

Development and Utilization of Medicinal Plant *Atractylodes lancea*

Dan Zhao, Jiayu Zhou, Chuanchao Dai*

College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Jiangsu Key Laboratory for Microbes and Functional Genomics, Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Industrialization of Microbial Resources, Nanjing Jiangsu
Email: *daichuanchao@njnu.edu.cn

Received: May. 4th, 2016; accepted: May. 21st, 2016; published: May. 30th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Atractylodes lancea is a famous Chinese genuine medicine used for thousands of years. Because of over exploitation, the storage amount of *Atractylodes lancea* reduced sharply in recent years. Therefore, *A. lancea* needs urgent protection. This paper reviews the existing resources of *A. lancea* and the problems in the medicinal cultivation, and summarizes the biotechnology tools that have been used in the production of *A. lancea*, aiming at providing reference for the development, utilization and protection of *A. lancea*.

Keywords

Atractylodes lancea, Genuine Medicine, Tissue Culture, Genetic Engineering, Microbial Engineering

药用植物茅苍术资源的开发利用现状

赵丹, 周佳宇, 戴传超*

南京师范大学生命科学学院, 江苏省微生物与功能基因组学重点实验室, 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心, 江苏 南京
Email: *daichuanchao@njnu.edu.cn

收稿日期: 2016年5月4日; 录用日期: 2016年5月21日; 发布日期: 2016年5月30日

*通讯作者。

文章引用: 赵丹, 周佳宇, 戴传超. 药用植物茅苍术资源的开发利用现状[J]. 植物学研究, 2016, 5(3): 74-82.
<http://dx.doi.org/10.12677/br.2016.53011>

摘要

药用植物茅苍术是我国著名的道地药材。由于近年来对茅苍术的肆意挖掘，导致茅苍术产量锐减，因此亟待保护。本文将综述茅苍术资源现状及人工栽培存在问题，总结生物技术手段在茅苍术药材生产中的应用，为茅苍术的开发利用和保护提供参考。

关键词

茅苍术，道地药材，组织培养，基因工程，微生物工程

1. 引言

第3次全国中药资源普查显示，我国药用植物有11,146种，约占中药资源总数的87%，是我国中药材的主要药源。除200多种药用植物成功栽培外，其余多为依靠野生资源，以满足日益增长的市场需求。于1992年公布的《中国植物红皮书》收录的398种濒危植物中，药用植物占42%，有168种。

茅苍术(*Atractylodes lancea* (Thunb) DC.)干燥根茎为著名药材苍术，为我国道地药材，具有消炎，燥湿健脾，祛风祛湿，明目等功效。随着药源性疾病增多、对健康养生重视等变化，天然药物的开发利用日益受到重视[1]。本文综述茅苍术的药材分类、道地产区、栽培存在问题及生物技术手段在苍术生产中的应用等方面的研究进展，以期为解决茅苍术资源短缺问题提供理论基础和参考方案。

2. 苍术资源现状

苍术属(*Atractylodes*)植物是菊科多年生草本植物，全世界共有七种，主要分布于亚洲东部地区。我国有朝鲜苍术(*Atractylodes coreana* (Nakai) Kitam.)，茅苍术(*Atractylodes lancea* (Thunb) DC.)，北苍术(*Atractylodes chinensis* (DC) Koidz.)，关苍术(*Atractylodes japonica* Koidz. Ex Kitam.)及白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.) [2]五种。2001年，胡世林鉴定苍术罗田亚种为茅苍术新亚种[3]。以上所列物种中茅苍术与北苍术被纳入《中华人民共和国药典》。多位学者[4] [5]从挥发油组成、RAPD技术水平上对我国苍术药材南北分类合理性进行进一步验证。茅苍术道地药材既具有类似白术的补气健脾功效，又有其他南苍术的燥湿功效。

据报道，约有80%左右的人仍依赖传统药材[6]。苍术为我国传统大宗药材，应用范围愈加广泛。目前国内市场和出口市场对苍术需求逐年增加，而生长土地减少，加上人们对野生苍术肆意采挖，导致市场贮藏量及野生产量逐年减少，近两年供需缺口大概有5000吨/年[7]。2016年苍术统货价格每公斤36~40元左右，较2000年苍术价格提高近9到10倍。道地药材茅苍术属濒危药用植物[8]，早已不能形成商品性销售，如今中国医药市场上的苍术主要为北苍术，约占全国总量90% [7]。剩下10%中除少量为野生型茅苍术，其他为芍药根茎等混伪品或家种苍术。

