

药用植物红根草种质资源的离体保存

付传明, 赵志国, 黄宁珍*, 李 锋, 唐凤鸾

(广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国 科学院

摘 要: 以红根草试管苗为材料, 研究了不同培养基 (MS、1/2MS、1/4MS)、蔗糖浓度和植物生长抑制剂 (CCC、PP₃₃₃、ABA、MH) 在红根草试管苗保存中的作用。结果表明: 培养基 1/2MS 对红根草保存最好, 保存 270 d 后存活率最高。培养基中不添加蔗糖较添加一定浓度蔗糖时植株的形态和色泽差, 但保存时间更长, 转继代后能正常恢复生长。添加生长抑制剂能减缓生长速度, 延长保存时间, 最佳浓度分别为: CCC 1.2~1.6 mg/L; PP₃₃₃ 1.6 mg/L; ABA 0.5~4.0 mg/L; MH 0.5 mg/L。其中, ABA 0.5~4.0 mg/L 对植株的生长最好, CCC 浓度为 1.2 mg/L 和 1.6 mg/L 时, 保存时间长, 360 d 时, 存活率达 90%。

关键词: 红根草; 离体保存; 培养基; 生长抑制剂; CCC; PP₃₃₃; ABA; MH

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)04-0653-05

Preservation *in vitro* of medicinal plant *Salvia prionitis*

FU Chuan-Ming, ZHAO Zhi-Guo, HUANG Ning-Zhen*,
LI Feng, TANG Feng-Luan

(*Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China*)

Abstract: Effects of the culture mediums (MS, 1/2MS and 1/4MS), concentration of sucrose and plant retardants (CCC, PP₃₃₃, ABA, MH) on preservation *in vitro* of *Salvia prionitis* were studied. The results showed that 1/2MS culture medium was more suitable for the preservation *in vitro* of *S. prionitis*, in this culture medium, plantlets could live a long time with high survival rate. Plantlets grew vigorously and tended to senesce prematurely in the culture medium with sucrose, but had a longer living time with bad morpha and color in the culture medium without sucrose. All of the retardants could retard the growth rate and prolong the preservation time of *S. prionitis*. CCC at 1.2~1.6 mg/L, PP₃₃₃ at 2.0 mg/L, ABA at 0.5~4.0 mg/L and MH at 0.5 mg/L were favorable for long-time preservation of *S. prionitis*. While in MS+ABA 0.5~4.0 mg/L, the plantlets grow best, in MS+CCC 1.2 mg/L and MS+CCC 1.6 mg/L culture medium, the plantlets could live for 360 d with 90% survival rate.

Key words: *Salvia prionitis*; preservation *in vitro*; culture medium; plant growth retardant; CCC; PP₃₃₃; ABA; MH

红根草 (*Salvia prionitis* Hance), 又名黄埔鼠尾、红根子、小丹参, 为唇形科鼠尾草属一年生草本植物, 是一种有效的传统中药, 民间将其用于治疗扁桃体炎、咽喉炎和腹泻等多种疾病 (黄炼栋等, 1998)。在其活性成分的研究中, 已从中分离鉴定了多种具有生物活性的化合物 (杨保津等, 1988; Lin

等, 1989)。随着新的有效成分发现和药用范围的扩大, 红根草已成为中药领域极具开发潜力的品种。但是近年来, 由于过度采挖和生境变化的压力, 加上其本身繁殖能力较低, 种质资源日趋减少。因此, 我们在成功完成红根草组培快繁技术研究 (唐凤鸾等, 2006) 的基础上, 进行其种质资源的离体保存研究。

收稿日期: 2006-09-18 修回日期: 2007-02-21

基金项目: 广西科技攻关项目 (0322024-3B) [Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi (0322024-3B)]

作者简介: 付传明 (1980-), 男, 湖北公安县人, 研究实习生, 从事药用植物生物技术研究, (E-mail) fuchuanming@gxib.cn.

