

研究报告 Original Papers

茉莉酸甲酯对丹参培养细胞中迷迭香酸生物合成及相关酶活性的影响

行冰玉, 党小琳, 张婧一, 汪波, 陈子逸, 董娟娥*

西北农林科技大学生命科学院, 陕西杨凌712100

摘要: 茉莉酸甲酯是植物细胞响应外界刺激产生的重要信号分子, 与植物次生代谢物的生物合成有关。本研究考察了茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)对丹参培养细胞中迷迭香酸(rosmarinic acid, RA)生物合成的影响。结果显示, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MeJA诱导24 h后可显著提高丹参愈伤细胞中RA的积累量及其相关酶(PAL、TAT)的活性, 在48 h时RA积累量和酶活性达到最大。布洛芬(IBU)处理可抑制MeJA对RA积累量和相关酶活性的促进作用, 外源施加MeJA可部分解除IBU对RA合成及其相关酶活性的抑制作用。说明MeJA可以显著促进丹参培养细胞中RA的生物合成, IBU抑制了MeJA合成、PAL和TAT活性, 从而导致了RA合成受阻。

关键词: 丹参; 茉莉酸甲酯; 迷迭香酸; 苯丙氨酸解氨酶; 酪氨酸氨基转移酶

Effects of Methyl Jasmonate on the Biosynthesis of Rosmarinic Acid and Related Enzymes in *Salvia miltiorrhiza* Suspension Cultures

XING Bing-Yu, DANG Xiao-Lin, ZHANG Jing-Yi, WANG Bo, CHEN Zi-Yi, DONG Juan-E*

College of Life Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: Methyl jasmonate (MeJA) is a key signaling molecule in plant cells in response to various stimuli and involve in plant secondary metabolites synthesis. In this paper, the effects of MeJA on rosmarinic acid (RA) biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* cell cultures were investigated. The results suggested that accumulation of RA and activities of PAL and TAT were significantly increased after 24 h treated with 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA, and reached the peak value at 48 h. However, a higher concentration (200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) inhibited the biosynthesis. Accumulation of RA and activities of related enzymes were inhibited by MeJA scavenger (IBU). In addition, exogenous MeJA reversed partly the inhibiting effect of IBU. The results indicated that exogenous MeJA significantly enhanced RA accumulation. IBU inhibited MeJA production, PAL and TAT activity, thereby leading to decrease in RA biosynthesis.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; methyl jasmonate; rosmarinic acid; phenylalanine ammonialyase; tyrosine aminotransferase

植物次生代谢物在生物制药、食品添加、工业制造等领域应用广泛, 人们通过提取分离来获得植物代谢产物, 但代谢物的产量低是目前面临的一个至关重要的问题(Zhao等2000)。研究发现, 生物(或非生物)诱导均能提高植物次生代谢物的产量(Yukihito等1996; Zhao等2000; Zhang等2004)。诱导子是一类能激发植物发生生理应答反应进而产生植保素的物质, 当诱导子作用于植物受体后, 激活体内的离子通道、G-蛋白和蛋白激酶等效应器, 这些效应器将诱导子信号传递给第二信使, 进一步放大, 并通过激活植物一系列与防御反应相关基因的表达从而增加植物体内次生代

谢产物的积累量(Zhao等2005)。

茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)属于茉莉酸类物质, 是细胞内与植物抗逆相关的信号分子(Zhao等2005)。MeJA可以作为一种外源诱导子提高植物体内次生代谢物的含量(Cheong和Choi 2003), 如外源施用MeJA能提高野葛毛状根中异黄酮和葛根素的合成积累量(于树宏等2002; 张春荣和李玲2003), 烟草幼苗中酸性蛋白的含量(宾金华

收稿 2013-07-10 修定 2013-10-11

资助 国家自然科学基金资助项目(31170274)和西北农林科技大学青年骨干支持计划。

* 通讯作者(E-mail: dzsys@nwsuaf.edu.cn)。

等2000)。MeJA还可以激活苯丙烷代谢途径,从而提高莨菪和甘蓝中总酚、类黄酮以及木质素等次生代谢物的含量(马杰等2013)。布洛芬(ibu)的化学名称为 α -甲基-4-(2-甲基丙基)苯乙酸,是植物细胞内MeJA合成的专一性抑制剂,能有效抑制细胞内MeJA的合成,改变了植物次生代谢相关酶基因的表达,进而影响下游次生代谢物合成的能力,在长春花愈伤细胞中,通过添加ibu影响脂氧合酶基因的表达可以有效抑制长春碱的积累(Xu等2005)。