3. 茅苍术道地药材

道地药材是指在特定自然条件及生态环境的地域内生产的药材，与其他群体相较具有更优质的药效[9]，所在产区即为道地产区。

苍术喜温凉、干燥气候，具耐寒耐旱能力，喜荫蔽或东坡种植，林下成活率高[10]。我国苍术分布于北纬30~32度、东经111~119度，所处海拔主要为60~1000 m。苍术分布区域随纬度由南向北过渡，北

部不适宜苍术生长及挥发油的积累[11] [12]。

产于江苏省茅山地区的苍术为道地药材，一般称为茅苍术。元朝时期《瑞竹堂经验方》的苍术丸指明用产自江苏茅山的苍术。除了化学型区别，茅苍术独特地理位置、气候条件及生态环境因子也是其道地性形成的重要影响因素[13]。茅山道地产区属于北亚热带季风气候，主要为黄棕土壤，寒暑变化明显，四季分明，加之热量充足，无霜期长，雨量充沛，光照充足等气候要素年变化较大。

茅苍术主要药效组分为挥发油类物质，约为干重 5%~9%。主成分为 β -桉叶油醇、苍术酮、茅术醇等倍半萜类化合物，以及聚乙炔类化合物苍术素。其中苍术素为收藏苍术药材的含量测定指标[14]。袁洁等[15]利用 GC-MS 分析发现 85 种组分，21 种含量高于 1%，并成功鉴定 18 种组分(见表 1)。茅苍术挥发油具有抗菌抑菌[16]、免疫调节及抗肿瘤等药理活性[17] [18]，可与多种药材配伍混合制成中成药、新药、中药饮片[19]-[21]，如藿香正气水、九味羌活口服液、苍术饮片等，也应用于饲料、兽药、杀虫剂[22]等。茅苍术还含有多糖、氨基酸、蛋白质等成分，多种新成分[23]被分离和鉴定，同时扩展了茅苍术的药效范围。

4. 茅苍术栽培现状

苍术为虫媒植物，花为雌雄同株或异株，单性花多为雌花，种子发芽率、座果率较低[24]，根茎增长缓慢[13]。单纯依靠有性繁殖，远不能满足市场对茅苍术药材的需求。有研究[25] [26]发现人工种子繁殖、分株繁殖、根茎繁殖可有效保护其种质资源。

Table 1. Main components of volatile oil of *A.lacea*

表 1. 茅苍术挥发油主成分[22]

编号	化合物名称	分子式	分子量
1	1-乙基-3-(1-丙烯基)金刚烷	C ₁₅ H ₂₄	204.35
2	β -广藿香烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
3	十氢-4 α -甲基-1-亚甲基-7(1-甲基亚乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	204.35
4	δ -愈创木烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
5	反-丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
6	(1Z,4Z,7Z)-1,5,9,9 四-甲基-1,4,7-环十(三)烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
7	1-6-(1,5-二甲基-4-乙烯基)-4-甲基-苯	C ₁₅ H ₂₂	202.34
8	姜烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
9	β -倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
10	氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35
11	茅术醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37
12	β -桉叶油醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37
13	苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	216.32
14	β -雪松烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35
15	苍术素	C ₁₃ H ₁₀ O	182.22
16	亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.43
17	δ -生育酚	C ₂₇ H ₄₆ O ₂	402.65
18	γ -生育酚	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416.68

茅苍术易染根结线虫病[27]，黑斑病，轮纹病、枯萎病、软腐病及白绢病等病症[28]，这些病菌侵染可致植株死亡，严重影响苍术质量和产量。目前主要通过药剂防治，也可幼苗时施加内生菌、盾壳霉等生物菌[29]进行生物防治。

组织培养可以大量扩繁茅苍术，而长期无性繁殖易使物种缺少基因交流，致品种活力退化。药材和粮食作物栽培差别在于，药材既需要积累生物量，又要积累足够的活性物质。道地药材的形成从生物学上来说是基因型与环境共同决定的产物[11]。虽然江苏有茅苍术种植基地，但人工栽培技术不成熟，仍存在传统中药配方疗效改变等问题。因此，需要使用生物技术手段来优化生产。

5. 生物技术手段在茅苍术生产中的应用

通过化学合成途径或直接从植株中提取药用活性成分，成本过高且影响环境，商业价值过低[30]。然而大量实验表明，植物生物技术如组织培养、细胞培养、基因工程及微生物生产应用等都可以高效控制生产质量[31]，获得目标产物。通过深入研究机理并配合优化培养手段可获得大量目标产物，有效缓解茅苍术药材市场供求不平衡。