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: hnzhzhen68@yahoo.com.cn)

目前,室温离体保存植物材料已经成为一种安全、可靠、经济、有效的种质资源保存的方法。该技术现已成功应用于马铃薯(艾辛等,2005)、枇杷(王家福等,2002)、大蒜(徐培文等,2002)、草莓(赵密珍等,2006)、铁皮石斛(罗吉凤等,2006)等植物,但室温离体保存红根草的研究尚未见报导。因此,本实验通过调整培养基中无机盐、蔗糖浓度,使用几种常见而有效的植物生长抑制剂及其不同的质量浓度,以便找出适宜红根草的室温离体保存方法,为红根草种质资源的长期保存积累经验 and 提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料及处理

将红根草组培继代苗接种在附加 6-BA 0.2 mg/L、NAA 0.02 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L、pH 值 5.8 的 MS 培养基上,在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 $36 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (12 h/d) 的条件下继代培养 20 d,取生长基本一致的丛生苗(2 cm 左右)剪成单株作离体保存实验。

1.2 离体保存实验

1.2.1 不同培养基和蔗糖浓度的保存实验 以 MS、1/2MS、1/4MS 为培养基,分别添加 0、20、40、60 g/L 的蔗糖,每个处理 10 瓶,每瓶接种 1~2 株(pH=5.8)。

1.2.2 不同植物生长抑制剂的保存实验 以 MS 为基本培养基,分别添加不同浓度的 CCC、PP₃₃₃、ABA 和 MH,其中 CCC 浓度为 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、3.0、4.0 mg/L,后三种抑制剂浓度为:0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/L,每个处理 10 瓶,每瓶培养基接种 1~2 株(以不添加生长抑制剂的 MS 保存培养基为对照,均附加 30 g/L 蔗糖和 6 g/L 琼脂,pH=5.8)。

1.3 保存条件及观察记录

保存条件:培养室温度 15~20 °C,光照强度 $36 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,照射时间 12 h/d。保存后,每 90 d 观察记录一次,观测指标包括:植株的高矮、叶片的大小、生根情况、植株的整体长势、色泽和存活情况。

1.4 存活率计算和恢复生长实验

植株所有叶片和茎尖全部变黄枯萎的作死亡计算,存活率=(接种总植株数-死亡株数)/接种总植株数 $\times 100\%$ (试管苗成活率仅统计接种母株)。

将保存 360 d 后存活的苗或绿色的茎尖转接到继代增殖和生根培养基上进行正常培养,观察恢复生长的情况。

2 结果与分析

2.1 不同培养基和蔗糖浓度对红根草试管苗保存的影响

根据观察,保存过程中各处理上苗的生长情况表现不同(表 1),在 1/4MS 和 1/2MS 培养基中,培养 90 d 时,不加蔗糖处理的植株首先出现衰弱死亡症状,植株叶失绿,幼叶与芽卷缩成团,无根,基本无生长,180 d 时全部死亡;添加蔗糖处理的植株在 90d 时粗壮、根系发达、生长旺,180 d 时,出现一定程度的枯叶、侧芽死亡现象,存活率明显下降,但都以蔗糖浓度 20 g/L 和 60 g/L 处理的存活率最高,270 d 时,只有 1/4MS+20 g/L 蔗糖处理还有 33% 的存活率。而 1/2MS 培养基材料的表现则有所不同,360 d 时,不加蔗糖的材料存活率为 67%,高于其他蔗糖浓度处理。因此推测在红根草的离体保存中,基本培养基和蔗糖之间可能存在交互作用。总体看来,在不加生长抑制剂的前提下,以 1/2MS+蔗糖 0 g/L 处理对红根草的保存效果最好,单代保存 360 d,成活率 67%。

2.2 植物生长抑制剂对红根草离体保存的影响

在对照培养基 MS 上,不另外添加植物激素和生长抑制剂,红根草试管苗能生长迅速,60 d 左右长满整瓶,生根率 100%,90 d 后植株开始显现老化,180 d 时老化现象严重,之后很快死亡。以 MS 为基本培养基,附加不同浓度的 CCC、PP₃₃₃、ABA 和 MH,能有效抑制红根草的旺盛生长,从而延长保存期,保存效果明显好于对照(表 2)。

2.2.1 CCC 对红根草试管苗保存的影响 在保存培养的前 90 d,植株都能较好成活并生长,但植株形态相比对照小,叶色绿,且随着 CCC 浓度的升高更加明显。保存 180 d 时,CCC 浓度 ≤ 0.8 mg/L 处理的植株生长较快,形态大小与对照相当,长满整瓶,CCC 浓度 ≥ 1.2 mg/L 的植株较矮壮,生长慢。保存 270 d 时,CCC 浓度 1.2 mg/L 和 1.6 mg/L 两个处理的植株比较矮壮,叶色比较绿,存活率 100%。当 CCC 浓度 ≥ 3.0 mg/L 时,对植株的抑制强度过大,植株形态过小,叶片卷缩成团,部分死亡,不宜继续保存。CCC 浓度 ≤ 0.8 mg/L 处理的植株形态较高大,长满整瓶,但部分大叶枯萎,植株出现老化状,也不宜继续保存。因此,CCC 浓度 1.2 mg/L 和 1.6 mg/L 为红根草长期保存的适宜浓度。

