

# Study on Callus Induction and Salidroside Accumulation in *Rhodiola* L.

Guozhen Zhang<sup>1,2</sup>, Jie Xie<sup>3</sup>, Xiaobo Qin<sup>1,2,4\*</sup>, Bei Niu<sup>2\*</sup>, Dongmei Hu<sup>4</sup>, Xiaodong Shi<sup>2</sup>, Lijuan Fan<sup>1,4</sup>, Xinyi Xu<sup>5</sup>, Yifei Qin<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Sichuan Natural Resource Institute, Chengdu Sichuan

<sup>2</sup>Key Laboratory of Coarse Cereal Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu University, Chengdu Sichuan

<sup>3</sup>College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu Sichuan

<sup>4</sup>Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu Sichuan

<sup>5</sup>The Experimental High School Attached to UESTC, Chengdu Sichuan

<sup>6</sup>Chengdu Moziqiao Primary School, Chengdu Sichuan

Email: \*qxb\_2003@163.com, \*365421402@qq.com

Received: Sep. 27<sup>th</sup>, 2019; accepted: Oct. 24<sup>th</sup>, 2019; published: Oct. 31<sup>st</sup>, 2019

## Abstract

A highly effective and rapid culture system of callus was developed by cultivating callus from leaves, stems and roots of *Rhodiola* L. The design and analysis of multivariate experiments showed the optimum medium for callus induction was MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 0.1 mg/L 2,4-D. The effects of methyl jasmonate (MeJA) on callus biomass and bioaccumulation of salidroside were studied by adding MeJA. It was found that the concentration of MeJA had significant effects on callus biomass and bioaccumulation of salidroside, of which 25.0 mg/L MeJA had the best effect on callus biomass and accumulation of salidroside. Therefore, callus culture is an effective way to obtain a large number of active substances of *Rhodiola*, which provides a raw material for the production of *Rhodiola* products.

## Keywords

*Rhodiola* L., Callus, Salidroside, Plant Growth Hormone, Methyl Jasmonate

# 红景天愈伤组织诱导及红景天苷积累的研究

张国珍<sup>1,2</sup>, 谢洁<sup>3</sup>, 秦小波<sup>1,2,4\*</sup>, 牛蓓<sup>2\*</sup>, 胡冬梅<sup>4</sup>, 时小东<sup>2</sup>, 樊莉娟<sup>1,4</sup>, 徐心艺<sup>5</sup>, 秦一菲<sup>6</sup>

<sup>1</sup>四川省自然资源科学研究院, 四川 成都

<sup>2</sup>成都大学农业农村部杂粮加工重点实验室, 四川 成都

\*通讯作者。

文章引用: 张国珍, 谢洁, 秦小波, 牛蓓, 胡冬梅, 时小东, 樊莉娟, 徐心艺, 秦一菲. 红景天愈伤组织诱导及红景天苷积累的研究[J]. 植物学研究, 2019, 8(6): 438-444. DOI: 10.12677/br.2019.86055

<sup>3</sup>四川师范大学生命科学学院, 四川 成都

<sup>4</sup>四川大学生命科学学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 四川 成都

<sup>5</sup>电子科技大学实验中学, 四川 成都

<sup>6</sup>成都市磨子桥小学, 四川 成都

Email: <sup>\*</sup>qxb\_2003@163.com, <sup>\*</sup>365421402@qq.com

收稿日期: 2019年9月27日; 录用日期: 2019年10月24日; 发布日期: 2019年10月31日

## 摘要

通过对红景天叶片、茎、根产生愈伤组织的培养, 建立了培养周期短、愈伤组织生长效率高的培养体系。利用多因子正交实验设计及分析, 筛选出最佳愈伤组织诱导培养基是MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 0.1 mg/L 2,4-D。通过甲基茉莉酸的添加研究诱导愈伤组织生物量及药效物质积累的影响, 发现甲基茉莉酸浓度对愈伤组织生物量及药效物质红景天苷积累有显著影响, 其中25.0 mg/L MeJA对愈伤组织生物量及红景天苷的积累效果最好。因此, 通过培养愈伤组织是一种获得大量红景天活性物质的有效方法, 为红景天产品的生产提供一种原材料途径。

## 关键词

红景天, 愈伤组织, 红景天苷, 植物生长激素, 甲基茉莉酸

Copyright © 2019 by author(s) 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

