

• 资源与鉴定 •

## 真菌诱导子对怀地黄组培苗生长及 次生代谢产物合成的影响

夏伟,熊玉萍,朱昀昊,董诚明\*,任龙飞,杜真辉  
(河南中医药大学,郑州 450008)

**[摘要]** 目的:研究分离自地黄不同部位的内生真菌诱导子对怀地黄组培苗生长及其次生代谢产物含量的影响,初步探究其促生作用。方法:以 2 株 *Alternaria* 属内生真菌 *A. alternata* *Penicillium* 属内生真菌 *P. axalicum* 制备不同类型的诱导子,发酵液滤液和菌丝降解液,分别考察其对地黄组培苗株高、鲜重、叶绿素含量、梓醇及毛蕊花糖苷含量的影响,并用 SPSS 17.0 进行数据分析。高效液相色谱法测定梓醇及毛蕊花糖苷含量。结果:不同菌株制备的真菌诱导子促生作用差异明显,以 *Penicillium* 属内生真菌 *P. axalicum* 制备的真菌诱导子对怀地黄组培苗促生效果较佳,且以其发酵液滤液促生效果最好。在该培养条件下,怀地黄组培苗株高、鲜重、根长、总叶绿素、梓醇及毛蕊花糖苷含量增加率分别为 27.80%、29.49%、22.08%、15.05%、35.98% 和 68.18%。结论:内生真菌诱导子可促进怀地黄组培苗生长,并提高其次生代谢产物含量,在今后地黄内生真菌应用中可做进一步探究。

**[关键词]** 内生真菌诱导子;地黄;次生代谢产物;促生作用

**[中图分类号]** R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)03-0025-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017030025

### Effect of Fungal Elicitors on Growth and Secondary Metabolites Content in *Rehmannia glutinosa* Tissue Culture

XIA Wei, XIONG Yu-ping, ZHU Yun-hao, DONG Cheng-ming\*, REN Long-fei, DU Zhen-hui  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of endophytic fungal elicitors, which were separated from different parts of *Rehmannia glutinosa*, on growth and secondary metabolites contents, in *R. glutinosa* tissue culture, and make a preliminary study on growth-promoting role of endophytic fungal elicitor. **Method:** *Alternaria alternata*, and *Penicillium axalicum* were used to prepare two different types of elicitors, filtered fermentation liquor and mycelium degradation solution. Then their effects on plant height, fresh weight, chlorophyll content, catalpol and acteoside contents in *R. glutinosa* tissue culture were investigated. The data analysis was done by using SPSS. The contents of catalpol and acteoside were detected by HPLC. **Result:** Different fungal elicitors showed significant differences in growth-promoting role. The fungal elicitors of *P. axalicum* showed a better promoting role than others, and its fermentation filtrate showed the best effect. In this condition, the plant height, fresh weight, root length, chlorophyll content, catalpol and acteoside contents of *R. glutinosa* tissue culture increased respectively by 27.80%, 29.49%, 22.08%, 15.05%, 35.98% and 68.18%. **Conclusion:** Endophytic fungal elicitor of *R. glutinosa* can promote the growth of tissue culture, and improve the contents of its secondary metabolites. Further studies are needed for endophytic fungal applications in *R. glutinosa*.

**[Key words]** endophytic fungal elicitors; *Rehmannia glutinosa*; secondary metabolites; promoting role

**[收稿日期]** 20160913(004)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划项目(2011BAI06B02)

**[第一作者]** 夏伟 硕士 从事中药资源的开发利用研究, Tel: 18300677220, E-mail: m18300677220@163.com

**[通讯作者]** \*董诚明 教授 从事中药资源的开发利用研究, Tel: 0371-65962581, E-mail: dcm371@sohu.com

地黄为玄参科植物地黄的新鲜或干燥块根<sup>[1]</sup>。河南焦作是其优质道地产区,故而得名怀地黄<sup>[2]</sup>,史载于《神农本草经》。地黄以栽培为主,野生品种不做药用,味甘苦,性温寒,具有清热生津,凉血,润燥,滋阴补肾,调经补血的功能,用于阴虚发热,消渴,吐血,血崩,月经不调,胎动不安,阴伤便秘等证。

