的促进作用随着浓度的升高呈现出先上升后下降的规律变化, 当 MJ 添加浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ 时, 不定芽中可溶性糖含量达到最高值 (7.69 mg/g, FW), 比对照极显著提高 49.19% ($P < 0.01$)。

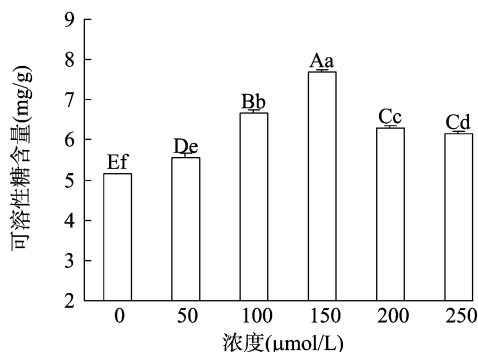


图4 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽可溶性糖含量的影响

2.2 不同刺激剂对百里香不定芽中 SOD、POD、PPO、PAL 活性的影响

2.2.1 苯丙氨酸对百里香不定芽中 SOD、POD 活性的影响

由图 5 可以看出,添加一定浓度 Phe 后,诱导了 SOD 活性增强,随着浓度的升高,SOD 活性表现为先增强后减弱的变化趋势,存在 1 个最佳浓度 100 mg/L,其值高达 723.12 U/(g·min),约为对照的 1.09 倍。当 Phe 浓度超过 100 mg/L 时,其促进作用随着浓度的升高而下降;当浓度为 250 mg/L 时,SOD 活性明显减弱,且显著弱于对照 ($P < 0.01$),说明高浓度的 Phe 抑制了不定芽中 SOD 活性,使不定芽的抗氧化能力下降。

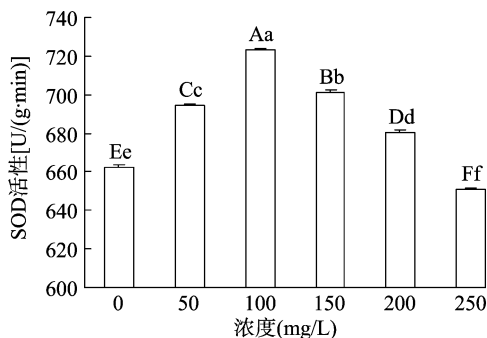


图5 不同浓度的苯丙氨酸对百里香不定芽 SOD 活性的影响

由图 6 可以看出,所有添加物处理均不同程度地提高了不定芽中 POD 活性,与对照相比都达到了显著差异。随着 Phe 浓度的上升,POD 活性的变化与 SOD 活性变化相似,也呈现出先增强后减弱的趋势。当添加浓度为 100 mg/L 时,POD 活性最强,达到 87.60 U/(g·min),约为对照的 2.87 倍。说明添加 Phe 后改善了植株的生理代谢,增强了 POD 活性,在一定程度上抑制了细胞因膜脂过氧化作用而引起的伤害。

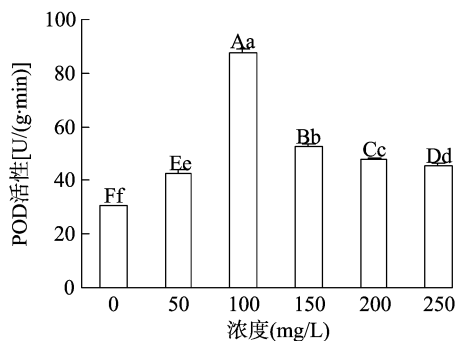


图6 不同浓度的苯丙氨酸对百里香不定芽 POD 活性的影响

2.2.2 苯丙氨酸对百里香不定芽中 PPO、PAL 活性的影响

由图 7 可以看出,不同浓度的 Phe 对 PPO 的影响具有明显的差异,随着 Phe 浓度的升高,PPO 活性呈现出先下降后上升的变化趋势。在 50 ~ 200 mg/L 的浓度范围内,PPO 的活性极显著低于对照,其中 100 mg/L Phe 处理的 PPO 活性最弱,为 1.94 U/(g·min),比对照极显著降低了 53.76% ($P < 0.01$),说明添加适宜浓度的 Phe 后有效缓解了不定芽在生长后期的褐化现象。但当浓度增加至 250 mg/L 时,其 PPO 活性迅速增强,并且高于对照,说明高浓度的 Phe 能诱导 PPO 活性增强,使得不定芽褐化加重。