## 1. 引言

红景天为景天科(Crassulaceae)红景天属(*Rhodiola* L.)多年生草本或亚灌木植物, 多生长在 1,700 m 海拔以上的高山苔原带的裸露岩石山上, 生存环境恶劣, 主要分布于北半球的亚北极地区, 包括北欧、中欧、亚洲和北美[1] [2] [3]。红景天具有多种药用功效, 被誉为“藏人参”, 在亚洲和欧洲国家有着很长的民间药用历史[4]。红景天属植物在全球有 90 多种, 其药用功效主要有治疗肺炎、传染病的发烧和清血管热等。近年来, 国内外对红景天属植物的研究方兴未艾, 目前已知其不仅具有抗氧化、抗疲劳类似适应原的作用, 还有抑制肿瘤的活性等功效[5] [6]。红景天在传统中医中具有“固本扶正”之功效, 具有抗缺氧、抗寒冷、抗疲劳、抗微波辐射等显著功能, 防止老年疾病等功能[7]。红景天的化学成分主要有苷类、黄酮类、香豆素类、生物碱类等, 其中研究公认的活性药效成分为红景天苷、甾元酪醇及络塞维[6] [7] [8]。

红景天大多为天然资源, 由于其生存在高寒等恶劣环境, 自然生长缓慢, 故年产量低, 同时随着其需求量的增大, 使得本来就较为稀少的野生红景天严重缺乏。为了解决这个问题, 研究人员开始从多种途径来解决红景天的需求问题[9]。红景天组织培养可以克服其自然繁殖率低、野生资源短缺等难题。有研究表明, 以植物细胞培养为材料生产次生代谢物具有培养周期短、材料均一、重复性好等优点[10]。红景天中含有大量次生代谢物, 因此, 建立稳定而具有高活力的红景天细胞愈伤组织体系对次生代谢物的生产有重要意义。本研究在红景天组织培养研究的基础上, 分析了培养条件对愈伤组织生长量以及红景天苷含量的影响, 为通过植物细胞组织培养利用红景天次生代谢产物提供理论依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 植物材料

试验所需植物材料来源于四川省藏区红景天属。

### 2.2. 外植体的处理

叶片、茎、根用清水冲洗干净，再用 75% (V/V) 酒精浸泡 1 min，用无菌水清洗 3 次，然后放入 0.5% 的氯化汞(HgCl<sub>2</sub>)溶液浸泡 3 min，最后用无菌水冲洗干净。

### 2.3. 愈伤组织的诱导和继代培养

将无菌的叶片切成 1 cm<sup>2</sup> 的小块，块中可带有中脉或是叶缘，接入愈伤组织诱导培养基。愈伤组织诱导培养基配方为如下：MS [11] + 1.0~3.0 mg/L 6-BA，或是 MS + 1.0~3.0 mg/L 6-BA + 0.1~0.4 mg/L NAA + 0.05~0.2 mg/L 2,4-D。愈伤组织诱导培养基附加有 3% 蔗糖、0.7% 琼脂粉，pH = 5.8，室温 28 ℃。叶块分为 2 组，一组置于光周期 16 h/8 h 中培养，光强 2000Lx；另一组暗培养，均培养 20 d，对比光培养与暗培养对愈伤组织的影响。愈伤组织诱导设计为 20 个叶块一个处理，3 次重复。20 d 后，将诱导出的愈伤组织切成 1.0 cm<sup>3</sup> 的小块，分成 2 组，一组接入再生培养基诱导不定芽，另一组转接入新鲜的愈伤组织诱导培养基中进行继代培养，每 20 d 重复一次，比较多次继代培养对愈伤组织的影响。

### 2.4. 甲基茉莉酸处理浓度对红景天生长和红景天苷积累的影响

为了筛选适宜的甲基茉莉酸(MeJA)浓度，在愈伤组织诱导培养基中分别加入 MeJA 5.0、25.0、50.0、100.0 mg/L，以未加 MeJA 为对照(0 mg/L)，将第 1 代愈伤组织从培养基上取出，切块称重后置入加有 MeJA 的愈伤组织诱导培养基进行培养，分别取 4、8、12 d 材料后测定生物量、红景天苷含量。