5.1. 组织培养与细胞工程

5.1.1. 组织培养

巢建国等人初步研究了茅苍术快速繁殖的组织培养方法，根据不同种激素(6-BA、NAA、IAA、IBA、KT)及配比选出最佳分化培养基、生根培养基(表 2)，各组实验结果显示，各组培养基均可建立比较完整的无性繁殖体系，为茅苍术的快速繁殖研究提供了初步的科学依据。实验结果表明培养基中激素含量及各成分比例不同显著影响植株分化生根。在继代培养中，过高或过低浓度生长素及细胞分裂素组合不利于诱导组培苗芽[32]。

宋艳娇等人[36]研究发现茅苍术生长初期大量消耗蔗糖以建成自养器官。茅苍术未成熟种胚培养可保证发芽率，且炼苗成活率高于 90% [37]。

以上研究为茅苍术组织扩繁技术研究奠定基础。元素[38]及激素[39]等培养基成分对于植株的次级代谢产物积累具有重要作用，我们的研究发现培养基中大量元素的含量配比也会影响茅苍术挥发油组分积累。

Table 2. The ratio of hormone content in the tissue culture medium

表 2. 组织培养培养基中相关激素含量配比

	MS (×)	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	IAA (mg/L)	IBA (mg/L)	KT (mg/L)	参考文献
分化 培养基	1	3	0.4				[33]
	1	2.0			0.4		[34]
	1	3.0			0.4		[34]
	1	1.0	0.4			0.4	[35]
生根 培养基	1/2		0.3				[33]
	1			0.5			[34]
	1		0.5				[34]
	1/2		0.5				[35]

5.1.2. 细胞培养及毛状根

细胞悬浮培养研究可为植物细胞大规模培养提供基础[31]。高密度细胞群体一方面可生产特定成分；另一方面可进行植物细胞代谢、生化特征等研究，以筛选突变体、人工种子等[40]。在制药工业中，一些价格高、产量低、需求量大化合物，如白藜芦醇[41]、紫杉醇[42]、青蒿素等植物组织代谢产物已有大量悬浮细胞研究。

方芳[43]首次建立茅苍术悬浮细胞系，培养周期内仅检测到 β -桉叶醇，然而施加真菌诱导子后，检测出苍术酮、苍术醇、 β -桉叶油醇及苍术素，表明通过条件优化，茅苍术悬浮细胞能够提高活性成分的产量。随后多项实验[44] [45]证实建立悬浮细胞系制备有效成分方法可行。

毛状根体系具备同样效果[46]，如人参皂苷的获得。袁媛等[47]探究诱导苍术不定根条件时证实 IBA 显著促进不定根生长。

但植物细胞培养存在两个阶段[48]：生物量积累阶段与代谢产物积累阶段。一般植物细胞培养产量不高，生产目标产物能力主要取决于培养条件[49]（激素、糖分、温度等）和诱导子或前体的施加，与物种关系不大[50]。除以上培养基和种质的选择外，培养的外界条件也影响组织培养中培养物生物量和代谢物的产量。

5.1.3. 诱导培养

生物与非生物诱导子，可调节植株、植物悬浮细胞系中相应酶基因表达量，从而增加目标产物积累量[51]。

非生物诱导是指非细胞天然成分，如化学因子茉莉酸甲酯[52]、水杨酸等和物理因子如高温、低温等。Yuan 等人[53]发现酸性土壤增加茅苍术根部密度及干重，刺激 β -桉叶油醇的产生，而主根长度较短。

生物诱导子多选用植物内生菌[54]。内生菌能够共生定殖宿主体内，且不引发明显病症。真菌诱导子作为信号调节关键酶表达[51] [55]。很多天然有效成分如紫杉醇的生产过程中已应用内生真菌诱导子[54]。真菌诱导子诱导植物特定代谢途径具有明显种属特异性。吕立新等[56]发现不同种苍术有特异性内生菌，表明茅苍术的道地性与内生菌特异性相关。当茅苍术内生真菌回接，与宿主茅苍术重新建立共生关系，可明显提高组培苗的生根率、炼苗成活率，增强抗逆性[57]，改变茅苍术挥发油主成分含量[58]。高温胁迫下，AM 真菌更易定殖于苍术根茎，作为诱导子促生长[59]。