内生真菌是存在于植物体内而又不引起植物组织病变,且能够与植株互惠共生的一类微生物。据文献报道,植物内生真菌具有促进植株生长、诱导次生代谢产物的形成、协调植株对环境的适应等生理功能,且能改善土壤微环境<sup>[3-8]</sup>。近年来随着科技的发展,地黄在栽培过程中由于管理粗放,施用大量化学肥料,导致了产地土壤板结,地黄产量及质量的退化,因此地黄生产急需采取标准化管理和生态化种植提升其产量、质量,并改善土壤生态,降低种植投入<sup>[9]</sup>。本研究以地黄组培苗为模型,通过对已获取地黄内生真菌,考察诱导子对地黄组培苗生长及次生代谢产物含量的影响。研究发现内生真菌诱导子对怀地黄组培苗生长及次生代谢产物含量均有一定影响,因此根据地黄内生真菌对地黄的作用进行研究,目的在于从内源角度改善地黄生长条件,依靠怀地黄内生真菌来促进其生长,提高怀地黄产量及质量,为进一步说明内生真菌与有效成分含量的相关性提供依据,并为人工栽培怀地黄使用微生物肥料提供科学依据。

## 1 材料

已分离得到保存于冰箱的菌株为供试内生真菌,选取的 2 株地黄内生真菌通过分子测序技术由河南中医学院朱昀昊博士鉴定为 *Alternaria alternata*、*Penicillium axalicum*, 分别编号为地黄内生真菌 PY6 和 PY10。供试植株怀地黄组培苗,来源于河南中医药大学药学院组培室,由河南中医药大学药学院副院长董诚明教授鉴定为玄参科植物怀地黄 *Rehmannia glutinosa* 的苗。

IS-RSH1 型摇床培养箱(美国精骐有限公司), LDZX-75KBS 型高压蒸气灭菌锅(上海申安医疗器械公司), A590 型紫外可见分光光度计[翰艺仪器(上海)有限公司]。梓醇、毛蕊花糖苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 150620, 151121), PDA 培养基自行配置,参考《食用菌栽培实用技术》, 1/2 MS 培养基自行配置,参考《遗传学实验教程》。

## 2 方法

### 2.1 内生真菌诱导子的制备<sup>[1 6-8]</sup> 内生真菌 PY10

和 PY6 接种到 PDA 液体培养基中, 28 ℃, 120 r·min<sup>-1</sup> 摇床震荡培养 5 d 后收获, 通过下列方法制备真菌诱导子。A 法: 发酵液滤液与其菌丝体粉末的混合物, 简称为菌丝降解液, 高压蒸气灭菌后备用。B 法: 发酵液滤液, 以下简称滤液, 高压蒸气灭菌后备用。对照: 不做处理。

以液态 1/2 MS 培养基与不同处理诱导子加入到蛭石培养基中, 接种生长状况健康且较一致的组培苗, 培养 30 d, 测量其各项指标。

### 2.2 生长指标及梓醇、毛蕊花糖苷含量测定

鲜重采用电子天平称重法测定, 根长采用直尺进行测量, 梓醇及毛蕊花糖苷含量测定依据 2015 年版《中国药典》项下 HPLC 法进行测定。

称取 0.5 g 左右叶片, 用 80% 丙酮研磨并定容至 50 mL, 避光浸提 24 h, 采用紫外可见分光光度计取上清液进行测定叶绿素 a, 叶绿素 b 及总叶绿素各处理条件下在 645、663 nm 处的吸光度 A。采用以下公式计算叶绿素 a, 叶绿素 b 及总叶绿素质量分数。