### 2.5. 生物量的测定

将收取的愈伤组织用自来无菌水冲洗 2~3 次后，洗掉附着的培养基，用灭菌滤纸吸干愈伤组织表现上的水分，称鲜物重。最后放入 40℃ 的干燥箱中烘干，48 h 后称干物重。

### 2.6. 红景天苷含量的测定

精确称取红景天苷标准品 10 mg 溶解定容至 10 mL 量瓶中，摇匀，配制成 1.0 g/L 的对照品溶液，移液器吸取前述溶液 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00 mL 置于 10 mL 量瓶中并用甲醇定容至 10 mL，分别稀释成 0.05, 0.075, 0.10, 0.125, 0.15, 0.175, 0.20 g/L 的对照品溶液进行高效液相色谱检测，绘制标准曲线。

称取红景天愈伤组织干燥粉末 0.50 g 至 50 mL 三角瓶中，加入 10 mL 甲醇，溶解摇匀并在超声波 125 W 条件下，超声处理 30 min 后，将其放入 75℃ 恒温水浴锅中加热 5 h，冷却后补足甲醇至原质量，取上清液经过 0.22 μm 的过滤器进行过滤，避光低温保存，待高效液相色谱检测备用。检测波长为 275 nm；流动相甲醇-水(85:15)；流速 1 mL/min；进样量 10 μL；检测温度 28℃；保留时间 11.5 min。

### 2.7. 计算方法

愈伤组织诱导率 = (愈伤组织块数/接种外植体数) × 100%

试验数据用 SPSS 软件进行方差分析，采用邓肯氏最小显著差数测验进行差异分析，显著水平为 0.05，每个处理 3 次重复。

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 愈伤组织的诱导

##### 3.1.1. 植物生长素对愈伤组织的诱导

将叶片接种到愈伤组织诱导培养基后, 7 d 内就会产生愈伤组织。表 1 显示, 6-BA 是诱导红景天叶片产生愈伤组织的关键植物生长调节剂, 培养基中添加 6-BA, 可顺利诱导叶片出愈。随着 6-BA 浓度的升高, 叶片出愈率随之升高, 但愈伤组织的质地变得松散。浓度 2.0 mg/L 的 6-BA 能诱导  $85.59\% \pm 3.1\%$  的叶片产生瘤状愈伤组织, 3.0 mg/L 的 6-BA 虽然也能诱导愈伤组织大量产生, 但愈伤组织质地疏松, 瘤状结构稀少, 再生能力差。添加 NAA、2,4-D 后发现, 浓度 0.2 mg/L 的 NAA 和 0.1 mg/L 的 2,4-D 对红景天叶片形成愈伤有促进作用。2.0 mg/L 6-BA 与 0.2 mg/L 的 NAA 及 0.1 mg/L 2,4-D 的组合对诱导红景天叶片产生瘤状愈伤组织的效果最佳, 诱导率高达  $95.96\% \pm 2.3\%$ 。

**Table 1.** Effect of plant growth regulators (PGRs) on callus induction from leaf of *Rhodiola*; The different letters in the same column mean the significant difference ( $P \leq 0.05$ ) by Duncan's LSD Test. The same below

**表 1.** 植物生长调节剂对红景天叶片愈伤组织诱导的影响; 表中不同字母表示邓肯氏最小显著差数测验差异显著 ( $P \leq 0.05$ )。其它表同

激素浓度/mg·L <sup>-1</sup> Concentration of PGRs (mg·L <sup>-1</sup> )			出愈率/% Callus induction rate(r/%)	愈伤组织形态 Morphology of callus
6-BA	NAA	2,4-D		
1.0	0	0	60.05 ± 4.0 <sup>b</sup>	紧实, 瘤状结构少
2.0	0	0	85.59 ± 3.1 <sup>a</sup>	紧实, 瘤状结构多
3.0	0	0	90.35 ± 4.2 <sup>a</sup>	疏松, 瘤状结构少
1.0	0.1	0	61.42 ± 3.8 <sup>b</sup>	紧实, 瘤状结构少
2.0	0.2	0	88.22 ± 2.9 <sup>a</sup>	紧实, 瘤状结构多
3.0	0.4	0	92.63 ± 4.1 <sup>a</sup>	疏松, 瘤状结构少
1.0	0	0.1	65.86 ± 1.5 <sup>b</sup>	紧实, 瘤状结构少
2.0	0	0.05	86.11 ± 2.2 <sup>a</sup>	紧实, 瘤状结构多
3.0	0	0.2	94.33 ± 1.8 <sup>a</sup>	疏松, 瘤状结构少
1.0	0.1	0.05	68.75 ± 1.4 <sup>b</sup>	紧实, 瘤状结构少
2.0	0.2	0.1	95.96 ± 2.3 <sup>a</sup>	紧实, 瘤状结构多
3.0	0.4	0.2	95.14 ± 2.8 <sup>a</sup>	疏松, 瘤状结构少
1.0	0.4	0.1	69.58 ± 1.5 <sup>b</sup>	紧实, 瘤状结构少
2.0	0.2	0.2	93.56 ± 2.1 <sup>a</sup>	紧实, 瘤状结构多
3.0	0.1	0.05	95.09 ± 2.0 <sup>a</sup>	疏松, 瘤状结构少

