

茅苍术愈伤组织诱导及其细胞悬浮培养研究

陶金华¹, 濮雪莲¹, 江 曙²

(1. 南通大学 医学院, 江苏 南通 226019; 2. 南京中医药大学 药学院, 南京 210046)

摘要: 采用正交试验法研究了不同的植物生长调节剂对茅苍术叶柄、叶片和根茎愈伤组织诱导的影响, 结果表明, 不同外植体在各自的最佳培养条件下, 叶柄、叶片和根茎愈伤组织的诱导率分别为 99.0%、83.5% 和 71.5%, 以叶柄的培养效果最好, 其中 2,4-D 对茅苍术愈伤组织的诱导具有极显著的效果, 在各种植物生长调节剂组合中, 诱导叶柄愈伤组织形成的最佳组合为 0.4 mg · L⁻¹ NAA、4.0 mg · L⁻¹ 2,4-D 和 0.4 mg · L⁻¹ KT, 培养 20 d 左右, 诱导率达到 99.0%。此外, 将茅苍术叶柄细胞悬浮培养至 18 d 时, 细胞量、多糖和苍术素的含量均达到最大值, 分别为 9.07 g · L⁻¹、15.68 mg · L⁻¹ 和 19.62 μg · L⁻¹。

关键词: 茅苍术; 愈伤组织; 细胞悬浮培养

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)01-0118-06

Research on callus induction and cell suspension culture of *Atractylodes lancea*

TAO Jin-Hua¹, PU Xue-Lian¹, JIANG Shu²

(1. Medical School, Nantong University, Nantong 226019, China; 2. Pharmaceutical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: Effect of different plant growth regulator on petiole, leaf and rhizome callus induction was studied by orthogonal design in this paper. It showed that petiole, leaf and rhizome callus induction rate were 99.0%, 83.5% and 71.5% in their optimum culture conditions respectively. And Petiole was the most easy to form callus. There was a significant promotion effect of 2,4-D on the callus induction. The optimal composition for petiole callus induction was 0.4 mg · L⁻¹ NAA, 4.0 mg · L⁻¹ 2,4-D and 0.4 mg · L⁻¹ KT; and induction rate reached 99.0% when petiole being cultured for 20 d. In addition, when cell from petiole callus was cultured for 18 d, the maximum yields of cell biomass, polysaccharide and atractylodin were 9.07 g · L⁻¹, 15.68 mg · L⁻¹ and 19.62 μg · L⁻¹ respectively.

Key words: *Atractylodes lancea*; callus; cell suspension culture

中药材茅苍术 (*Atractylodes lancea*), 习称南苍术, 是菊科苍术属茅苍术的干燥根茎, 江苏茅山是其优质道地产区, 故而得名茅苍术。根据《神农本草经》史记, 茅苍术具燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效, 主治脘腹胀满、泄泻、水肿、风湿痹痛、风寒感冒等。近年来, 国内外对茅苍术化学成分及其药理学研究表明, 茅苍术根茎主要含有苍术素等活性成分; 此外, 还含有多糖、糖苷等一些水溶性活性成分以及

铁、锌、镁、钙等多种人体必需的微量元素(郭兰萍等, 2002; Junichik 等, 2003; 王喜习等, 2008)。这些成分具有保肝、抗心率失常、降血糖、抗菌、抗病毒、免疫调节及抗肿瘤等多种生物学活性(Inagaki 等, 2001; Yu 等, 2001; Nakai 等, 2003)。由于过度开采以及茅苍术本身野外繁殖能力低, 使得野生茅苍术资源日益稀缺, 甚至面临濒危(陈佳昕等, 2008; 付梅红等, 2009; 陶金华等, 2010)。因此, 通过开展茅苍

收稿日期: 2011-07-23 修回日期: 2011-11-24

基金项目: 国家自然科学基金(81102743); 江苏省高校自然科学基金研究项目(07KJD360164); 江苏省中医药局项目(HL07076)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(81102743); Natural Science Foundation of Jiangsu Higher Education Institution of China(07KJD360164); Administration of Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province(HL07076)]