以上结果表明添加诱导子可作为调节茅苍术药材品质的手段，能够保护茅苍术种质资源和植株扩繁。

多项实验[60]-[64]对内生菌诱导子诱导茅苍术植株、悬浮细胞等培养物挥发油积累信号通路进行了研究。施加真菌诱导子活化的 Ca^{2+} -CaM 途径与油菜素内酯(Br)，皆可诱导一氧化氮(NO)和过氧化氢(H_2O_2)信号分子的增加，NO 处于水杨酸(SA)和 H_2O_2 上游，茉莉酸(JA)为 H_2O_2 和 NO 下游信号分子，JA 与 H_2O_2 显著刺激限制酶 HMGR 基因表达，进而促进挥发油产生。SA 信号通路与 JA 信号通路存在互补互动。研究发现，这一过程涉及多种信号机制，诱导目的基因表达上调或下调，如 HMGR 和 DXR [65] (见图 1)，介导挥发油产生。通过诱导薄荷 DXR 合酶过表达，植株挥发油产量提高了 50%，不同单萜的比率不变[66]。

近几年来，研究人员主要集中于诱导子介导宿主茅苍术生理生化机制、次生代谢成分产生方面研究。

5.2. 基因工程

茅苍术挥发油主成分是倍半萜类物质。倍半萜类生物合成[30]主要通过胞质中甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径，关键酶为 HMGR；质体中 2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸(2C-methyl-D-erythritol 4-phosphate, MEP)途径，也会有部分倍半萜合成，关键酶为 DXP。这两个途径之间存在串扰[67]。萜类生物合成途径可分为 C5 前体异戊二烯类物质生成阶段、直接前体法尼基二磷酸等生成阶段和萜类生成及氧化、甲基化等修饰阶段[68]三个阶段。其中第三阶段决定萜类化合物多样性。

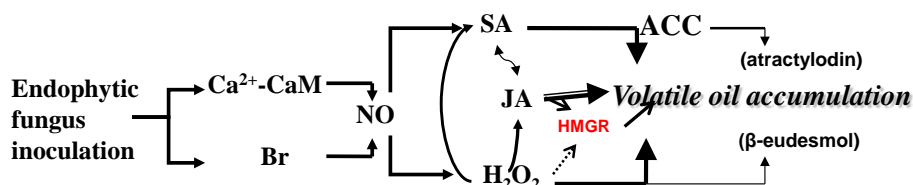


Figure 1. The signal transduction in *Atractylodes lancea* induced by endophytic fungus
图 1. 内生真菌诱导茅苍术中的信号传导

在植物基因组中，萜类合酶基因数量庞大。植物转基因工程提高萜类代谢物方法主要是“开源”与“节流”：生物合成途径关键基因的过表达[69]、转录因子调控[70]、多基因共转化；抑制竞争性代谢途径等。使用可替代的亚细胞靶向[71]能够克服了细胞质中倍半萜生产的局限性，如将小白菊大根香叶烯合酶的靶向到烟草本塞姆氏的线粒体中并瞬时表达，大根香叶烯的产量便提高了 15 倍。

了解茅苍术中倍半萜类生物合成途径，有利于我们直接调控代谢生产。然而目前对于茅苍术的倍半萜合成途径基因水平研究不多。植物细胞中存在细胞器，不同细胞器之间存在信息与物质的共享，获得一株高效、稳定株系需要花费大量时间与精力。但是此方案来高效产茅苍术次生代谢物可行。

5.3. 微生物工程

部分内生菌能够合成与宿主植物相同或者相似的活性成分[72]。微生物发酵法生产与植物细胞生产相比较，微生物的可操控性在产业化生产方面更有前景，对于解决濒危药用植物药源危机具有重大意义。然而产苍术酮等活性成分的微生物还未有报道。因此筛选产茅苍术活性成分的内生菌或其他微生物可作为茅苍术研究热点。

随着时代进步，微生物工程生产植物次生代谢产物是更高效简便的手段。如基因导入酵母基因组中可调控代谢工程生产萜类，进而可提高酵母产植物萜类物质能力[73]。青蒿素半合成成功事例[74]标志着微生物工程生产的开端：微生物工程生产得到青蒿酸，随后青蒿酸化学合成得到青蒿素。这种由生物合成目标产物前体，再通过化学合成得到最终目标产物的方法称为半合成，这种方法能够有效解决全化学合成天然产物高成本问题。

6. 总结展望

目前野生茅苍术资源稀缺，应用生物技术可以有效繁殖和保存茅苍术资源，并有望将茅苍术有效成分产业化生产。通过茅苍术组织培养技术，可深入分析代谢产物合成途径，从基因水平调控代谢途径，以高效获得目标产物。合成途径结合微生物发酵与半合成生产，也可以避免完整植株生产周期长、活性物质含量低、细胞生物反应器不完善等问题。目前茅苍术次生代谢产物生物合成途径、所涉及的酶及信号分子都还不明确，还需要对其进一步研究，才能目标明确的运用基因工程改造茅苍术植株。