丹参(*Salvia milltorrhiza* Bunge.)是唇形科鼠尾草属植物,其干燥的根和茎是重要的中药材,有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦等功效(中华人民共和国药典委员会2005)。丹参中含有一大类酚酸类化合物,其中迷迭香酸(rosmarinic acid, RA)具有抗氧化和保护肝脏作用,同时对皮肤过敏也有明显疗效,在制药、食品和化妆品等领域中应用广泛(刘鹰翔和计志忠1993;孙响等2005;苏平等2008)。RA由苯丙烷代谢途径衍生的咖啡酸和酪氨酸代谢途径衍生的3,4-二羟基苯乳酸通过迷迭香酸合成酶(RAS)缩合而成,两条支路上的关键酶分别是苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)和酪氨酸氨基转移酶(tyrosine aminotransferase, TAT)。研究表明,MeJA作为诱导子可以显著提高丹参毛状根中酚酸类和丹参酮类化合物的积累量(王学勇等2007;陈兆伟等2010;张顺仓等2011;李文渊等2012)、丹参幼苗丹酚酸B的积累量(李明和冯世阳2009;王春丽等2011)。本项目组利用水杨酸作为诱导子显著提高了丹参愈伤组织中RA和丹酚酸B的生物合成量(陈红艳等2012;焦蒙丽等2012)。目前对于用MeJA作为诱导子如何影响丹参培养细胞RA的合成及其相关酶(PAL、TAT)的活性尚不明确。本研究以MeJA作为诱导子促进丹参培养细胞RA的合成,并通过胞内MeJA抑制剂ibu处理,探讨MeJA对丹参培养细胞RA合成及相关酶的影响,为调节丹参RA的生物合成提供基础数据,并为其他药用植物的次生代谢调控提供理论依据。

材料与amp;方法

1 材料来源及培养

1.1 愈伤组织诱导

丹参(*Salvia milltorrhiza* Bunge.)种子(陕西天

士力植物药业有限公司丹参GAP基地)用自来水冲洗3遍,除去表面的黏物,然后进行灭菌处理。在70%乙醇(分析纯,西安三浦化学剂公司)中浸泡30 s后,无菌水清洗干净,再用0.1% HgCl₂(分析纯,利祥永业化工有限公司)灭菌15 min,无菌水冲洗干净后接种在MS培养基上,培养2个月后长出无菌苗。取(0.5×0.5) cm²大小的无菌苗叶片接种于MS培养基上,光照培养1个月后长出愈伤组织。每升培养基中含蔗糖30 g、琼脂粉5.5 g,生长调节物质(NAA、6-BA和2,4-D的终浓度均为1.0 mg·L⁻¹)。培养温度(25±2) °C,光照时间12~16 h,光照度25~37.5 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1.2 细胞悬浮培养

将愈伤组织继代培养3代后,按照愈伤组织与培养液1:15 (g·mL⁻¹)的比例转接到MS液体培养基中(不含生长调节物质),在黑暗条件下悬浮培养。培养温度为25 °C,摇床转速为125 r·min⁻¹。

2 MeJA和ibu处理

待转接后的悬浮培养细胞生长到6 d时,分别按照实验设定的浓度和时间处理。

MeJA诱导:将MeJA (Sigma公司)用10%的甲醇-水溶液(V/V)配置成2 mmol·L⁻¹的溶液,用0.22 μm微孔滤膜过滤后,按照实验设计量加入到培养液中,获得终浓度为10、50、100、150和200 μmol·L⁻¹的MeJA处理组(以蒸馏水代替MeJA处理为空白对照组)。分别在处理后的1、2、6、24、48和72 h取样,检测丹参培养细胞中RA的积累量和PAL、TAT的活性。

ibu处理:将ibu (Sigma公司)用蒸馏水配置成5 mmol·L⁻¹的溶液(10%甲醇-水溶液助溶),用0.22 μm微孔滤膜过滤后,按照实验设计量加入到培养液中,获得终浓度为100 μmol·L⁻¹的ibu处理组(以蒸馏水处理为空白对照组)。分别在处理后的1、2、6、24、48和72 h取样,检测丹参培养细胞中RA的积累量和PAL、TAT的活性。ibu与MeJA共同处理时,先用100 μmol·L⁻¹的ibu预处理30 min后再添加MeJA。