$$\text{叶绿素 a 质量分数} = (12.7A_{663} - 2.69A_{645}) / (1000m) \times 100\%$$

$$\text{叶绿素 b 质量分数} = (22.9A_{645} - 6.48A_{663}) / (1000m) \times 100\%$$

$$\text{总叶绿素质量分数} = (20.2A_{645} + 8.02A_{663}) / (1000m) \times 100\%$$

V 为定容体积, m 为称取叶片量。

## 3 结果

### 3.1 内生真菌对地黄组培苗生长的影响

组培苗在添加了不同诱导子的培养基上培养 30 d 后, 地黄组培苗的生长情况见表 1。在进行诱导处理过程中, 2 种诱导子与对照组相比较发现, 诱导子在不同处理条件下对怀地黄组培苗的株高和根长无影响; 诱导子对地黄组培苗的植株鲜重, 叶绿素 a, 叶绿素 b 和总叶绿素影响明显; 在经过不同处理条件, 不同加样量条件下, 诱导子对地黄组培苗具有显著的影响。

不同处理对怀地黄组培苗生长影响不同, 其中 2 号处理对怀地黄组培苗作用最明显, 较对照组增长 44.07%, 而 6 号处理则对怀地黄出现抑制作用; 鲜重, 根长较对照组增长量变化幅度较大, 分别为 -82.70% ~ 48.35%, -76.62% ~ 36.36%; 不同诱导子处理下, 怀地黄组培苗叶绿素 a, 叶绿素 b 和总叶绿素变动范围较小。

### 3.2 内生真菌对地黄组培苗梓醇及毛蕊花糖苷含量的影响

对不同处理条件下的怀地黄组培苗进行含量测定, 主要是梓醇和毛蕊花糖苷含量进行测定, 结果见表 2。

表 1 不同诱导子及不同处理对地黄组培苗生长指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 1 Analysis on effect of different elicitors and different treatment methods on tissue culture seedling growth indexes in *Rehmannia glutinosa* ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

No.	处理	诱导子	加入体积/mL	株高/cm	鲜重/g	根长/cm
0	对照	-	-	5.900 0 ± 0.118 3 <sup>bc</sup>	1.336 0 ± 0.030 0 <sup>c</sup>	2.566 7 ± 0.721 9 <sup>a</sup>
1	A	PY10	5	7.600 0 ± 0.599 2 <sup>ab</sup>	1.815 8 ± 0.062 6 <sup>ab</sup>	2.766 7 ± 0.233 3 <sup>a</sup>
2	A	PY10	10	8.500 0 ± 0.974 8 <sup>a</sup>	1.794 8 ± 0.021 9 <sup>ab</sup>	2.833 3 ± 0.491 0 <sup>a</sup>
3	B	PY10	5	7.680 0 ± 1.203 1 <sup>ab</sup>	1.981 9 ± 0.080 7 <sup>a</sup>	3.500 0 ± 0.655 7 <sup>a</sup>
4	B	PY10	10	7.540 0 ± 0.922 8 <sup>ab</sup>	1.730 0 ± 0.031 1 <sup>b</sup>	3.133 3 ± 0.066 7 <sup>a</sup>
5	A	PY6	5	4.900 0 ± 0.187 1 <sup>c</sup>	0.887 3 ± 0.135 4 <sup>d</sup>	2.066 7 ± 0.338 3 <sup>a</sup>
6	A	PY6	10	2.580 0 ± 0.385 2 <sup>d</sup>	0.231 1 ± 0.009 5 <sup>e</sup>	0.600 0 ± 0.152 8 <sup>b</sup>
7	B	PY6	5	6.400 0 ± 0.731 4 <sup>abc</sup>	1.855 4 ± 0.013 1 <sup>ab</sup>	2.733 3 ± 0.145 3 <sup>a</sup>
8	B	PY6	10	5.700 0 ± 0.463 7 <sup>bc</sup>	0.740 6 ± 0.009 5 <sup>d</sup>	2.933 3 ± 0.536 4 <sup>a</sup>

  