作者简介: 陶金华(1984-), 女, 江苏南通人, 硕士, 从事微生物与药用植物品质等研究, (E-mail)taojinhua2000@163.com。

术组织培养、人工栽培等研究,将在保护野生资源、满足国内外用药需求等方面发挥重要作用。目前国内外对茅苍术品质的研究主要集中于化学成分及外部环境因子(气候因子、光照、土壤、水分)等方面(郭方道等,2008;孙宇章等,2008),而采用正交试验法系统研究不同的植物生长调节剂对茅苍术不同外植体愈伤组织诱导的影响,以及采用细胞悬浮培养法比较同一条件下植物生长调节剂对叶柄、根茎细胞生长及活性成分合成的差异国内外尚未见相关的报道,本论文通过研究不同植物生长调节剂对茅苍术不同外植体愈伤组织诱导的影响,并建立茅苍术细胞悬浮培养方法,以期缓解濒危药材茅苍术资源紧张态势,提高茅苍术栽培品质及其可持续利用探索新的途径。

1 材料与方 法

1.1 材 料

(1)外植体:实验材料采自江苏茅山地区茅苍术(*Atractylodes lancea*)的新鲜植株。(2)培养基:愈伤组织诱导培养基是在MS培养基中添加不同浓度的NAA、2,4-D、KT;细胞悬浮培养基除了不添加琼脂外,其它成分组成和愈伤组织诱导培养基相同。实验中所采用化学试剂为分析纯。(3)仪器与设备:净化工作台(SW-CJ-1FB,苏州净化设备有限公司),紫外可见分光光度计(752型,上海光学仪器有限公司),HP1100高效液相色谱仪(四元梯度泵、在线真空脱气机、柱温箱和二极阵列检测器(DAD))。

1.2 方 法

1.2.1 愈伤组织诱导 选取生长健壮的茅苍术幼嫩叶片、叶柄、根茎部位,用自来水反复冲洗干净后,依次用75%乙醇消毒30 s,0.1%升汞消毒10 min,无菌水冲洗5次后,切成3~5 mm小段,接种于含有不同植物生长调节剂的MS培养基中,25℃进行培养,按正交试验设计进行,每项试验平行做2组,每组接种100个外植体,20 d后统计愈伤组织诱导结果。愈伤组织诱导率=形成愈伤组织的外植体数/接种的外植体数×100%。

1.2.2 细胞悬浮培养体系的建立 将愈伤组织继代培养2~3次后,选取生长旺盛,质地疏松的愈伤组织约2.0 g,接种于装有300 mL MS液体培养基的1 000 mL三角瓶中,25℃,120 rpm悬浮振荡培养。5 d继代1次,连续继代2~3次,将细胞悬浮培养物

用80目镍网过滤,滤液分装后继续培养,作为起始悬浮培养液。每隔3 d取5瓶细胞培养液进行离心(5 000 rpm,10 min)后,于60℃烘干,测定细胞干重。

1.2.3 细胞多糖的测定 蒽酮-硫酸比色法(江曙等,2009):在每份茅苍术细胞干燥物中加入10 mL蒸馏水,超声提取2次,每次30 min,过滤。Sevag法除蛋白,在提取液中加入等量的氯仿:正丁醇为5:1的混合溶液,振荡混匀,离心(5 000 rpm,15 min)。取上清液,加入4倍量无水乙醇,4℃冰箱放置过夜,离心(5 000 rpm,15 min),沉淀物60℃干燥后,加入2 mL蒸馏水,即得茅苍术细胞粗多糖溶液,测定时稀释。分别取1.0 mg·mL⁻¹的标准葡萄糖溶液0,1,2,3,4,5,6 mL,用蒸馏水定容至50 mL后,各取1 mL于具塞试管中,再分别加入4 mL 0.2%蒽酮-硫酸试剂(冰水浴中),然后沸水浴10 min,取出冷却至室温放置10 min后,在620 nm处测定标准葡萄糖溶液的吸光度,以吸光度(y)为纵坐标,葡萄糖浓度(x,mg·mL⁻¹)为横坐标,得到回归方程: $y=29.459x+0.054$, $r=0.9992$ 。取1 mL茅苍术细胞粗多糖的稀释液,加入4 mL 0.2%蒽酮-硫酸试剂(冰水浴中),其他操作步骤同标准曲线制作,在620 nm处测吸光度,计算茅苍术细胞多糖的含量。