近几十年来，许多学者已经进行了一系列的研究和探索，主要集中在萜类化合物的分离、鉴定，并扩展了萜类化合物应用范围，在萜类生物合成基因方面的研究取得了巨大进步。青蒿、红豆杉等药用植物的研究发现为茅苍术的研究提供了参考。茅苍术珍贵资源的开发和保护具有巨大潜力。

基金项目

国家自然科学基金(31070443)，南京市产学研项目(编号：201306019)。

参考文献 (References)

- [1] Li, W.L., Zheng, H.C., Bukuru, J. and De Kimpe, N. (2004) Natural Medicines Used in the Traditional Chinese Medi-

- cal System for Therapy of Diabetes Mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, **92**, 1-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.031>
- [2] 傅立, 陈潭, 郎楷永, 等. 中国高等植物[M]. 青岛: 青岛出版社, 2001.
- [3] 胡世林, 冯学锋, 王玠, 格小光. 中国苍术属——新亚种[J]. 植物分类学报, 2001(1): 84-86.
- [4] 郭兰萍, 刘俊英, 吉力, 黄璐琦. 茅苍术道地药材的挥发油组成特征分析[J]. 中国中药杂志, 2002(27): 814-819.
- [5] 任冰如, 贺善安. 用 RAPD 技术评估苍术居群间的亲缘关系[J]. 中草药, 2000(31): 458-461.
- [6] Abdel-Hady, M.S., Okasha, E.M., Soliman, S.S.A. and Talaat, M. (2008) Effect of Gamma Radiation and Gibberellic Acid on Germination and Alkaloid Production in *Atropa belladonna* L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **2**, 401-405.
- [7] 杨宝成. 苍术产销分析[J]. 特种经济动植物, 2013(11): 19-21.
- [8] 宗世贤, 袁昌齐. 江苏省稀有濒危药用植物的现状和保护[J]. 中国野生植物资源, 1996(1): 1-5.
- [9] 胡世林. 现代道地论概要[J]. 中国中医药信息杂志, 1995(7): 7-9.
- [10] 张燕, 杨光, 陈美兰, 朱寿东, 王凌, 郭兰萍. 不同小生境对苍术生长和 4 种挥发油的影响[J]. 中国中药杂志, 2015(21): 4142-4148.
- [11] 郭兰萍, 黄璐琦, 阎洪, 吕冬梅, 蒋有绪. 基于地理信息系统的苍术道地药材气候生态特征研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 565-569.
- [12] 郭兰萍, 黄璐琦, 蒋有绪, 刘旭拢, 潘耀忠, 吕冬梅, 张晴. 影响苍术挥发油组分的气候主导因子及气候适宜性区划研究[J]. 中国中药杂志, 2007(32): 888-893.
- [13] 贺善安, 冈田稔, 等. 茅苍术资源的保护和利用[J]. 植物资源与环境学报, 1993(1): 1-6.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 128.
- [15] Yuan, J., Zhou, J.-Y., Li, X. and Dai, C.-C. (2016) The Primary Mechanism of Endophytic Fungus *Gilmaniella* sp. AL12 Promotion of Plant Growth and Sesquiterpenoid Accumulation in *Atractylodes lancea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 1-14. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-016-0971-z>
- [16] 王宇, 戴传超, 陈晏. 茅苍术挥发油对三种内生真菌及七种外源真菌的抑菌活性[J]. 应用生态学报, 2009(11): 2778-2784.