3 迷迭香酸的提取和含量检测

采用超声波提取法提取迷迭香酸(焦蒙丽等2012)。收获丹参悬浮培养物,在1 130×g离心后收集培养物,在40 °C真空干燥器中干燥至恒量。称取0.05 g干粉,加入1 mL的70%甲醇-水(V/V)溶液,

超声提取45 min, 7 600×g离心10 min, 上清液经0.45 μm的微孔滤膜过滤, 待检测。

色谱条件如下。色谱柱: WondaSil C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸(35:65:0.1, V/V/V), 流动相使用前过滤和脱气; 检测波长: 285 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。迷迭香酸含量按照下式计算(焦蒙丽等2012):

$$C = \frac{3.399x}{g} \times 10^{-8}$$

式中: C 为迷迭香酸的含量(mg·g⁻¹, DW); x 为样品的色谱峰面积; g 为样品干重(g)。

4 酶活性检测

4.1 PAL活性检测

按照焦蒙丽等(2012)的方法。取新鲜的培养物, 用蒸馏水冲洗后, 快速用吸水纸吸干材料表面水分。称取1.0 g放入预冷的研钵中, 加入5 mL的4 °C下预冷的提取介质, 冰浴下迅速研磨匀浆后, 定容至8 mL。4 °C条件下, 9 690×g离心15 min, 上清液用于酶活性测定。酶的检测体系包括: 0.5 mL酶液、2 mL硼酸缓冲液(pH 8.8)、1 mL 0.02 mol·L⁻¹的L-苯丙氨酸和1 mL蒸馏水。将检测体系于37 °C水浴中保温60 min, 然后加入0.2 mL 6 mmol·L⁻¹的HCl终止反应。290 nm下测定吸光度, 以每分钟OD值变化0.01为1个酶活单位(U)。酶活性按以下公式计算:

$$\text{PAL活性} \left[U \cdot (gFW \cdot h)^{-1} \right] = \frac{A_{290} \times V_t \times v}{0.01 \times V_s \times FW \times t}$$

式中, V_t : 提取粗酶液总体积(mL), v : 反应液总体积(mL), V_s : 测定时取酶液的体积(mL), FW : 样品鲜重(g), t : 反应时间(h)。

4.2 TAT活性测定

按照焦蒙丽等(2012)的方法。取新鲜的培养物, 用蒸馏水冲洗后, 快速用吸水纸吸干表面的水分。称取0.5 g材料放入预冷的研钵中, 加入3 mL在4 °C下预冷的提取介质, 冰浴下迅速研磨成匀浆后, 定容至5 mL。在4 °C条件下, 9 690×g离心15 min, 上清液用于酶活性测定。检测体系包括: 0.5 mL酶液、3 mL 0.2 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.6)、0.2 mL 17 mmol·L⁻¹ α-酮戊二酸、0.2 mL 88 mmol·L⁻¹酪氨酸、0.1 mL 0.2 mmol·L⁻¹ VB₆。检测体系于37 °C水浴中保温30 min, 加入0.5 mL 10 mmol·L⁻¹的

NaOH溶液, 继续在37 °C条件下水浴30 min。331 nm波长处测定吸光度, 以每分钟OD值变化0.01为1个酶活单位(U)。酶活性按以下公式计算:

$$\text{TAT活性} \left[U \cdot (gFW \cdot h)^{-1} \right] = \frac{A_{331} \times V_t \times v}{0.01 \times V_s \times FW \times t}$$

式中, V_t : 提取粗酶液总体积(mL), v : 反应液总体积(mL), V_s : 测定时取用粗酶液体积(mL), FW : 样品鲜重(g), t : 反应时间(h)。

实验结果

1 MeJA对丹参细胞中RA积累量的影响

不同浓度的MeJA诱导丹参愈伤组织不同时间后RA合成量的变化如图1所示。

10~150 μmol·L⁻¹ MeJA对丹参培养细胞中RA的合成积累均有促进作用, 但诱导效果并没有随MeJA处理浓度的增大而增加, 而是呈现最适浓度型特征。10~150 μmol·L⁻¹ MeJA诱导6 h时极显著提高了RA的合成量, 48 h时RA积累量达最大; 诱导后72 h, RA积累量虽有所降低, 但也显著高于对照组。200 μmol·L⁻¹ MeJA诱导效果较10~150 μmol·L⁻¹的差, 且在诱导48 h后导致RA含量急剧下降。以上结果表明, 10 μmol·L⁻¹的MeJA诱导效果较佳, 高浓度(200 μmol·L⁻¹)的MeJA诱导长时间后RA的合成量下降。因此, 后续实验采用10 μmol·L⁻¹的MeJA处理。