1.2.4 苍术素含量的测定 将茅苍术悬浮细胞培养液于5 000 rpm离心15 min,弃上清液,在细胞沉淀物中加入20 mL乙酸乙酯超声提取2次,每次30 min,然后进行提取液的浓缩,得样品溶液,测定时稀释。色谱条件:色谱柱:Polaris 5 μ C₁₈-A,250 mm×4.6 mm(Metachem);柱温:25℃;进样体积10 μ L;检测波长340 nm;流速1.0 mL·min⁻¹;流动相:乙腈(A)-水(B)85:15。此外,精密称取苍术素对照品适量,用甲醇配成1.246 g·L⁻¹左右的储备液,避光保存。以峰面积为纵坐标,苍术素浓度(mg·L⁻¹)为横坐标作图,即得回归方程: $Y=9789.9X-724.1$, $r=0.9996$,苍术素在77.9~623.0 mg·L⁻¹范围内呈良好的线性关系。

1.2.5 正交试验设计 对茅苍术不同外植体愈伤组织的诱导试验均设计成4因素3水平(表1)。

2 结果与分析

2.1 植物生长调节剂对茅苍术不同外植体愈伤组织诱导的影响

2.1.1 植物生长调节剂对茅苍术叶柄愈伤组织诱导

的影响 茅苍术叶柄在含有不同植物生长调节剂的 MS 培养基上培养 10 d 左右,在切口处可见半透明的愈伤组织,随着培养时间的延长颜色逐渐变为黄白色。经培养 20 d 后,进行愈伤组织诱导率的统计,根据极差 R 的大小,其影响顺序为 B>A>C。直观分析可知,茅苍术叶柄愈伤组织诱导的最佳植物生长调节剂配比是 A₁B₂C₂,即在 MS 培养基中添加 0.4 mg · L⁻¹ NAA、4.0 mg · L⁻¹ 2,4-D 和 0.4 mg · L⁻¹ KT,诱导率达到 99.0%。通过方差分析可知,NAA 和 2,4-D 对叶柄愈伤组织均产生极显著的诱导效果,而 KT 为不显著因素(表 2、表 3)。

表 1 植物生长调节剂对茅苍术外植体愈伤组织诱导的正交试验因素水平表
Table 1 Orthogonal test of plant growth regulator on callus induction

水平 Level	因素 Factor		
	A NAA,mg · L ⁻¹	B 2,4-D,mg · L ⁻¹	C KT,mg · L ⁻¹
1	0.4	2.0	0.2
2	0.8	4.0	0.4
3	1.2	6.0	0.6

表 2 植物生长调节剂对茅苍术叶柄愈伤组织诱导的正交试验
Table 2 Orthogonal test of plant growth regulator on petiole callus induction of *Atractylodes lancea*

试验号 Test number	因素 Factor			诱导率 Induction rate (%)		
	A	B	C	试验 Test 1	试验 Test 2	平均值 Average value
1	1	1	1	89	86	87.5
2	1	2	2	100	98	99.0
3	1	3	3	59	67	63.0
4	2	1	2	85	82	83.5
5	2	2	3	82	80	81.0
6	2	3	1	34	29	31.5
7	3	1	3	77	72	88.5
8	3	2	1	96	97	82.5
9	3	3	2	41	46	43.5
K1	249.5	259.5	201.5			
K2	196.0	262.5	226.0			
K3	214.5	138.0	232.5			
R	53.5	124.5	31.0			

2.1.2 植物生长调节剂对茅苍术叶片愈伤组织诱导的影响 茅苍术叶片在含有不同植物生长调节剂的 MS 培养基上培养 8 d 左右,在切口处可见半透明的愈伤组织。经培养 20 d 后,进行愈伤组织诱导率的统计,根据极差 R 的大小,其影响顺序为 B>A>C。直观分析可知,茅苍术愈伤组织诱导的最佳植物生