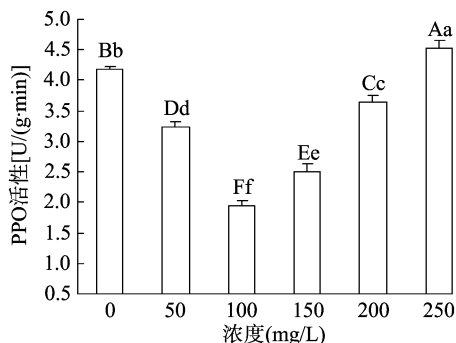


图7 不同浓度的苯丙氨酸对百里香不定芽 PPO 活性的影响

由图 8 可以看出,在不同浓度的 Phe 处理下,PAL 活性极显著强于对照,说明 Phe 的添加诱导了 PAL 活性的增强,从而有利于不定芽次生代谢物质的合成和积累。随着 Phe 浓度的升高,PAL 活性的变化趋势与 PPO 活性的变化趋势相反,PAL 活性表现为先增强后减弱的趋势,存在一个最佳浓度 (100 mg/L),其 PAL 活性高达 14.92 U,极显著高于其他处理,约为对照的 9.62 倍。

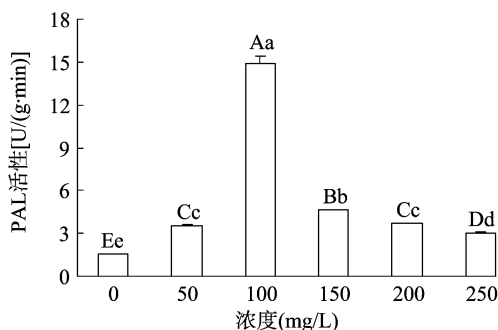


图8 不同浓度的苯丙氨酸对百里香不定芽 PAL 活性的影响

2.2.3 茉莉酸甲酯对百里香不定芽中 SOD、POD 活性的影响

由图 9 可以看出,就浓度效应来看,低浓度 MJ 极显著地提高了不定芽中 SOD 活性,但高浓度 MJ (250 μmol/L) 却也极显著地抑制了 SOD 活性,MJ 对 SOD 活性增强存在一个最佳浓度,即 150 μmol/L,其 SOD 活性高达 725.49 U/(g·min),约为对照的 1.09 倍。

由图 10 可以看出,添加不同浓度的 MJ 后都不同程度地增强了不定芽中的 POD 活性,其中 50 ~ 200 μmol/L 浓度处理显著高于对照处理 ($P < 0.05$),其中 150 μmol/L MJ 处理的 POD 活性最高,比对照显著增强 40.55%。250 μmol/L MJ 处理与对照差异不显著。