2 IBU对丹参细胞中RA积累量的影响

IBU是植物细胞内MeJA产生的专一性抑制剂。IBU对丹参细胞中RA积累量的影响如图2所示。用100 μmol·L⁻¹ IBU处理丹参培养细胞, 与对照组相比, 在处理后的1、6和24 h, RA的合成积累量均显著低于对照组。用IBU和MeJA共处理1 h时, 共处理组丹参细胞中RA的含量低于对照组水平, 为MeJA诱导组的56.18%; 共处理6 h时, 共处理组中RA的积累量略高于对照组; 共处理24 h时, 共处理组RA的合成水平急剧增加, 显著高于对照组水平, 为对照组水平的270.21%, 略低于MeJA诱导组水平。

3 MeJA对丹参细胞中PAL、TAT活性的影响

3.1 MeJA对PAL活性的影响

不同浓度的MeJA对丹参培养细胞中PAL活性的影响见图3。10~200 μmol·L⁻¹的MeJA处理均提高了丹参培养细胞中PAL的活性。10~150 μmol·L⁻¹

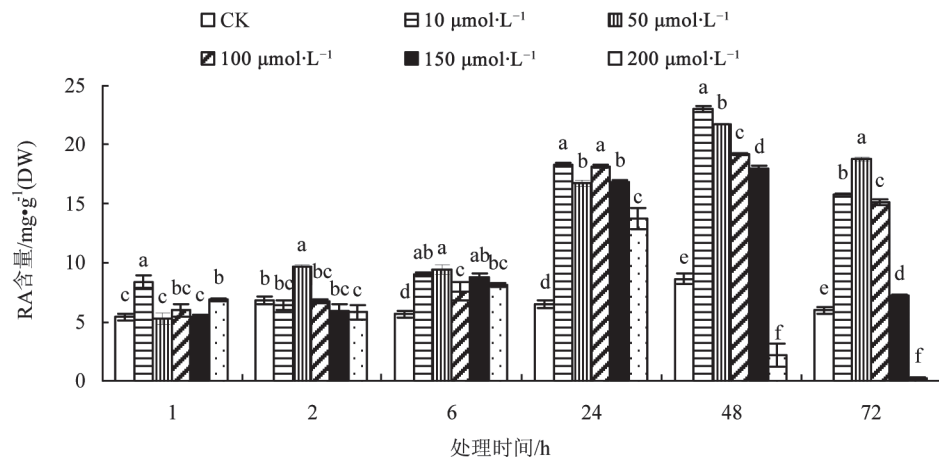


图1 茉莉酸甲酯对丹参培养细胞中RA积累量的影响

Fig.1 Effects of MeJA on the accumulation of RA in *S. miltiorrhiza* cell cultures

试验材料为6 d龄的丹参悬浮培养细胞, 图中所示数值为3次试验结果的平均值($\bar{x} \pm s$), 不同字母表示在5%水平上有显著差异($P < 0.05$), 下同。

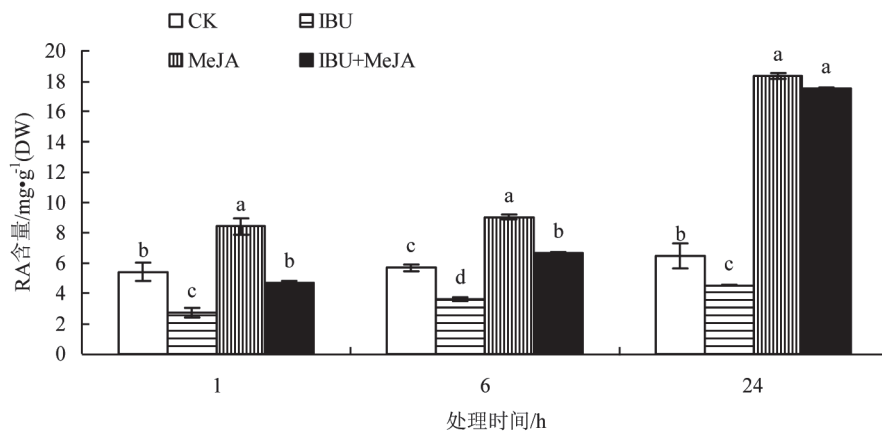


图2 IBU对丹参愈伤组织中RA积累量的影响

Fig.2 Effects of IBU on the accumulation of RA in *S. miltiorrhiza* cell cultures