长调节剂配比是 A₁B₂C₂,即在 MS 培养基中添加 0.4 mg · L⁻¹ NAA、4.0 mg · L⁻¹ 2,4-D 和 0.4 mg · L⁻¹ KT,诱导率达到 83.5%。通过方差分析可知,2,4-D 对茅苍术叶片愈伤组织诱导的影响极显著,而 NAA 和 KT 为不显著因素(表 4、表 5)。

表 3 植物生长调节剂对茅苍术叶柄愈伤组织诱导的正交试验结果方差分析

Table 3 Variance analysis of orthogonal test results of plant growth regulator on petiole callus induction of *Atractylodes lancea*

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 Variance	F	显著性 Significance
A	492.2	2	10.1	**
B	3363.5	2	69.1	**
C	178.2	2	3.7	
误差 Error	48.7	2		

F_{0.05}(2,9)=4.26,F_{0.01}(2,9)=8.02

表 4 植物生长调节剂对茅苍术叶片愈伤组织诱导的正交试验

Table 4 Orthogonal test of plant growth regulator on leaf callus induction of *Atractylodes lancea*

试验号 Test number	因素 Factor			诱导率 Induction rate (%)		平均值 Average value
	A	B	C	试验 Test 1	试验 Test 2	
1	1	1	1	71	69	70.0
2	1	2	2	86	81	83.5
3	1	3	3	49	44	46.5
4	2	1	2	67	62	64.5
5	2	2	3	59	51	55.0
6	2	3	1	29	31	30.0
7	3	1	3	46	42	44.0
8	3	2	1	69	74	71.5
9	3	3	2	35	39	37.0
K1	200.0	178.5	171.5			
K2	149.5	210.0	185.0			
K3	152.5	113.5	145.5			
R	50.5	96.5	39.5			

2.1.3 植物生长调节剂对茅苍术根茎愈伤组织诱导的影响 茅苍术根茎在含有不同植物生长调节剂的 MS 培养基上培养 15 d 左右,产生半透明的愈伤组织,随着培养时间的延长颜色逐渐变深。经培养 20 d 后,进行愈伤组织诱导率的统计,根据极差 R 的大小,其影响顺序为 B>C>A。直观分析可知,茅苍术根茎愈伤组织诱导的最佳植物生长调节剂配比是 A₂B₁C₂,即在 MS 培养基中添加 0.8 mg · L⁻¹ NAA、2.0 mg · L⁻¹ 2,4-D 和 0.4 mg · L⁻¹ KT,诱导

率达到 71.5%。通过方差分析可知,2,4-D 对根茎愈伤组织产生极显著的诱导效果(表 6、表 7)。

表 5 植物生长调节剂对茅苍术叶片愈伤组织诱导的正交试验结果方差分析

Table 5 Variance analysis of orthogonal test results of plant growth regulator on leaf callus induction of *Atractylodes lancea*

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 Variance	F	显著性 Significance
A	535.1	2	4.5	
B	1614.4	2	13.6	**
C	268.7	2	2.3	
误差 Error	118.4	2		

$$F_{0.05}(2,9)=4.26, F_{0.01}(2,9)=8.02$$

表 6 植物生长调节剂对茅苍术根茎愈伤组织诱导的正交试验

Table 6 Orthogonal test of plant growth regulator on rhizome callus induction of *Atractylodes lancea*

试验号 Test number	因素 Factor			诱导率 Induction rate (%)		
	A	B	C	试验 Test 1	试验 Test 2	平均值 Average value
1	1	1	1	66	69	67.5
2	1	2	2	71	66	68.5
3	1	3	3	26	33	29.5
4	2	1	2	71	73	71.5
5	2	2	3	49	43	46.0
6	2	3	1	21	18	19.5
7	3	1	3	36	42	39.0
8	3	2	1	57	65	61.0
9	3	3	2	29	34	31.5
K1	165.5	178.0	148.0			
K2	137.0	175.5	171.5			
K3	131.5	80.5	114.5			
R	34.0	97.5	57.0			

表 8 植物生长调节剂对茅苍术不同外植体愈伤组织生长的影响

Table 8 Effect of plant growth regulator on callus growth of different explants from *Atractylodes lancea*