No.	处理	诱导子	加入体积/mL	叶绿素 a/%	叶绿素 b/%	总叶绿素/%
0	对照	-	-	1.113 3 ± 0.002 3 <sup>f</sup>	0.283 7 ± 0.002 3 <sup>c</sup>	1.569 7 ± 0.001 3 <sup>f</sup>
1	A	PY10	5	1.213 0 ± 0.003 1 <sup>c</sup>	0.298 0 ± 0.001 0 <sup>b</sup>	1.698 7 ± 0.003 2 <sup>c</sup>
2	A	PY10	10	1.297 7 ± 0.001 2 <sup>a</sup>	0.322 3 ± 0.000 3 <sup>a</sup>	1.821 0 ± 0.001 5 <sup>a</sup>
3	B	PY10	5	1.130 3 ± 0.001 9 <sup>e</sup>	0.279 3 ± 0.000 9 <sup>d</sup>	1.585 0 ± 0.001 7 <sup>e</sup>
4	B	PY10	10	1.282 0 ± 0.002 6 <sup>b</sup>	0.326 0 ± 0.001 2 <sup>a</sup>	1.806 0 ± 0.002 5 <sup>b</sup>
5	A	PY6	5	1.001 3 ± 0.001 8 <sup>h</sup>	0.250 7 ± 0.001 3 <sup>f</sup>	1.407 3 ± 0.003 2 <sup>h</sup>
6	A	PY6	10	0.981 7 ± 0.001 9 <sup>i</sup>	0.245 3 ± 0.000 7 <sup>g</sup>	1.379 0 ± 0.002 5 <sup>i</sup>
7	B	PY6	5	1.145 7 ± 0.003 9 <sup>d</sup>	0.281 0 ± 0.002 1 <sup>cd</sup>	1.603 3 ± 0.006 1 <sup>d</sup>
8	B	PY6	10	1.100 0 ± 0.001 0 <sup>g</sup>	0.272 3 ± 0.000 3 <sup>e</sup>	1.542 3 ± 0.001 3 <sup>g</sup>

注: 同列中小写字母表示显著性为  $P < 0.05$  (表 3 同)。

表 2 不同诱导子及不同处理对地黄组培苗质量分数的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Analysis on effect of different elicitors and different treatment methods on tissue culture seedling contents in *Rehmannia glutinosa* ( $\bar{x} \pm s, n=5$ ) %

No.	处理	诱导子	加入体积/mL	梓醇	毛蕊花糖苷
0	对照	-	-	2.14 ± 0.00 <sup>g</sup>	2.20 ± 0.06 <sup>d</sup>
1	A	PY10	5	1.65 ± 0.01 <sup>i</sup>	1.79 ± 0.03 <sup>e</sup>
2	A	PY10	10	1.94 ± 0.01 <sup>h</sup>	1.77 ± 0.02 <sup>e</sup>
3	B	PY10	5	2.64 ± 0.00 <sup>e</sup>	2.10 ± 0.01 <sup>d</sup>
4	B	PY10	10	2.91 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.70 ± 0.16 <sup>a</sup>
5	A	PY6	5	3.29 ± 0.00 <sup>b</sup>	2.54 ± 0.15 <sup>c</sup>
6	A	PY6	10	3.96 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.20 ± 0.05 <sup>d</sup>
7	B	PY6	5	2.20 ± 0.00 <sup>f</sup>	2.97 ± 0.08 <sup>b</sup>
8	B	PY6	10	2.82 ± 0.00 <sup>d</sup>	1.54 ± 0.12 <sup>e</sup>

在不同处理条件下,培养 30 d 的怀地黄组培苗梓醇和毛蕊花糖苷含量有不同程度的变化,总体上与对照组间有显著差异性;在 A 处理下,加入 10 mL PY6 诱导子条件下,梓醇含量与对照组间有显著性差异,且较对照组提高了 85.05%,而毛蕊花糖苷含量与对照组无差异性,且含量无明显增加;在 B 处理下,加入 PY10 诱导子 10 mL 条件下,梓醇含量和