- [17] 张明发, 沈雅琴, 朱自平, 王红武. 苍术药理研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(1): 1-3.
- [18] 詹丹丹, 张颖. 浅谈苍术药理作用及质量控制的研究进展[J]. 黑龙江医药, 2012, 25(3): 459-459.
- [19] 周军, 赵晨, 王杰. 藿香正气不同制剂中苍术素的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2012(8): 037.
- [20] 杨冬丽, 王春民, 刘井利, 徐晓伟, 李瑞敏, 王成. 颈复康制剂挥发油中苍术素含量测定及其在不同介质中稳定性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(7): 55-57.
- [21] 宋小珍. 藿香、苍术提取物复合制剂对高温应激猪小肠消化吸收的影响[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [22] Chu, S.S., Jiang, G.H. and Liu, Z.L. (2011) Insecticidal Compounds from the Essential Oil of Chinese Medicinal Herb *Atractylodes chinensis*. *Pest Management Science*, **67**, 1253-1257. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.2180>
- [23] Chen, Y., Wu, Y., Wang, H. and Gao, K. (2012) A New 9-Nor-Atractylodin from *Atractylodes lancea* and the Antibacterial Activity of the Atractylodin Derivatives. *Fitoterapia*, **83**, 199-203. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2011.10.015>
- [24] 彭华胜, 王德群. 南苍术与野生白术的开花动态研究[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(3): 20-22.
- [25] 朴锦, 王坤, 严一字, 具红光. 不同育苗措施对关苍术出苗及幼苗质量的影响[J]. 北方园艺, 2013(19): 164-167.
- [26] 张波, 王宏伟, 肖逸, 鞠群, 戴传超. 浸种及接种内生真菌对茅苍术种子发芽与幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(9): 227-230.
- [27] 徐友贵, 王小明, 田中联, 魏大为. 茅苍术根结线虫病的调查与防治研究[J]. 中药材, 1991(10): 10-12.
- [28] 徐友贵, 苏筱娟. 茅苍术病害的防治研究[J]. 中药材, 1990(7): 9-11.
- [29] Zhou, J., Zhao, X. and Dai, C. (2014) Antagonistic Mechanisms of Endophytic *Pseudomonas fluorescens* against *Athelia rolfsii*. *Journal of Applied Microbiology*, **117**, 1144-1158. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.12586>
- [30] Vickers, C.E., Bongers, M., Liu, Q., Delatte, T. and Bouwmeester, H. (2014) Metabolic Engineering of Volatile Isoprenoids in Plants and Microbes. *Plant, Cell & Environment*, **37**, 1753-1775. <http://dx.doi.org/10.1111/pce.12316>
- [31] Rao, S.R. and Ravishankar, G.A. (2002) Plant Cell Cultures: Chemical Factories of Secondary Metabolites. *Biotech-*