外植体 Explant	最早形成时间(d) Formed first time	干重(g) Dry weight	颜色 Color	质地 Texture	长势 Growth
叶柄 Petiole	10	0.029	黄白色 Yellow-white	疏松,颗粒状 More loose, granular shape	++++
叶片 Leaf	8	0.021	黄绿色 Yellow-green	较疏松,颗粒状 Loose, granular shape	+++
根茎 Rhizome	15	0.012	黄白色 Yellow-white	较疏松,瘤状 Loose, tumor shape	++

注: +表示生长的强弱; +越多表示生长越旺盛。

Note: + in the table means the growing status; more + indicates more vigorous growth.

养细胞多糖及苍术素含量的动态变化与细胞生长的动态变化基本一致(图 5,图 6)。从图中可以看出,来自于叶柄的细胞生长明显较快,细胞量最大值是起始接种细胞量的 10.67 倍,而来自于根茎的细胞量最大值是其起始接种细胞量的 8.17 倍。此外,叶

2.2 植物生长调节剂对茅苍术不同外植体愈伤组织生长的影响

据上述正交试验结果,将不同的外植体分别培养于最佳的植物生长调节剂组合培养基中,培养 20 d 后进行统计分析,结果表明三种外植体来源以叶柄为最好,愈伤组织生长旺盛,质地疏松,是进行细胞悬浮培养的适宜材料(表 8,图 1)。

表 7 植物生长调节剂对茅苍术根茎愈伤组织诱导的正交试验结果方差分析

Table 7 Variance analysis of orthogonal test results of plant growth regulator on rhizome callus induction of *Atractylodes lancea*

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 Variance	F	显著性 Significance
A	222.1	2	1.1	
B	2059.7	2	10.1	**
C	547.1	2	1.7	
误差 Error	204.2	2		

$$F_{0.05}(2,9)=4.26, F_{0.01}(2,9)=8.02$$

2.3 茅苍术细胞悬浮培养体系的建立

在选定的色谱条件下,苍术素的峰型良好,出峰时间约 7.74 min,样品中各峰分离良好(图 2,图 3)。根据茅苍术的入药部位以及本次正交试验结果,分别进行了来自于茅苍术根茎和叶柄的细胞悬浮培养研究。结果表明,茅苍术叶柄和根茎部细胞生长均呈现 S 形生长曲线,且叶柄细胞悬浮培养至 18 d 时,细胞量达到最大值 $9.07 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,叶柄细胞生长的稳定期较长,而植物次生代谢产物一般均在稳定期合成,从而有助于茅苍术多糖及苍术素等活性成分的积累(图 4)。此外,茅苍术叶柄及根茎悬浮培

柄细胞多糖及苍术素含量在较短的时间内达到最大值,且二者最大值分别是叶柄起始接种细胞多糖和苍术素含量的 50.58 倍和 45.63 倍;根茎细胞多糖及苍术素含量在培养至 21 d 时达到最大值,分别是根茎起始接种细胞多糖和苍术素含量的 56.39 倍和