2.2.4 茉莉酸甲酯对百里香不定芽中 PPO、PAL 活性的影响

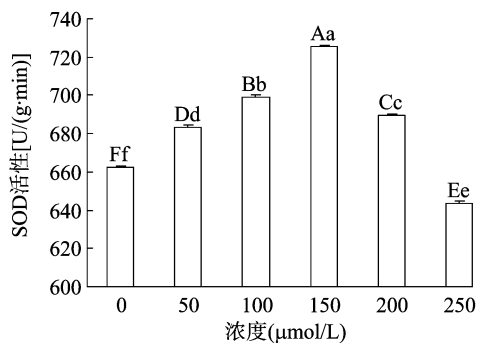


图9 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽 SOD 活性的影响

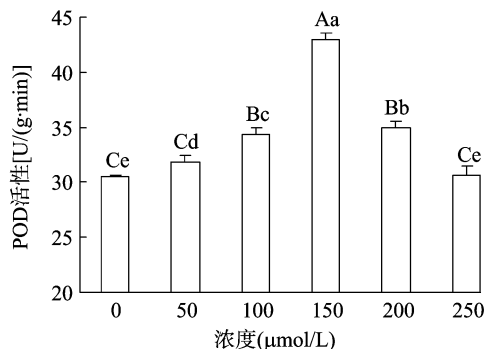


图10 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽 POD 活性的影响

由图 11 可以看出,在 50 ~ 200 μmol/L 浓度范围内,PPO 活性极显著地低于对照,说明 MJ 的添加诱导了 PPO 活性的降低,从而可以缓解不定芽的褐化,延长不定芽的生长期。当 MJ 的浓度为 150 μmol/L,其 PPO 活性极显著低于其他处理;当继续增加 MJ 浓度,PPO 活性又开始上升,当浓度增加到 250 μmol/L 时,PPO 活性显著高于对照,说明高浓度 MJ 可能使不定芽的褐化程度加重。

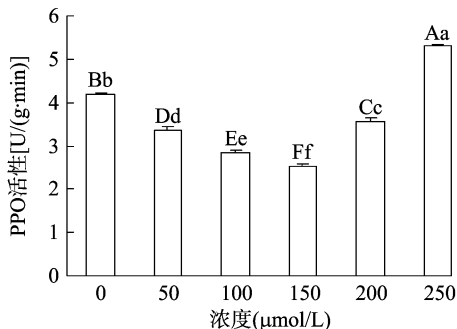


图11 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽 PPO 活性的影响

由图 12 可以看出,当添加 MJ 后,显著增强了不定芽的中 PAL 活性,促进了不定芽次生代谢的发生。在 50 ~ 150 μmol/L 浓度范围内,PAL 活性随着 MJ 浓度的升高而增强;但在 150 ~ 250 μmol/L 浓度范围内,PAL 活性随着 MJ 浓度的升高而降低,说明 150 μmol/L 为 MJ 的最佳添加量,其 PAL 活性最强,高达 9.33 U/(g·min),约为对照的 14.72 倍。

综上所述,当添加 Phe、MJ 浓度分别为 100 mg/L、150 μmol/L 时,无论是不定芽的生物量、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量还是代谢途径中的各种酶活性都达到最佳水平,因此确定 Phe、MJ 调控百里香不定芽代谢的最适浓度分别为

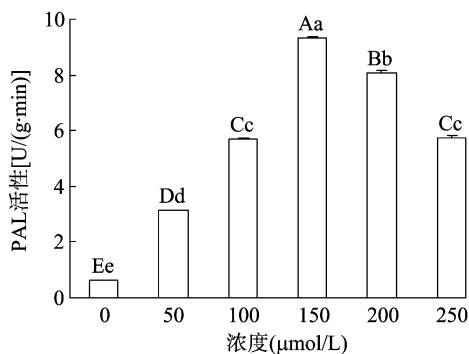


图12 不同浓度的茉莉酸甲酯对百里香不定芽 PAL 活性的影响

100 mg/L、150 μmol/L。

2.3 不同刺激剂对百里香精油提取率的影响

本试验进一步研究了最佳添加浓度的 100 mg/L Phe、150 μmol/L MJ 对百里香精油提取率的影响。其中,添加 100 mg/L Phe、150 μmol/L MJ、未添加任何物质的百里香不定芽中百里香精油的提取率分别为 0.42%、0.39%、0.31%,所得精油均含有松油味以及特殊香气,颜色无明显差别,均为金黄色,且经 GC-MS 联用仪分析,3 种样品精油均含有百里香酚、香芹酚、对伞花烩、石竹烯等百里香精油的主要化学成分。可见,经 100 mg/L Phe、150 μmol/L MJ 处理后促进了百里香不定芽精油的合成,其提取率分别比对照高 35.5%、25.8%。