表 1 不同培养基和蔗糖浓度对红根草离体保存的影响

Table 1 Effects of different media and sugar concentrations on the preservation of *Salvia prionitis in vitro*

培养基 Media	存活率 Survival rate (%)				植株形态 Shape of plant
	90 d	180 d	270 d	360 d	270 d
1/4 MS+0 g/L 蔗糖	75	0	0	0	全部死亡
1/4 MS+20 g/L 蔗糖	100	33	33	0	只有少数叶芽绿, 存活
1/4 MS+40 g/L 蔗糖	100	0	0	0	全部老化死亡
1/4 MS+60 g/L 蔗糖	100	20	0	0	全部老化死亡
1/2 MS+0 g/L 蔗糖	100	67	67	67	部分植株绿, 存活, 无侧芽
1/2 MS+20 g/L 蔗糖	100	100	0	0	全部老化死亡
1/2 MS+40 g/L 蔗糖	100	33	33	0	只有少数顶芽绿, 存活
1/2 MS+60 g/L 蔗糖	100	50	50	25	部分顶芽绿, 存活
MS+0 g/L 蔗糖	67	0	0	0	全部死亡
MS+20 g/L 蔗糖	100	33	0	0	全部老化死亡
MS+40 g/L 蔗糖	100	0	0	0	全部老化死亡
MS+60 g/L 蔗糖	100	33	0	0	全部老化死亡

表 2 植物生长抑制剂对红根草离体保存的影响

Table 2 Effects of plant retardants on the preservation of *Salvia prionitis in vitro*

抑制剂种类和浓度 Retardants and the concentrations (mg/L)		株形 State of plantlet			叶大小 Size of leaf	生根率 (%) Rooting rate	存活率 (%) Survival rate			
		90 d	180 d	270 d	90→270 d	270 d	90 d	180 d	270 d	360 d
CK(MS)	大	大	大	大→大	—	100	33	0	0	
CCC	0.4	中	大	大	大→大	100	100	100	82	45
	0.8	小	大	大	大→大	100	100	100	90	33
	1.2	小	小	中	小→中	70	100	100	100	90
	1.6	小	小	中	小→中	60	100	100	100	90
	2.0	小	中	大	中→大	100	100	100	100	70
	3.0	小	小	中	中→大	90	100	100	90	70
	4.0	小	小	小	小→中	100	90	90	60	17
PP ₃₃₃	0.2	中	大	大	中→大	100	100	100	70	—
	0.5	大	大	大	大→大	100	100	100	63	—
	1.0	中	大	大	大→大	100	100	100	33	—
	2.0	小	小	中	小→中	17	100	100	83	—
	4.0	小	小	中	小→小	19	71	50	43	—
	8.0	小	—	—	小	0	0	0	0	—
	8.0	小	—	—	小→小	0	0	0	0	—
ABA	0.2	中	大	大	中→大	20	100	100	50	—
	0.5	中	中	大	小→大	10	100	100	100	—
	1.0	中	大	大	中→大	0	100	100	88	—
	2.0	小	小	小	小→中	0	100	100	100	—
	4.0	小	小	小	小→中	0	100	100	100	—
MH	8.0	小	小	小	小→小	0	83	83	79	—
	0.2	大	大	大	大→大	75%	100	70	10	—
	0.5	大	大	大	大→大	90	100	100	100	—
	1.0	大	大	大	大→大	83	100	100	43	—
	2.0	小	小	小	小→小	0	100	80	67	—
	4.0	小	—	—	小	0	64	0	0	—
	8.0	小	小	—	小→小	0	90	30	0	—

注: 株形大、中、小分别为单株试管苗所占培养瓶内空间的相对大小。

Note: The large, middle and small size of plantlets mean relative space that single plantlet occupied in culture flask.