毛蕊花糖苷含量均与对照组有显著差异,含量分别较对照组增加 35.98%、68.18%。在不同处理条件下,诱导子也可能随着处理方法,加入量等的变化对怀地黄组培苗有不同影响,如在 A 处理下,加入诱导子 5 mL、10 mL PY10 条件下,对梓醇含量及毛蕊花糖苷含量呈现抑制作用。

3.3 诱导子对怀地黄组培苗影响的主成分分析  
计算的相关系数的特征值和方差贡献率,第 1、2 的主成分的累计方差贡献率为 87.4%, > 85%,所以选取 2 个主成分进行评价就足够了,它代表了怀地黄中所测指标 87.4% 的信息量。见表 3 A。

根据主成分计算公式可以得到线性组合如下:

成分 1 得分:  $F_1 = 0.395 2Z(\text{叶绿素 a}) + 0.385 8Z(\text{叶绿素 b}) + 0.394 2Z(\text{总叶绿素}) + 0.054 5Z(\text{毛蕊花糖苷}) - 0.335 3 \times Z(\text{梓醇}) + 0.376 4Z(\text{鲜重}) + 0.404 3Z(\text{株高}) + 0.345 1Z(\text{根长});$

成分 2 得分:  $F_2 = 0.100 5Z(\text{叶绿素 a}) + 0.171 3Z(\text{叶绿素 b}) + 0.112 4Z(\text{总叶绿素}) + 0.878 9Z(\text{毛蕊花糖苷}) + 0.392 9Z(\text{梓醇}) + 0.025 7Z(\text{鲜重}) - 0.101 6 \times Z(\text{株高}) - 0.101 1Z(\text{根长});$

总得分:  $F = 0.72F_1 + 0.15F_2$

根据主成分得分公式可得出不同处理条件下主成分得分及综合排序,见表 5。

表 3 特征值和方差贡献率

Table 3 Eigenvalues and variance contribution rate

主成分	初始特征值			提取平方负荷量之和		
	特征根值	贡献率/%	累计贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	方差总贡献率/%
1	5.806	72.576	72.576	5.806	72.576	72.576
2	1.187	14.838	87.414	1.187	14.838	87.414
3	0.588	7.352	94.767			
4	0.298	3.722	98.489			
5	0.103	1.292	99.781			
6	0.011	0.141	99.922			
7	0.006	0.078	100			
8	$1.05 \times 10^{-8}$	$1.31 \times 10^{-7}$	100			

表 4 主成分向量分析

Table 4 Vector of principal components

变量	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	毛蕊花糖苷	梓醇	鲜重	株高	根长
1	0.395 2	0.385 8	0.394 2	0.054 5	-0.335 3	0.376 4	0.404 3	0.345 1
2	0.100 5	0.171 3	0.112 4	0.878 9	0.392 9	0.025 7	-0.101 6	-0.101 1

表 5 主成分得分、综合得分排序

Table 5 Principal component scores , comprehensive score ranking

No.	处理	诱导子	加入体积/mL	$F_1$	$F_2$	$F$	排序
0	对照	-	-	-0.091 4	-0.434 9	-0.131 0	6
1	A	PY10	5	1.741 7	-1.062 0	1.094 7	3
2	A	PY10	10	2.773 1	-0.674 1	1.895 5	2
3	B	PY10	5	0.884 1	-0.479 6	0.564 6	4
4	B	PY10	10	2.306 1	2.378 9	2.017 2	1
5	A	PY6	5	-2.573 6	0.307 7	-1.806 8	8
6	A	PY6	10	-4.652 6	0.437 6	-3.284 2	9
7	B	PY6	5	0.604 6	0.611 3	0.527 0	5
8	B	PY6	10	-0.992 0	-1.084 9	-0.877 0	7

中药由于具有多成分、多评价指标,往往在对其优劣评价中常运用模式识别法,这也体现了中药多靶点综合评价的特点。本研究用主成分分析法对诱导子及不同处理对怀地黄组培苗影响进行了综合评价分析,具有较强的科学性和实践性。由主成分综合得分排序可知在组培怀地黄苗中 A 号处理 > 2 号处理 > 1 号处理 > 3 号处理 > 7 号处理 > 0 号处理 > 8 号处理 > 5 号处理 > 6 号处理;由表 7 也可得, PY10 对怀地黄组培苗促生作用较 PY6 强。