##### 3.1.2. 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

用叶片、茎、根 3 种外植体分别在筛选后的培养基上进行愈伤组织诱导, 发现在最佳愈伤组织诱导培养基上, 3 种材料的出愈率差异不显著(表 2)。因此, 多组合的愈伤组织诱导培养基可以很好缓冲不同外植体差异的影响, 稳定诱导愈伤组织。

**Table 2.** Effect of different explant tissues on callus induction from *Rhodiola*

**表 2.** 外植体对红景天愈伤组织诱导的影响

外植体 Explants	激素浓度/mg·L <sup>-1</sup> Concentration of PGRs (mg·L <sup>-1</sup> )			出愈率/% Callus induction rate (r/%)
	6-BA	NAA	2,4-D	
叶片	2.0	0.2	0	88.22 ± 2.9 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0.1	95.96 ± 2.3 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0.2	93.56 ± 2.1 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0	89.47 ± 2.6 <sup>a</sup>
茎	2.0	0.2	0.1	96.71 ± 2.2 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0.2	91.85 ± 2.8 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0	86.77 ± 3.0 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0.1	93.44 ± 2.7 <sup>a</sup>
根	2.0	0.2	0.1	93.44 ± 2.7 <sup>a</sup>
	2.0	0.2	0.2	91.03 ± 2.4 <sup>a</sup>

### 3.1.3. 光周期对愈伤组织诱导的影响

外植体分别进行光培养与暗培养 15 d, 观察发现光培养与暗培养均能诱导愈伤组织形成。暗培养产生的愈伤组织出现早, 平均 4 d 就能观察到愈伤产生, 且体积大、质地松散、无法分化, 须在光下培养 10 d, 并转绿后才能恢复分化能力。光培养条件下, 至少 5 d 后才有愈伤组织生成, 但愈伤组织颜色墨绿, 质地紧密, 瘤状结构明显; 30 d 后愈伤组织则需要继代培养。

### 3.1.4. 继代次数对愈伤组织及红景天苷含量的影响

多次继代培养会使愈伤组织的结构和颜色发生明显变化。随着继代次数的增加, 愈伤组织逐渐失绿褐化, 增殖能力下降, 质地变得松散, 瘤状结构消失; 同时红景天苷含量在前 3 代基本稳定, 且随继代次数的增加有上升趋势, 但到第 4 代开始, 红景天苷含量明显下降(表 3)。结果表明, 继代次数过多不仅影响愈伤组织生长, 使其增殖能力下降, 同时也影响红景天苷的积累。

**Table 3.** Effect of subculture times on callus growth and salidroside contents of *Rhodiola*

**表 3.** 继代次数对愈伤组织生长和红景天苷含量的影响

继代次数 Subculture times	愈伤组织形态 Morphology of callus	红景天苷含量 Salidroside contents
1	绿白色, 瘤状结构丰富	0.667% ± 2.9 <sup>a</sup>
2	绿白色, 瘤状结构丰富	0.685% ± 2.5 <sup>a</sup>
3	绿白色, 较少瘤状结构	0.697% ± 2.8 <sup>b</sup>
4	黄绿色, 较少瘤状结构	0.503% ± 2.6 <sup>b</sup>
5	黄褐色, 松散	0.331% ± 2.2 <sup>a</sup>