2.2.2 PP₃₃₃ 对红根草试管苗保存的影响 在 PP₃₃₃ 浓度 ≤ 1.0 mg/L 的培养基上生长 90 d 时, 红根草试管苗形态相相对对照稍小, 生长较好, 叶色较绿, 根多、粗壮且长, 100% 存活。之后生长加快, 植株形态高大, 到 180 d 时长满整瓶, 并出现一定程度的老

化, 270 d 时, 部分老叶已经枯萎脱落, 整体老化严重, 之后很快死亡; 当 PP₃₃₃ 浓度为 2.0 mg/L 时, 植株较健壮, 色泽较绿, 根系少, 生长缓慢, 270 d 时的存活率最高, 为 83%; 当 PP₃₃₃ 浓度上升到 4.0 mg/L 时, 红根草植株形态和根系的生长受到强烈抑制,

表现为植株生长缓慢,形态变小,叶柄缩短,叶片卷缩成一团,根系较少或无,植株死亡较多;当 PP_{333} 浓度达到 8.0 mg/L 时,材料不能正常生长,全部死亡。所以, PP_{333} 浓度 2.0 mg/L 是红根草长期离体保存的相对适宜浓度。

2.2.3 ABA 对红根草试管苗保存的影响 从各抑制剂对形态生长的促进情况来看,ABA 最有利于保存过程中红根草试管苗的健壮生长。在 ABA 浓度 0.5~4.0 mg/L 范围内,试管苗株形好、矮壮、色泽绿、叶片平展、侧芽较少,270 d 时,存活率达到 100%;当 ABA 浓度为 0.2 mg/L 时,植株较高大,生长过快,易老化;当 ABA 浓度达到 8.0 mg/L 时,植株形态过小,存活率略有下降。因此,ABA 浓度 0.5~4.0 mg/L 时,对红根草试管苗的种质保存效果较好。

2.2.4 MH 对红根草试管苗生长和保存的影响 据观察,MH 相比以上三种抑制剂对红根草试管苗种质保存的效果稍差。当 MH 浓度 ≤ 1.0 mg/L 时,对试管苗控制生长的作用不明显,植株高大,生长旺盛;当 MH 浓度 ≥ 2.0 mg/L 时,对生长抑制强度过大,表现在高度生长明显降低,新生的芽和叶片变小而紧密,但植株整体形态较差。保存 270 d 时,综合生长和存活情况看,MH 浓度为 0.5 mg/L 的培养基的试管苗生长和存活最好,存活率达到 100%。

综上所述,ABA 浓度 0.5~4.0 mg/L 时对植株的生长最好,植株生长健壮,形态和色泽最好。CCC 浓度为 1.2 mg/L 和 1.6 mg/L 时,保存时间最长,360 d 时,存活率达 90%。

2.3 试管苗保存后恢复生长情况

将在 PP_{333} 和 CCC 培养基上无继代连续离体保存 360 d 后存活下来的植株,去掉根系和老叶,转接到继代增殖培养基 MS+0.2 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA 上,能很快形成丛生芽,30 d 可增殖 3~5 倍,植株生长旺盛,形态正常。转接到生根培养基上,同样能很好的生根,形成完整植株,与未经保存的正常试管苗无明显差异。

3 讨论

调整培养基养分水平是一种重要的限制细胞生长技术。在咖啡保存培养过程中,分生组织培养的小植株在无蔗糖的 1/2MS 培养基上可保存 2~2.5 年(Kartha,1981)。在本实验中,同样以 1/2MS+0

g/L 蔗糖培养基保存时间最长,但植株矮小、瘦弱。史永忠等(1999)在铁皮石斛的保存过程中也出现了类似的现象。在本实验中,1/2MS 培养基对红根草保存最好,是因为 1/2MS 培养基较 1/4MS 和 MS 培养基更能锻炼试管苗的抗逆性,提高植株的自养能力,使得在培养基养分消耗殆尽的保存后期表现出更强的自养能力而生存下来,因此,1/2MS 可作为红根草试管苗保存的基本培养基。另外,不加碳源时,能刺激植株进行光合作用,合成生存所需的碳水化合物(Heo 等,1996;Langford 等,1987),因此,不加蔗糖时红根草试管苗能长期存活。但由于本实验环境条件的限制,可能合成的碳水化合物量比较少,因此导致试管苗形态较差。