#### 4 讨论

近年来,在组织培养的基础上利用植物内生真菌诱导植株生长及促进植物次生代谢产物合成的报道越来越多,如 Kiran 等<sup>[6]</sup>从琼崖海棠叶片中分离得到 2 株内生真菌,并通过 18 S rRNA 鉴定为球形黑孢和茎点霉属。其菌丝粉末和发酵液均可诱导产生胡桐籽油 A、B、C 和 P,且相较于茎愈伤组织,诱导子对叶愈伤组织悬浮培养产胡桐籽油的效果

较佳。Archana 等<sup>[7]</sup>研究了真菌诱导子对积雪草生长及积雪草苷含量的影响,在培养第 10 天加入诱导子,积雪草干重及积雪草苷分别比对照组增加了 2.53 和 2.35 倍。在本研究中,在对其次生代谢产物合成中发现,不同处理对其梓醇和毛蕊花糖苷含量有不同的影响,在 YP10 诱导子作用下,YP10 菌丝降解液制备的诱导子高浓度与低浓度对梓醇含量呈现抑制作用,发酵液滤液诱导子高、低浓度处理对其呈现促进作用;对毛蕊花糖苷含量的影响中,高浓度滤液制作的诱导子呈现促进作用。YP6 诱导子作用下,对梓醇含量影响上呈现促进作用;对毛蕊花糖苷含量的影响上只在低浓度诱导子处理条件下呈现促进作用。这也说明怀地黄不同内生真菌对其组培苗次生代谢产物有一定的影响。另有报道研究者从雪莲花根中分离得暗隔菌 EF-37,并研究了其对宿主的促生作用,发现 E37 菌株可在共生植株体内增殖,与 E37 菌片共生的植株叶绿素荧光与对照组

并无差异,但根干重、地上部干重、植株干重、株高比对照组分别增加了 82.43%、63.04%、82.6%、85.5%,并且芦丁含量也有所增加<sup>[8]</sup>。吴智彪等<sup>[10]</sup>在研究华石斛内生真菌诱导子对其组培苗生长的影响中发现,从华石斛中分离的 7 种内生真菌有 5 种对其鲜重、根数、根长等生长指标有显著影响。陈贝贝等<sup>[11]</sup>通过对地黄内生真菌与地黄无菌苗及盆栽苗的共生试验研究中,以苗重、叶绿素含量和根冠比来描述筛选内生真菌对地黄的促生作用。结果表明通过共生实验,发现 *Ceratobasidium* 属内生真菌 *Ceratobasidium* sp 显著促进盆栽地黄生长,与该菌共生的地黄无菌苗平均增长量是对照组正常生长地黄的 1.25 倍,并显著提高叶片中的叶绿素含量。由此可以得出 *Ceratobasidium* 属内生真菌 *Ceratobasidium* sp 促进地黄生长。本研究结果表明,诱导子对怀地黄组培苗的生长表现出一定的促生作用。在其相对增长量分析中,不同处理中,YP6 诱导子处理较 YP10 诱导子处理弱。结合诱导子对怀地黄组培苗生长和次生代谢产物含量的影响做主成分分析发现,YP10 诱导子处理条件优于 YP6 处理,与其生长促进作用相一致。通过综合分析,YP10 发酵液滤液处理结果中加入量为 10 mL 时对怀地黄组培苗促生作用效果最佳,在该培养条件下,怀地黄组培苗株高、鲜重、根长、总叶绿素含量、梓醇及毛蕊花糖苷含量增加率分别为 27.80%、29.49%、22.08%、15.05%、35.98%、68.18%。说明诱导子对怀地黄具有促生作用,与其他植物诱导子促生作用报道相一致。