### 3.2. 甲基茉莉酸处理天数对愈伤组织生长及红景天苷积累的影响

愈伤组织在培养 10 d 后, 加入 25 mg/L 的 MeJA, 分别处理 0, 4, 8, 12 d 后发现, 加入 MeJA 0~4 d 时, 愈伤组织的干物重基本稳定。在培养的第 4 d, 愈伤组织中红景天苷含量达最大值(表 4)。同时随着培养时间继续增加, 干物重及红景天苷的含量和产量也开始大幅度下降。因此, 在愈伤组织培养第 10 d 加入 Me-JA 处理 4 d 为最佳处理天数。

**Table 4.** Effect of MeJA treatment days on callus biomass and accumulation of salidroside in *Rhodiola* ( $n=10$ )  
**表 4.** 甲基茉莉酸处理天数对红景天愈伤组织生长和红景天苷积累的影响( $n=10$ )

处理天数(d) Treatment days	干物重(g) DryWeight	红景天苷产量(mg) Salidroside yield	红景天苷含量(mg/g) Salidroside contents
0	1.40	9.59	6.85 ± 2.5 <sup>a</sup>
4	1.42	40.82	28.75 ± 3.2 <sup>b</sup>
8	1.26	11.55	9.17 ± 3.5 <sup>b</sup>
12	1.00	6.59	6.59 ± 2.8 <sup>a</sup>

### 3.3. 甲基茉莉酸浓度对愈伤组织生长和红景天苷积累的影响

在培养 10 d 后添加不同浓度的 MeJA 发现, 随着 MeJA 浓度升高, 愈伤组织干物重不断下降。相反在 0~100 mg/L 时, 红景天苷的含量和生产量在逐渐增加, 当 MeJA 的浓度为 100 mg/L 时, 达到最大值(表 5)。因此, 本试验选择 MeJA 浓度为 25 mg/L 作为愈伤组织生长生产和红景天苷含量的最适浓度。

**Table 5.** Effect of the concentration of MeJA on callus biomass and accumulation of salidroside in *Rhodiola* ( $n=10$ )  
**表 5.** 甲基茉莉酸浓度对红景天愈伤组织生长和红景天苷积累的影响( $n=10$ )

甲基茉莉酸浓度(mg/L) Concentration of MeJA	干物重(g) DryWeight	红景天苷产量(mg) Salidroside yield	红景天苷含量(mg/g) Salidroside contents
0	1.40	9.59	6.85 ± 2.5 <sup>a</sup>
5	1.35	13.09	9.69 ± 3.0 <sup>b</sup>
25	1.33	30.41	22.86 ± 2.8 <sup>b</sup>
50	1.19	32.57	27.37 ± 3.1 <sup>b</sup>
100	1.03	33.15	32.18 ± 2.9 <sup>a</sup>

## 4. 讨论

适宜的激素水平、继代次数以及愈伤组织疏松程度是红景天愈伤组织培养体系建立所必需的。本实验对红景天的愈伤组织诱导进行了研究, 结果显示多组合的植物激素配合可以有效地缓冲外植体类型差异的影响, 稳定诱导愈伤组织。植物激素在愈伤组织增殖生长中起关键作用, 生长素与细胞分裂素的多种组合使用优于单一生长调节剂; 继代培养时间对红景天愈伤组织生长能力有较明显的影响, 随着继代时间的延长, 活力逐渐下降。红景天属于高山植物, 在低海拔区生长时, 其生长状态会受到一定的影响, 最直接的表现是生长速度有可能减慢, 对愈伤组织的形成及生长产生不利影响。红景天初代愈伤组织是由颜色、质地和形态无明显差异的细胞团块形成, 经继代后产生绿色致密型、略黄色致密型等外观, 但不影响稳定生长。

茉莉酸类化合物在植物中, 主要分布于植物的幼嫩组织、花和生殖器官中; 在植物发育过程, 调节植物的生长发育、防御应答以及通过调节生长和胁迫应激的代谢流来调节次生代谢[12][13], 起着重要的内源激素作用[14]。同时, 其能够以信号分子的形式参与到植物次生代谢, 激活相应的防御基因, 调控相关关键酶基因的表达, 影响酶活性, 进而调控次生代谢物的生产[15]。研究报道显示, 不同时期的细胞对诱导子的反应灵敏度不同, 只有当细胞达到一定的生长时期才可以有效的接受诱导信号, 此时诱导子表现出最强的诱导活性。有研究报道显示, 夹竹桃细胞培养初期加入 MeJA 100 mg/L, 培养 21 天后, 甲黄次苷的生产量达 8.93 mg/L 为最大值[16]。本研究认为愈伤组织生长到第 10 天时, 加入 25 mg/L MeJA 培