- nology Advances*, **20**, 101-153. [http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00007-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00007-1)
- [32] 李西腾, 吴沿友. 茅苍术的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业, 2006(2): 33-34.
- [33] 巢建国, 谈献和, 张瑜, 张莹, 庄森. 茅苍术快速繁殖[J]. 中药材, 2001, 24(7).
- [34] 刘海萍, 巢建国. 药用植物茅苍术的组织培养[J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(5): 11-13.
- [35] 李文, 谢焯明, 罗翠平, 李金华, 曾万勇. 正交设计优化南苍术快速繁殖培养基的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2): 663-666.
- [36] 宋艳娇, 吴沿友, 朱咏莉, 施倩倩. 不同类型茅苍术组培过程中蔗糖含量的无菌动态检测[J]. 江苏农业科学, 2011(1): 68-69.
- [37] 赵玉国, 吴沿友, 桑小花. 茅苍术胚培养与快速繁殖(简报)[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(3): 64.
- [38] Yu, K.-W., Gao, W.Y., Hahn, E.-J. and Paek, K.-Y. (2001) Effects of Macro Elements and Nitrogen Source on Adventitious root Growth and Ginsenoside Production in Ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer). *Journal of Plant Biology*, **44**, 179-184. <http://dx.doi.org/10.1007/BF03030349>
- [39] Nemhauser, J.L., Hong, F. and Chory, J. (2006) Different Plant Hormones Regulate Similar Processes through Largely Nonoverlapping Transcriptional Responses. *Cell*, **126**, 467-475. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.05.050>
- [40] 蒋细旺. 植物细胞工程[M]. 北京: 经济科学出版社, 2009.
- [41] Jeandet, P., Clément, C. and Courot, E. (2014) Resveratrol Production at Large Scale Using Plant Cell Suspensions. *Engineering in Life Sciences*, **14**, 622-632. <http://dx.doi.org/10.1002/elsc.201400022>
- [42] Cha, M., Shim, S.H., Kim, S.H., Kim, O.T., Lee, S.W., Kwon, S.Y. and Baek, K.H. (2012) Production of Taxadiene from Cultured Ginseng Roots Transformed with Taxadiene Synthase Gene. *BMB Reports*, **45**, 589-594. <http://dx.doi.org/10.5483/BMBRep.2012.45.10.085>
- [43] 方芳, 戴传超, 张波, 梁侨丽. 茅苍术悬浮细胞系建立及内生真菌诱导子对其挥发油积累的影响[J]. 中草药, 2009, 40(3): 452-455.
- [44] Fatima, S., Mujib, A. and Tonk, D. (2015) NaCl Amendment Improves Vinblastine and Vincristine Synthesis in *Catharanthus roseus*: A Case of Stress Signalling as Evidenced by Antioxidant Enzymes Activities. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, **121**, 445-458. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-015-0715-5>
- [45] Durante, M., Caretto, S., Quarta, A., De Paolis, A., Nisi, R. and Mita, G. (2011) β -Cyclodextrins Enhance Artemisinin Production in *Artemisia annua* Suspension Cell Cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **90**, 1905-1913. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3232-4>
- [46] Zhang, R., Zhang, B.-L., Li, G.-C., Xie, T., Hu, T. and Luo, Z.-Y. (2015) Enhancement of Ginsenoside Rg₁ in *Panax ginseng* Hairy Root by Overexpressing the α -L-Rhamnosidase Gene from *Bifidobacterium breve*. *Biotechnology Letters*, **37**, 2091-2096. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-015-1889-y>
- [47] 袁媛, 吕冬梅, 黄璐琦, 郭兰萍. 苍术不定根诱导培养的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 65-66.
- [48] Murthy, H.N., Lee, E.-J. and Paek, K.-Y. (2014) Production of Secondary Metabolites from Cell and Organ Cultures: Strategies and Approaches for Biomass Improvement and Metabolite Accumulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, **118**, 1-16. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-014-0467-7>
- [49] 郭兰萍, 黄璐琦, 阎玉凝. 土壤中无机元素对茅苍术道地性的影响[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(4): 245-250.
- [50] Expósito, O., Bonfill, M., Onrubia, M., Jané, A., Moyano, E., Cusidó, R.M., Palazón, J. and Piñol, M.T. (2009) Effect of Taxol Feeding on Taxol and Related Taxane Production in *Taxus baccata* Suspension Cultures. *New Biotechnology*, **25**, 252-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2008.11.001>
- [51] Verma, P., Khan, S.A., Mathur, A.K., Ghosh, S., Shanker, K. and Kalra, A. (2014) Improved Sanguinarine Production via Biotic and Abiotic Elicitations and Precursor Feeding in Cell Suspensions of Latex-Less Variety of *Papaver somniferum* with Their Gene Expression Studies and Upscaling in Bioreactor. *Protoplasma*, **251**, 1359-1371. <http://dx.doi.org/10.1007/s00709-014-0638-8>
- [52] Almagro, L., Perez, A.J.L. and Pedreño, M.A. (2011) New Method to Enhance Ajmalicine Production in *Catharanthus roseus* Cell Cultures Based on the Use of Cyclodextrins. *Biotechnology Letters*, **33**, 381-385. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-010-0430-6>
- [53] Yuan, Y., Liu, Y.J., Huang, L.Q., Cui, G.H. and Fu, G.F. (2008) Soil Acidity Elevates Some Phytohormone and β -Eudesmol Contents in Roots of *Atractylodes lancea*. *Russian Journal of Plant Physiology*, **56**, 133-137. <http://dx.doi.org/10.1134/S1021443709010191>
- [54] Pazzagli, L., Seidl-Seiboth, V., Barsottini, M., Vargas, W.A., Scala, A. and Mukherjee, P.K. (2014) Cerato-Platanins: Elicitors and Effectors. *Plant Science*, **228**, 79-87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.009>
- [55] Bahabadi, S.E., Sharifi, M., Chashmi, N.A., Murata, J. and Satake, H. (2014) Significant Enhancement of Lignan Ac-