IBU在诱导子处理前30 min添加, 图5和图6同此。

的MeJA作用6 h可显著提高PAL的活性, 在24 h时达到峰值, 之后活性逐渐降低, 但也显著高于对照组; 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA诱导PAL活性较其他浓度的低, 而且在24 h后急剧降低, 72 h时与对照组相当。10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA在诱导24 h时使丹参愈伤组织中PAL活性达到最大。

3.2 MeJA对TAT活性的影响

不同浓度的MeJA对丹参悬浮细胞中TAT活性的影响见图4。10~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MeJA在处理1~24 h内TAT活性逐渐增强; 处理24 h时, 酶活性达到峰值, 之后逐渐降低; 在处理72 h时又有上升的趋势。150和200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MeJA作用24 h出现

高峰后急剧下降, 48 h后低于对照组活性。100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA诱导丹参组织24 h时TAT活性达最大。

4 IBU对PAL、TAT活性的影响

4.1 IBU对PAL活性的影响

IBU处理及IBU和MeJA共处理均显著影响了PAL活性(图5)。用浓度为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBU和10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA处理丹参培养细胞1 h时, IBU处理组与对照组诱导PAL活性水平相当, MeJA诱导组PAL活性显著升高, 而共处理组活性显著低于对照组; 处理6 h时, 共同处理组PAL活性略高于对照组但明显低于MeJA组; 处理24 h时, 共同处理组的

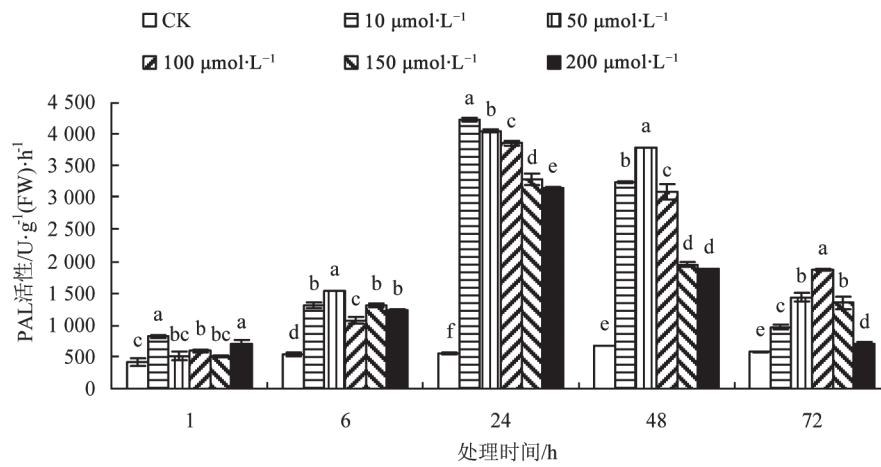


图3 茉莉酸甲酯对丹参愈伤组织中PAL活性的影响

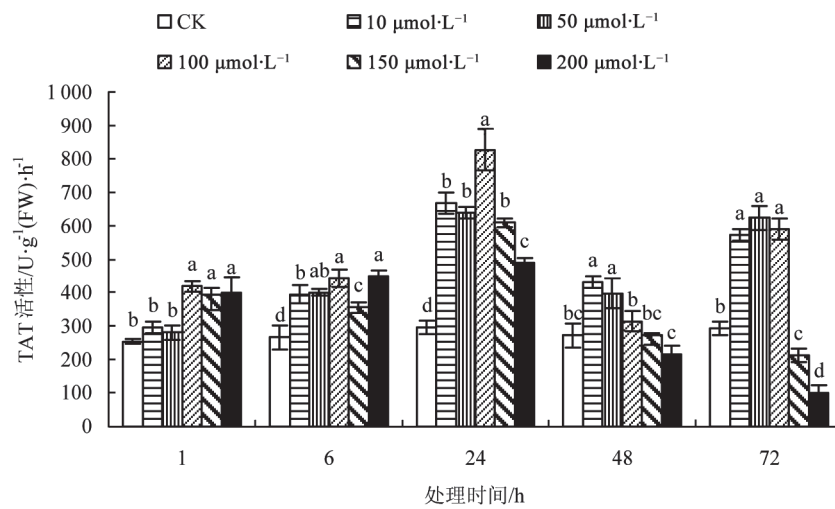
Fig.3 Effects of MeJA on the PAL activity in *S. miltiorrhiza* cell cultures