3 结论与讨论

近年来,随着植物组织和细胞培养技术的快速发展,关于如何利用刺激剂来胁迫植物细胞合成和积累次生代谢物已成为生物学家研究的热点^[13]。很多研究已经证明,生物的和非生物的刺激剂能有效调节次生代谢途径,促进目标次生代谢产物的高水平合成。如在甘草悬浮培养体系中添加 10 mg/L 水杨酸可以显著提高甘草总黄酮的含量^[14];徐立新等报道,在人参毛状根培养基中添加 0.001 mmol/L 茉莉酸甲酯可以促进人参皂苷的积累^[15];翟雪霞等发现,在培养基中加入 10 mg/L 苯丙氨酸,不仅可以明显促进红豆杉愈伤组织的生长,并且能显著提高紫杉醇含量,使其值高达 0.224%^[16]。本试验结果表明,添加 50 ~ 250 mg/L 苯丙氨酸和 50 ~ 250 μmol/L 茉莉酸甲酯都能提高百里香不定芽的增殖系数,促进生物量的大量积累,为植株进行次生代谢奠定物质基础。

刺激剂的添加不仅使细胞积极合成了植物防卫的次生代谢物质,如植保素、木质素等,同时也启动或加强了特定的次生代谢途径,而引起细胞的代谢变化,而这些代谢过程的发生主要是通过酶类的调控来实现的,蛋白质含量的变化恰好反映了这些酶类的量变过程,其含量的高低可间接反映各种代谢活动的强弱^[17]。王军妮在桑树试管苗培养时加入刺激剂 Phe 后,蛋白质的含量发生了明显的变化:桑叶中可溶性蛋白含量随苯丙氨酸浓度的升高而升高^[18]。本试验结果显示,添加不同浓度的 Phe、MJ 后都不同程度地促进了百里香不定芽中可溶性蛋白质的含量,以 100 mg/L Phe、150 μmol/L MJ 为最佳添加浓度,说明添加 Phe、MJ 后增强了百里香不定芽中各种代谢活动,促进了次生代谢产物的合成和积累。

糖类是影响植物组织培养成功与否的关键因素之一,糖

的种类和用量不仅影响培养物生长量和生长速度,并且影响其代谢水平和次生代谢产物的合成^[18]。本试验结果表明,在适宜浓度的 Phe、MJ 刺激下,百里香不定芽中的可溶性糖含量显著升高,使不定芽因碳源充足而快速生长;同时,可溶性糖还具有渗透调节的作用,从而影响不定芽次生代谢产物的合成。

已有研究证明,刺激剂加入到细胞培养体系后,大量自由基的产生诱发了自由基防御体系中酶保护系统的显著变化,以实现细胞自身的保护^[13]。本试验结果显示,添加适宜浓度的 Phe、MJ 能使不定芽 SOD、POD 活性显著增强,其中 100 mg/L Phe、150 $\mu\text{mol/L}$ MJ 效果最佳,说明添加这 2 种刺激剂有利于酶活性的表达,可以减轻活性氧积累,提高保护酶活性,使不定芽表现出更强的抗氧化能力,有效缓解各种胁迫对植物不利的影响,维持其正常的生理代谢功能。

PAL 存在于所有绿色植物中,是苯丙烷代谢途径的关键酶,催化 L-苯丙氨酸解氨生成反式肉桂酸^[19],程小萍等研究发现,酵母寡聚糖刺激剂可促进丹参细胞内 PAL 活性的增强,有利于丹参酮等次生代谢产物的合成^[20]。严文文等也报道,在含有 CoCl_2 的 MS 培养基中添加茉莉酸甲酯可以提高烟草愈伤组织中的 PAL 活性^[21]。本试验结果表明,与 CK 相比,添加适量 Phe、MJ 后,能增强百里香不定芽中的 PAL 活性,且随着浓度的上升,其活性增强的幅度在上升,其中 100 mg/L Phe、150 $\mu\text{mol/L}$ MJ 处理的 PAL 活性分别达到 14.92、9.33 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$,极显著高于其他处理,说明适宜浓度的 Phe、MJ 改善了百里香不定芽的生理代谢,促进了其次生代谢产物的积累。