在本研究中诱导子处理后的怀地黄组培苗生长和次生代谢产物均有不同程度变化,这些变化可能是由真菌诱导子诱导产生的物质或是自身降解物质对植物体起到信号传导作用,在其传导过程中促进植株的生长,诱导合成次生代谢产物合成的基因片段表达等<sup>[3,12]</sup>。如陶金华等<sup>[13]</sup>研究内生真菌诱导子通过诱导苍术细胞中一氧化氮合酶(NOS)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)以及乙酸辅酶 A 羧化酶(ACC)的活性,可显著促进苍术细胞的 NO 进发、水杨酸和苍术素的合成。王晓东等<sup>[14]</sup>在分析真菌诱导的自桦悬浮体系中 N、P 的吸收利用和三萜合成的关系中,通过分析得出磷酸根、硝酸根和铵根质量分数变化可能引起真菌诱导后的自桦三萜合成的增加。

通过本研究可以确定内生真菌对其生长及产物合成有一定影响,为提供刺激怀地黄生长及次生代谢产物合成的微生物肥料提供了应用基础。但本

研究只针对诱导子关于怀地黄植株生长及次生代谢产物合成的初步研究,并未涉及到诱导子促生作用的诱导机制及菌肥对土壤改善问题的研究,有关内生真菌诱导机制及菌肥对土壤影响作用将是未来研究重点。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 124.
- [2] 温学森, 杨世林, 魏建和, 等. 地黄栽培历史及其品种考证[J]. 中草药, 2002, 33(10): 946-949.
- [3] 郭文娟, 郭顺星, 陈晓梅, 等. 真菌诱导子对药用植物细胞培养产生次生代谢产物影响的研究[J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(5): 321-324.
- [4] 张瑞芬, 李培琴, 周立刚. 真菌诱导子对植物培养物生长和次生代谢产物合成影响之研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(9): 260-264.
- [5] 谭燕, 贾茹, 陶金华, 等. 内生真菌诱导子调控药用植物活性成分的生物合成[J]. 中草药, 2013, 44(14): 2004-2008.
- [6] Kiran D P, Amit V Y, Yogesh S, et al. Influence of endophytic fungal elicitation on production of inophyllum in suspension cultures of *Calophyllum inophyllum* L[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2011, 106(2): 345-352.
- [7] Archana P, Archana M, Alok K, et al. Fungal elicitor-mediated enhancement in growth and asiaticoside content of *Centella asiatica* L. shoot cultures[J]. Plant Growth Regul, 2013, 69(3): 265-273.
- [8] WU L Q, LV Y L, MENG Z X, et al. The promoting role of an isolate of dark-septate fungus on its host plant *Saussurea involucreata* Kar. et Kir [J]. Mycorrhiza, 2010, 20(2): 127-135.
- [9] 张亚莲, 常硕其, 刘红艳, 等. 茶园生物菌肥的营养效应研究[J]. 茶叶科学, 2008, 28(2): 123-128.
- [10] 吴智彪, 宋希强, 李绍鹏. 华石斛内生真菌诱导子对其组培苗生长的影响[J]. 热带作物学报, 2006, 27(1): 77-79.
- [11] 陈贝贝, 王敏, 胡鸢雷, 等. 地黄内生真菌促生作用的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1137-1140.
- [12] 崔晋龙, 付少彬, 高芬, 等. 真菌诱导植物次生代谢产物积累的信号机制及在药用植物中的应用[J]. 中草药, 2012, 43(8): 1647-1651.
- [13] 陶金华, 汪冬庚, 濮雪莲, 等. 一氧化氮和水杨酸依次介导内生真菌诱导子促进苍术细胞中苍术素生物合成的信号转导[J]. 中草药, 2014, 45(5): 701-708.
- [14] 王晓东, 李晓灿, 翟俏丽, 等. 真菌诱导子对白桦悬浮体中 N 和 P 的吸收利用和三萜合成的影响[J]. 中草药, 2011, 42(10): 2119-2122.

[责任编辑 邹晓翠]