图4 茉莉酸甲酯对丹参愈伤组织中TAT活性的影响

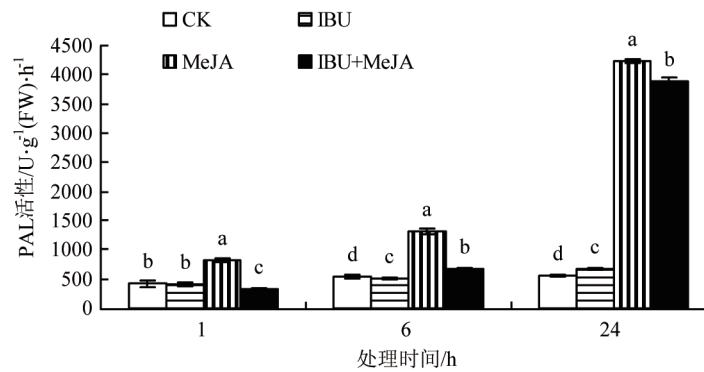
Fig.4 Effects of MeJA on the TAT activity in *S. miltiorrhiza* cell cultures

图5 IBU对丹参愈伤组织中PAL活性的影响

Fig.5 Effects of IBU on the PAL activity in *S. miltiorrhiza* cell cultures

PAL活性显著高于对照组和IBU处理组而显著低于MeJA诱导组。

4.2 IBU对TAT活性的影响

IBU处理对TAT活性也产生了显著的影响(图6)。用 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBU、 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA分别或共处理丹参培养细胞1 h时, IBU处理组与对照组

的TAT活性水平相当, 共处理组活性显著低于对照组; 在处理6 h时, IBU处理组显著低于对照组, 活性显著上升, 共处理组与对照组的TAT活性差异不显著, 但显著低于MeJA处理组; 处理24 h时, IBU处理组TAT活性依然低于对照组, 共同处理与对照组的TAT活性差异不显著。

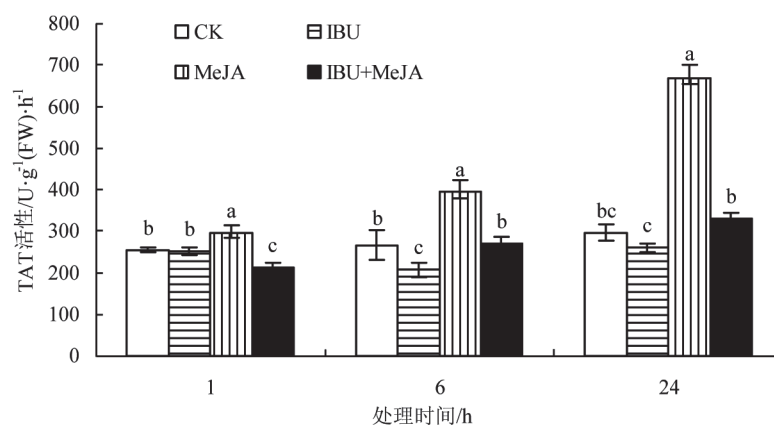


图6 IBU对丹参愈伤组织中TAT活性的影响

Fig.6 Effects of IBU on the TAT activity in *S. miltiorrhiza* cell cultures

讨 论

植物在正常生长的过程中, 诱导子被广泛用于提高细胞内次生代谢物的含量, 主要通过影响代谢途径中相关酶的活性来有效调节代谢途径(Sharma等2013; Hou等2013)。非生物诱导子MeJA能提高怀槐、莴苣和月季中异黄酮、总酚和花青素的积累量(罗建平等2006; 马杰等2013; Ram等2013)。本试验中, 外源MeJA能有效促进丹参愈伤细胞中RA含量的增加, 图1显示了一定时间和浓度范围内, MeJA的诱导效果随诱导浓度和时间而增强。可见MeJA对RA合成的诱导具有最佳浓度型的特点, 且浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 诱导24 h后RA积累量最大。