- cumulation in Hairy Root Cultures of *Linum album* Using Biotic Elicitors. *Acta Physiologiae Plantarum*, **36**, 3325-3331. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-014-1700-z>
- [56] 吕立新, 王宏伟, 梁雪飞, 郝思静, 杜威, 朱虹, 戴传超. 不同化学型和季节变化对茅苍术内生真菌群落多样性的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(24): 7300-7310.
- [57] 陈佳昕, 戴传超, 李霞, 田林双, 谢慧. 茅苍术内生真菌的分离鉴定及在组培苗中的回接[J]. 广西植物, 2008, 28(2): 256-260.
- [58] 张波, 戴传超, 方芳, 陈佳昕. 三种内生真菌对茅苍术组培苗的生长及主要挥发油成分的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(4): 704-709.
- [59] 张霁, 刘大会, 郭兰萍, 金航, 杨光, 周洁. 不同温度下丛枝菌根对苍术根茎生物量和挥发油的影响[J]. 中草药, 2011, 42(2): 372-375.
- [60] 陶金华, 汪冬庚, 濮雪莲, 赵喜, 江曙. H₂O₂介导内生真菌诱导子促进茅苍术细胞 HMGR 的活化和 β -枝叶醇的生物合成[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2740-2744.
- [61] Ren, C.G., Chen, Y. and Dai, C.C. (2014) Erratum to: Cross-Talk between Calcium-Calmodulin and Brassinolide for Fungal Endophyte-Induced Volatile Oil Accumulation of *Atractylodes lancea* Plantlets. *Journal of Plant Growth Regulation*, **33**, 903-903. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-014-9430-4>
- [62] Wang, Y., Dai, C.C., Zhao, Y.W. and Peng, Y. (2011) Fungal Endophyte-Induced Volatile Oil Accumulation in *Atractylodes lancea* Plantlets Is Mediated by Nitric Oxide, Salicylic Acid and Hydrogen Peroxide. *Process Biochemistry*, **46**, 730-735. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.11.020>
- [63] 陶金华, 濮雪莲, 江曙. 内生真菌诱导子对茅苍术细胞生长及苍术素积累的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(1): 27-31.
- [64] Ren, C.G. and Dai, C.C. (2013) Nitric Oxide and Brassinosteroids Mediated Fungal Endophyte-Induced Volatile Oil Production through Protein Phosphorylation Pathways in *Atractylodes lancea* Plantlets. *Journal of Integrative Plant Biology*, **55**, 1136-1146. <http://dx.doi.org/10.1111/jipb.12087>
- [65] Wang, X.M., Yang, B., Ren, C.G., Wang, H.W., Wang, J.Y. and Dai, C.C. (2015) Involvement of Abscisic Acid and Salicylic Acid in Signal Cascade Regulating Bacterial Endophyte-Induced Volatile Oil Biosynthesis in Plantlets of *Atractylodes lancea*. *Physiologia Plantarum*, **153**, 30-42. <http://dx.doi.org/10.1111/ppl.12236>
- [66] Mahmoud, S.S. and Croteau, R.B. (2001) Metabolic Engineering of Essential Oil Yield and Composition in Mint by Altering Expression of Deoxyxylulose Phosphate Reductoisomerase and Menthofuran Synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 8915-8920. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.141237298>
- [67] Botella-Pavía, P. and Rodríguez-Concepción, M. (2006) Carotenoid Biotechnology in Plants for Nutritionally Improved Foods. *Physiologia Plantarum*, **126**, 369-381. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00632.x>
- [68] 王凌健, 方欣, 杨长青, 李建戌, 陈晓亚. 植物萜类次生代谢及其调控[J]. 中国科学: 生命科学, 2013(12): 1030-1046.
- [69] Lu, X., Zhang, L., Zhang, F., Jiang, W., Shen, Q., Zhang, L., Lv, Z., Wang, G. and Tang, K. (2013) *AaORA*, a Trichome-Specific AP2/ERF Transcription Factor of *Artemisia annua*, Is a Positive Regulator in the Artemisinin Biosynthetic Pathway and in Disease Resistance to *Botrytis cinerea*. *New Phytologist*, **198**, 1191-1202. <http://dx.doi.org/10.1111/nph.12207>
- [70] Broun, P. and Somerville, C. (2001) Progress in Plant Metabolic Engineering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 8925-8927. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.171310598>
- [71] Liu, Q., Majdi, M., Cankar, K., Goedbloed, M., Charnikhova, T., Verstappen, F.W., de Vos, R.C., Beekwilder, J., van der Krol, S. and Bouwmeester, H.J. (2011) Reconstitution of the Costunolide Biosynthetic Pathway in Yeast and *Nicotiana benthamiana*. *PLoS ONE*, **6**, e23255. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0023255>
- [72] 黎万奎, 胡之璧. 内生菌与天然药物[J]. 中国天然药物, 2005, 3(4): 193-199.
- [73] Ignea, C., Cvetkovic, I., Loupassaki, S., Kefalas, P., Johnson, C.B., Kampranis, S.C. and Makris, A.M. (2011) Improving Yeast Strains Using Recyclable Integration Cassettes, for the Production of Plant Terpenoids. *Microbial Cell Factories*, **10**, 4. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2859-10-4>
- [74] Paddon, C.J. and Keasling, J.D. (2014) Semi-Synthetic Artemisinin: A Model for the Use of Synthetic Biology in Pharmaceutical Development. *Nature Reviews Microbiology*, **12**, 355-367. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3240>