赵密珍等(2003)在草莓离体保存培养中,发现高浓度 PP_{333} 延迟试管苗的发根,抑制根的伸长,更有利于保存。这与本试验中 ABA 和较高浓度的 PP_{333} 抑制红根草试管苗根系的生长,更有利于长时间的保存的结论相似。经分析,红根草生长出发达的根系,对保存不利,是因为根系的生长需要消耗培养基中大量的矿质营养和碳水化合物,进一步恶化试管内的营养环境,同时根系能产生一定量的细胞分裂素,促进植株的旺盛生长,不利于长时间的保存。另外,在保存培养后期,衰老的根系会向培养基排解有害物质,加速试管苗的衰老死亡。

根据红根草年周期的生长特性,结合快繁过程中的实际情况,我们认为在红根草的种质保存中,应该根据客观需要来选择适当的抑制剂种类及浓度,如果只需要进行暂时的保存,适当的延长继代时间,可以选择较低的浓度。如果需要长年的种质资源的保存,应选择稍高的浓度。另外,由于本实验是几个实验方案同时进行的,所以我们选择在 MS 培养基上添加上述的几种植物生长抑制剂,但实验结果表明,1/2MS 培养基比 MS 培养基更有利于红根草的长期离体保存。因而,在以后对红根草离体保存的进一步研究中,可以尝试以 1/2MS 为基本培养基,添加 CCC 和 ABA 等生长抑制剂,看看是否能取得更好的保存效果。

参考文献:

- Ai X(艾辛), Xia ZL(夏志兰), Liu MY(刘明月), et al. 2005. Effects of plant retardant on the growth and preservation of virus-free potato plantlets(植物生长调节剂对马铃薯试管苗生长和保存的影响)[J]. *J Hunan Agric Univ*(湖南农业大学学报), 31(5): 514-517

- Heo J W, Kubota C, Kozai T. 1996. Effects of CO₂ concentration, PPFD and sucrose concentration on *Cymbidium* plantlet growth *in vitro* [J]. *Acta Hort*, **440**:560—565
- Huang LD(黄炼栋), Xu YZ(徐寅泽), Hu ZB(胡之璧). 1998. *In vitro* propagation of *Salvia prionitis* (红根草的离体快速繁殖)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **34**(5):365
- Kartha K K, Mroginski L A, Pahl K K, et al. 1981. Germplasm preservation of coffee (*Coffea arabica* L) by *in vitro* culture of shoot apical meristems[J]. *Plant Sci Letters*, **22**:301—307
- Lin LZ, Blasko G, Cordell G A, et al. 1989. The diterpenes of *Salvia prionitis* [J]. *Phytochemistry*, **28**:177—181
- Langford P J, Wainwright H. 1987. Effects of sucrose concentration on the photosynthetic ability of shoots *in vitro* [J]. *Annals of Botany*, **60**:633—640
- Luo JF(罗吉凤), Cheng ZY(程治英), Long CL(龙春林). 2006. Studies on the rapid propagation and *in vitro* storage of *Dendrobium candidum* (铁皮石斛快速繁殖和离体种质保存的研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), **26**(1):69—73
- Shi YZ(史永忠), Pan RC(潘瑞炽), Wang XJ(王小菁), et al. 1999. *In vitro* conservation of germplasm at room temperature in *Dendrobium officinale* (铁皮石斛解种质室离体保存)[J]. *J South China Normal Univ* (华南师范大学学报), (4):73—77
- Tang FL(唐凤鸾), Li F(李锋), Fu CM(付传明), et al. 2006. Tissue culture and rapid propagation of *Salvia prionitis* (红根草的组织培养与快速繁殖研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), **26**(3):282—285
- Wang JF(王家福), Liu YX(刘月学), Lin SQ(林顺权). 2002. A study of the preservation *in vitro* of loquat germplasm II: Effect of plant growth inhibitor (枇杷种质资源的离体保存研究 II 生长抑制剂的影晌)[J]. *Subtrop Plant Sci* (亚热带植物科学), **31**(4):1—4
- Xu PW(徐培文), Qu SS(曲士松), Liu HY(刘恒英), et al. 2002. A preliminary study on *In vitro* conservation of the garlic germplasm resources in China (中国大蒜种质资源离体保存初步研究)[J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **35**(3):314—31
- Yang BJ(杨保津), Huang XL(黄秀兰), Huang Y(黄勇), et al. 1988. Study on the chemical constituents of *Salvia prionitis* (红根草化学成分的研究)[J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **30**(5):524—527
- Zhao MZ(赵密珍), Diao MN(刁曼妮), Qian YM(钱亚明), et al. 2003. Effect of paclobutrazol on conservation of strawberry germplasm *in vitro* (多效唑对草莓种质离体保存的影响)[J]. *J Plant Genet Res* (植物遗传资源学报), **4**(3):242—244
- Zhao MZ(赵密珍), Wang ZW(王壮伟), Qian YM(钱亚明), et al. 2006. Effects of different media on the conservation *in vitro* of strawberry germplasm (不同培养基对草莓种质离体保存的影响)[J]. *J Fruit Sci* (果树学报), **23**(1):27—30