MeJA不仅能作为外源物质诱导植物产生次生代谢物, 也可以在植物体内通过茉莉酸经茉莉酸羧基甲基转移酶合成(Santino等2013; 李清清等2010), 对植物的生长和抗病起调节作用(Castrillón-Arbeláez等2012; 张智慧等2010)。本研究通过添加抑制植物细胞中MeJA生物合成的IBU后发现, 丹参悬浮细胞中RA的生物合成量减少, 这与IBU

对长春花中次生代谢物长春碱的作用结果相一致(Xu等2005), 当同时加入MeJA和IBU时, RA的生物合成量低于MeJA处理, 说明IBU抑制了MeJA诱导内源产生的MeJA, 使RA合成量降低。可见, 外源MeJA能诱导丹参愈伤组织内MeJA的产生, MeJA作为信号分子传递外界刺激产生应激反应, 引起了细胞内RA合成积累量的增加。

MeJA在提高植物次生代谢物含量时, 也能有效调节代谢相关酶的活性(吴文华等1997; Sircar等2008)。本试验中, 外源施加MeJA能增强丹参愈伤细胞中PAL和TAT酶的活性, 且在诱导24 h达最大。IBU处理后代谢酶活性降低, 当同时加入MeJA和IBU时, PAL和TAT的活性均低于MeJA处理。说明MeJA诱导酚酸类化合物的合成过程中PAL和TAT起了关键的作用。

综上, 外源MeJA可以提高丹参愈伤细胞中内源MeJA的含量, 并能激活PAL和TAT酶的活性, 来促进酚酸类化合物RA的合成量, PAL和TAT在MeJA诱导酚酸类化合物的合成过程中起了关键的作用。然而, 仅通过本文的研究结果还无法解释MeJA如何通过激活RA合成相关酶进一步促进RA