养 4 d 后, 有利于红景天愈伤组织的生长和红景天苷的积累。由此可见, 在愈伤组织培养过程中, 所加入的甲基茉莉酸的浓度及时间对红景天愈伤组织中有效物质的积累有显著差异。

## 基金项目

四川省科技计划项目(2018NZ0091、2019YFS0107)、四川省级公益性科研院所基本科研业务费项目、农业农村部杂粮加工重点实验室开放基金资助(No.2018CC12)、四川省中医药管理局科研项目(2018KF007)共同资助。

## 参考文献

- [1] 李伟球, 傅书遐, 傅坤俊, 等. 中国植物志: 第 34 卷 第 1 分册[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 72-159.
- [2] Yousef, G.G., Grace, M.H., Cheng, D.M., *et al.* (2006) Comparative Phytochemical Characterization of Three *Rhodiola* Species. *Phytochemistry*, **67**, 2380-2391. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.026>
- [3] Grech-Baran, M., Syklovska-Baranek, K. and Pietrosiuk, A. (2015) Biotechnological Approaches to Enhance Salidroside, Rosin and Its Derivatives Production in Selected *Rhodiola* spp. *in Vitro* Cultures. *Phytochemistry Reviews*, **14**, 657-674. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9368-y>
- [4] Panossian, A., Wikman, G. and Sarris, J. (2010) Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional Use, Chemical Composition, Pharmacology and Clinical Efficacy. *Phytomedicine*, **17**, 481-493.
- [5] 马兰青, 柳春梅, 于寒松, 等. 红景天甙生物合成途径: 酪醇合成的起始反应及其糖基化[J]. 生物工程学报, 2012, 28(3): 282-294.
- [6] Yang, Y.N., Liu, Z.Z., Feng, Z.M., Jiang, J.-S. and Zhang, P.-C. (2012) Lignans from the Root of *Rhodiola crenulata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 964-972. <https://doi.org/10.1021/jf204660c>
- [7] Qu, Z.W. (2005) Progress of the *Rhodiola* Herb. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **18**, 1063-1066.
- [8] Brown, R.P., Gerbarg, P.L. and Ramazanov, Z. (2002) *Rhodiola rosea*, a Phytomedicinal Overview. *HerbalGram: The Journal of the American Botanical Council*, **56**, 40-52.
- [9] 易丽娟, 鲁建江, 沈梦圆, 等. 新疆红景天资源的研究利用现状及问题[J]. 生物学通报, 2007, 42(7): 16-17.
- [10] 罗凯, 胡廷章, 罗建平. 植物细胞培养生产次生代谢产物的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2338-2340.
- [11] Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, **15**, 473-479. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- [12] Fernandez-Calvo, P., Chini, A., Fernandez-Barbero, G., *et al.* (2011) The Arabidopsis bHLH Transcription Factors MYC3 and MYC4 Are Targets of JAZ Repressors and Act Additively with MYC2 in the Activation of Jasmonate Responses. *Plant Cell*, **23**, 701-715. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.080788>
- [13] Robson, F., Okamoto, H., Patrick, E., *et al.* (2010) Jasmonate and Phytochrome A Signaling in Arabidopsis Wound and Shade Responses Are Integrated through JAZ1 Stability. *Plant Cell*, **22**, 1143-1160. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.067728>
- [14] Maleck, K. and Dietrich, R.A. (1999) Defense on Multiple Fronts: How Do Plants Cope with Diverse Enemies. *Trends in Plant Science*, **4**, 215-219. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01415-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01415-6)
- [15] Kunkel, B.N. and Brooks, D.M. (2002) Cross Talk between Signaling Pathways in Pathogen Defense. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**, 325-331. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00275-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00275-3)
- [16] Zabala, M.A., Angarita, M., Restrepo, J.M., Caicedo, L.A. and Perea, M. (2010) Elicitation with Methyl-Jasmonate Stimulates Peruvoside Production in Cell Suspension Cultures of *Thevetia peruviana*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, **46**, 233-238. <https://doi.org/10.1007/s11627-009-9249-z>