百里香作为重要的芳香植物,其精油的应用价值高,但是目前关于离体培养条件下如何提高其精油含量的研究甚少。本试验通过苯丙氨酸、茉莉酸甲酯 2 种刺激剂对百里香不定芽生长增殖,不定芽中 SOD、POD、PPO、PAL 活性以及可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响,筛选出最佳苯丙氨酸(100 mg/L)、茉莉酸甲酯(150 $\mu\text{mol/L}$)的添加浓度,在此基础上,进行精油的提取,其精油得率有所提高,分别比对照高 35.5%、25.8%,且精油的质量良好,其主要化学成分没有变化,均含有百里香酚、香芹酚、对伞花烃、石竹烯等百里香精油的主要化学成分,这为进一步调控百里香次生代谢途径、提高精油含量打下了一定的基础。

参考文献:

- [1] 张继,田玉汝,刘忠旺,等. 百里香属植物研究进展[J]. 北方园艺,2010(1):226-228.
- [2] Grosso C, Figueiredo A C, Burillo J, et al. Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles; comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation[J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(14): 2211-2218.
- [3] Lopez-Reyes J G, Spadaro D, Gullino M L, et al. Efficacy of plant

- essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples *in vivo*[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2010, 25(3): 171-177.
- [4] Dawidowicz A L, Rado E, Wianowska D. Static and dynamic superheated water extraction of essential oil components from *Thymus vulgaris* L. [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(17): 3034-3042.
- [5] Pavela R, Vrchotová N, Tríska J. Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) [J]. Parasitology Research, 2009, 105(5): 1365-1370.
- [6] 张燕. 亚洲百里香对杂草化感作用的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2008.
- [7] 张秀珍. 东北百里香组织培养再生体系的建立及化感作用研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2010.
- [8] 欧阳光察, 薛应龙. 植物苯丙烷类代谢的生理意义及其调控[J]. 植物生理学通讯, 1988(3): 9-16.
- [9] 蔡昆争, 董桃杏, 徐涛. 茉莉酸类物质(JAs)的生理特性及其在逆境胁迫中的抗性作用[J]. 生态环境, 2006, 15(2): 397-404.
- [10] 梁晓芳, 朱学艺, 李红芳. 前体和诱导子对大豆悬浮细胞中异黄酮积累的影响[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2009, 48(1): 113-118.
- [11] 罗建平, 夏宁, 沈国栋. 茉莉酸甲酯、水杨酸和一氧化氮诱导怀槐悬浮细胞合成异黄酮及细胞结构变化[J]. 分子细胞生物学报, 2006, 39(5): 438-444.
- [12] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 167-204.
- [13] 李俊, 彭正松. 刺激剂对植物细胞悬浮培养的影响[J]. 广西植物, 2005, 25(4): 341-348.
- [14] 杨英, 何峰, 季家兴, 等. 外源水杨酸对悬浮培养甘草细胞中甘草黄酮积累的影响[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(3): 504-506.
- [15] 徐立新, 赵寿经, 梁彦龙, 等. 外源调节物质对人参毛状根生长及皂苷合成的影响[J]. 吉林大学学报:工学版, 2010, 40(6): 1619-1623.
- [16] 翟雪霞, 李友勇. 几种氨基酸前体物对红豆杉愈伤组织的生长和紫杉醇含量的影响[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(10): 2494-2496.
- [17] 刘世琦, 邢禹贤. 三种瓜类子房发育初期可溶性糖、Pr 及 POD 活性的变化[J]. 园艺学报, 2002, 29(5): 454-456.
- [18] 王军妮. 桑树黄酮类化合物代谢调控研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2008.
- [19] 程水源, 陈昆松, 刘卫红, 等. 植物苯丙氨酸解氨酶基因的表达调控与研究展望[J]. 果树学报, 2003, 20(5): 351-357.
- [20] 程小萍, 刘曼西, 张一竹, 等. 酵母葡聚糖对丹参毛状根过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶的影响[J]. 生物技术, 2003, 13(6): 26-28.
- [21] 严文文, 李艳芳, 贺立红, 等. 咖啡酸和氯化钴对茉莉酸甲酯诱导抗病相关酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2003, 20(1): 67-74.