的生物合成, 还需利用分子手段进行研究揭示其内在机制。本研究对今后利用诱导子提高丹参悬浮培养细胞中其他酚酸类化合物的含量具有重要的指导意义。

参考文献

- 宾金华, 姜胜, 黄胜琴, 潘瑞焱(2000). 茉莉酸甲酯诱导烟草幼苗抗炭疽病与PAL活性及细胞壁物质的关系. 植物生理学报, 26 (1): 1~6
- 陈红艳, 刘连成, 董娟娥, 夏广东(2012). H₂O₂参与水杨酸诱导丹参培养细胞中丹酚酸B合成的信号转导. 生物工程学报, 28 (7): 834~846
- 陈兆伟, 张金家, 赵淑娟, 王峥涛, 胡之璧(2010). 茉莉酸甲酯对丹参毛状根中水溶性酚酸类化合物积累的影响. 中国药理学杂志, 45 (13): 970~974
- 焦蒙丽, 曹蓉蓉, 陈红艳, 郝文芳, 董娟娥(2012). 水杨酸对丹参培养细胞中迷迭香酸生物合成及其相关酶的影响. 生物工程学报, 28 (3): 320~328
- 李明, 冯世阳(2009). 茉莉酸甲酯对丹参茎叶丹酚酸和丹酚酸B含量的影响. 时珍国医国药, 20 (8): 1921~1923
- 李清清, 李大鹏, 李德全(2010). 茉莉酸和茉莉酸甲酯生物合成及其调控机制. 生物技术通报, (1): 53~57
- 李文渊, 高伟, 赵静(2012). 基于茉莉酸甲酯诱导的丹参毛状根酚酸类成分次生代谢机制研究. 中国中药杂志, 37 (1): 13~16
- 刘鹰翔, 计志忠(1993). 迷迭香酸药理作用的研究进展. 国外医药. 植物药分册, 8 (6): 248~251
- 罗建平, 夏宁, 沈国栋(2006). 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. 分子细胞生物学报, 39 (5): 438~442
- 马杰, 胡文忠, 毕阳, 蒋爱丽, 萨仁高娃(2013). 茉莉酸甲酯处理对鲜切莴苣和甘蓝苯丙烷代谢的影响. 食品工业科技, 34 (7): 333~336
- 苏平, 王根女, 吴丹, 盛雪飞(2008). 迷迭香酸的生理活性功能及其来源研究. 食品发酵与工业, 34 (12): 135~138
- 孙岫, 汪靖超, 李洪涛, 杜桂彩, 郭道森(2005). 迷迭香酸的抗菌机理研究. 青岛大学学报, 18 (4): 41~45
- 王春丽, 梁宗锁, 李殿荣, 杨建利(2011). 茉莉酸甲酯和水杨酸对丹参幼苗中蔗糖代谢和酚酸类物质积累的影响. 西北植物学报, 31 (7): 1405~1410
- 王学勇, 崔光红, 黄璐琦, 邱德有(2007). 茉莉酸甲酯对丹参毛状根中丹参酮类成分积累和释放的影响. 中国中药杂志, 32 (4): 300~302
- 吴文华, 潘瑞焱(1997). 茉莉酸甲酯对水稻幼苗叶片中贪睡化合物含量及苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性的影响. 植物生理学通讯, 33 (3): 178~180
- 于树宏, 李玲, 潘瑞焱, 范庆书(2002). 茉莉酸甲酯和ABA对野葛毛状根中异黄酮含量的影响. 植物生理学通讯, 38 (4): 344~346
- 张春荣, 李玲(2003). 水杨酸、茉莉酸甲酯和乙烯利对野葛西边悬浮培养生产葛根素的影响. 植物资源与环境学报, 12 (1): 56~57
- 张顺仓, 刘岩, 沈双, 梁宗锁, 杨东风(2011). 诱导子对丹参毛状根酚酸类和丹参酮类成分积累的影响. 中国中药杂志, 36 (10): 1269~1273
- 张智慧, 聂燕芳, 何磊, 李云锋, 王振中(2010). 外源茉莉酸甲酯诱导水稻抗瘟性相关防御酶和内源水杨酸的变化. 植物病理学报, 40 (4): 395~403
- 中华人民共和国药典委员会(2005). 中国药典. 北京: 化学工业出版社: 53
- Castrillón-Arbeláez P, Martínez-Gallardo N, Arnaut H, Tiessen A, Délano-Frier J (2012). Metabolic and enzymatic changes associated with carbon mobilization, utilization and replenishment triggered in grain amaranth (*Amaranthus cruentus*) in response to partial defoliation by mechanical injury or insect herbivory. BMC Plant Biol, 12 (1): 163~185
- Cheong JJ, Choi YD (2003). Methyl jasmonate as a vital substance in plant. Trends Genet, 9 (7): 409~413
- Hou XM, Shao FJ, Ma YM (2013). The phenylalanine ammonia-lyase gene family in *Salvia miltiorrhiza*: genome-wide characterization, molecular cloning and expression analysis. Mol Biol Rep, 40 (7): 4301~4310
- Ram M, Prasad KV, Singh SK, Hada BS, Kumar S (2013). Influence of salicylic acid and methyl jasmonate elicitation on anthocyanin production in callus cultures of *Rosa hybrida* L. Plant Cell Tiss Org, 113 (3): 459~467
- Santino A, Taurino M, Domenico S D, Bonsegna S, Poltronieri P, Pastor V, Flors V (2013). Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a)biotic stresses. Plant Cell Rep, 32 (7): 1085~1098
- Sharma P, Yadav S, Srivastava A, Shrivastava N (2013). Methyl jasmonate mediates upregulation of bacoside A production in shoot cultures of *Bacopa monnieri*. Biotechnol Lett, 35 (7): 1121~1125
- Sircar D, Mitra A (2008). Evidence for p-hydroxybenzoate formation involving enzymatic phenylpropanoid side-chain cleavage in hairy roots of *Daucus carota*. J Plant Physiol, 165 (4): 407~414
- Xu M, Dong J, Zhu M (2005). Effect of Nitric Oxide on catharanthine production and growth of *Catharanthus roseus* suspension cells. Biotechnol Bioeng, 89 (3): 367~371
- Yukihito Y, Tabata H, Higashi Y, Hara Y (1996). Methyl jasmonate induced overproduction of paclitaxel and baccatin III in *Taxus* cell suspension cultures. Nat Biotechnol, 14 (9): 1129~1132
- Zhang C, Yan Q, Cheuk W, Wu J (2004). Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag⁺ elicitation and nutrient feeding. Planta Med, 70 (2): 147~151
- Zhao J, Davis LC, Verpoorte R (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnol Adv, 23 (4): 283~333
- Zhao J, Zhu WH, Hu Q, He XW (2000). Improved indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* suspension cell cultures by various chemicals. Biotechnol Lett, 22 (15): 1221~1226