(上接第 632 页 Continue from page 632)

- 学报, **18**(4):287—291
- 中国科学院植物研究所. 1992. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第 1 册)[M]. 北京: 科学出版社: 670—671
- 宋振玉. 1997. 中草药现代研究(第 3 卷)[M]. 北京: 医科大学中国协和医科大学联合出版社: 1—30
- 国家药典委员会. 2000. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 科学出版社: 146
- 戚树源, 林立东, 胡厚才. 2000. 白木香中色酮类化合物的形成[J]. *中草药*, **31**(9):658—659
- DiCosmo F, Misawa M. 1985. Eliciting secondary metabolism in plant cell cultures[J]. *Trend Biotech*, **3**:318—322
- Dixon RA, Harrison MJ. 1990. Activation, structure and organization of genes involved in microbial defense plants[J]. *Adv Genet*, **28**:165—171
- Dixon RA. 1986. The phytoalexin response: elicitation, signaling and control of host gene expression [J]. *Bio Rev*, **61**:239—245
- Eilert U. 1987. Elicitation: methodology and aspects of application [M]//Constabel F and Vasil IK(eds.) Cell culture and somatic cell genetics of plants. New York: Academic press, **4**:153
- Hashimoto K, Nakahara S, Inoue T, et al. 1985. A new chromone from agarwood and pyrolysis products of chromone derivatives [J]. *Chem Pharm Bull* **33**(11):5 088—5 091
- Lin LD(林立东), Qi SY(戚树源). 2000. Triterpenoid from Chinese eaglewood (*Aquilaria sinensis*) (国产沉香中的三萜成分) [J]. *Chin Trad Herb Drug* (中草药), **31**(2):89—90
- Nakanishi T, Inada A, Nishi M, et al. 1986. A new and a known derivatives of 2-(2-phenylethyl) chromone from a kind of agarwood ("kanankoh" in Japanese) originating from *Aquilaria agallocha* [J]. *J Nat Product*, **49**(6): 1 106—1 108
- Ning W(宁文), Cao RQ(曹日强). 1993. Regulation of fungi elicitor in plant secondary metabolism (真菌诱导物在植物次生代谢中的调节作用)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **29**(5):321—329
- Picker K, Ritchie E, Taylor WC. 1976. The chemical constituents of Australian *Flindersia* species. X [J]. An examination of the bark and the leaves of *F. laevicarpa* [J]. *Aust J Chem*, **29**:2 023—2 036
- Qi SY. 1995. III *Aquilaria* species: *In vitro* culture and the production of Eaglewood (agarwood) [C]//Bajaj YPS, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Biotechnology in Agriculture and forestry, Medicinal and Aromatic Plant VIII, **33**:36—46
- Roberts SC, Shuler ML. 1997. Large-scale plant cell culture [J]. *Curr Opin Biotech*, **8**:154—159
- Wang CG, Wu JY, Mei XG. 2001. Enhancement of Taxol production and excretion in *Taxus chinensis* cell culture by fungal elicitation and medium renewal [J]. *Appl Microbiol Biotech*, **55**:404—410
- Wang T, Li LF, Zhang K, et al. 2001. New 2-(2-phenylethyl) chromones from *Bothriochloa ischaemum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, **3**(2):45—49
- Yang JS(杨峻山). 1998. Review of the chemical constituents isolated from chen-xiang (沉香化学成分的研究概况) [J]. *Nat Pro Res Develop* (天然产物研究与开发), **10**(1):99—103
- Yoshii E, Koizumi T, Oribe T. 1978. The structure of agarotretrol, a novel highly oxygenated chromone from agarwood (Jinko) [J]. *Tetrahedron Letter*, (41):3 921—3 924
- Yu CH, Liang YH. 1980. Anatomical and histochemical studies on oleoresin formation in the wood of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg [C]. Fourth Asian Symposium on Medical Plants and Spices-ASOMPS IV, September, 15—19, Bangkok, Thailand