图 1 茅苍术叶柄诱导形成的愈伤组织
Fig. 1 Petiole callus of *Atractylodes lancea*

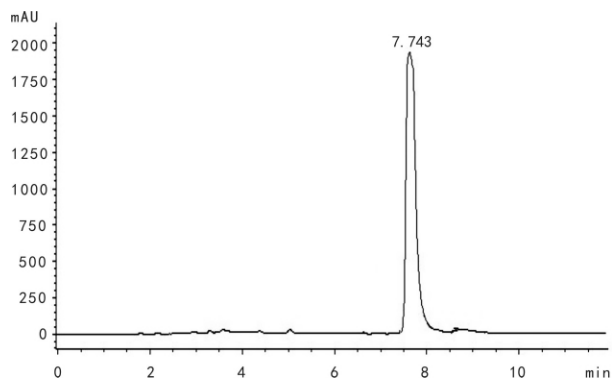


图 2 苍术素对照品 HPLC 图谱
Fig. 2 HPLC chromatogram of atractylodin

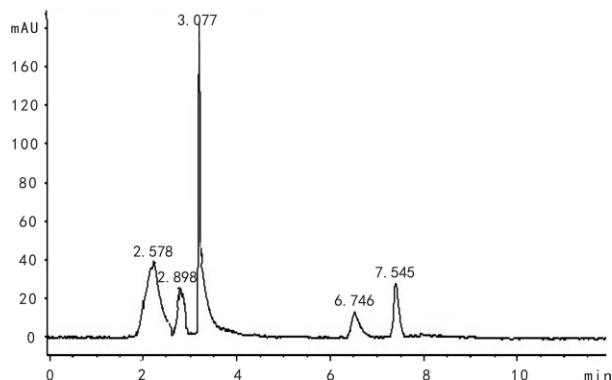


图 3 茅苍术细胞提取液 HPLC 图谱
Fig. 3 HPLC chromatogram of cell extracts of *Atractylodes lancea*

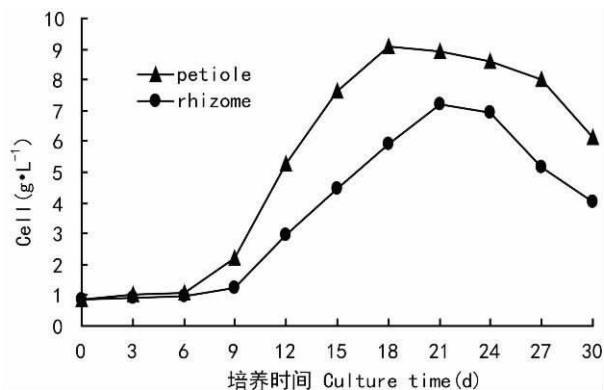


图 4 茅苍术叶柄及根茎悬浮培养细胞生长的动态变化
Fig. 4 Dynamic change of petiole and rhizome cell growth of *Atractylodes lancea*

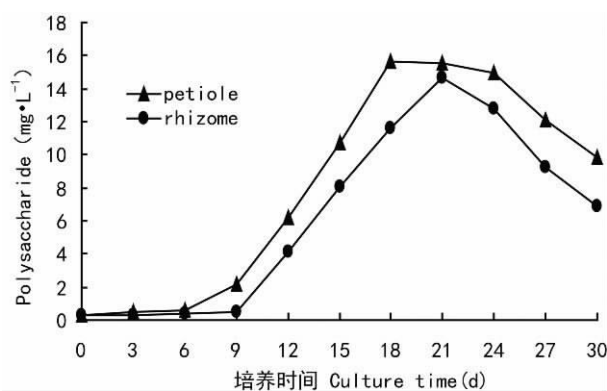


图 5 茅苍术叶柄及根茎悬浮培养细胞多糖的动态变化
Fig. 5 Dynamic change of petiole and rhizome cell polysaccharide of *Atractylodes lancea*

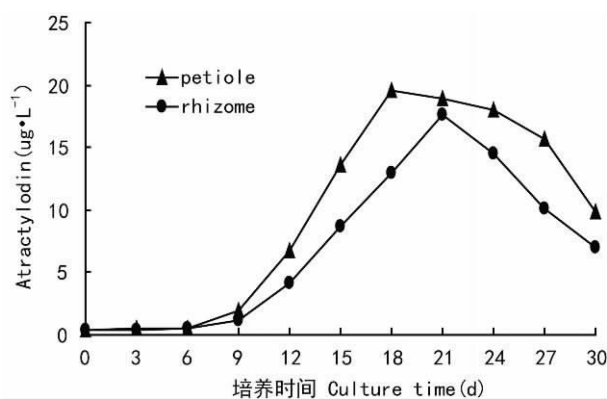


图 6 茅苍术叶柄及根茎悬浮培养细胞苍术素的动态变化
Fig. 6 Dynamic change of petiole and rhizome cell atractylodin of *Atractylodes lancea*

46.29 倍。根茎细胞中多糖及苍术素的含量分别达到 $2.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2.45 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 分别比叶柄细胞

中多糖及苍术素的含量提高了 17.9% 和 13.4%。由此可见, 虽然叶柄细胞能在较短的时间内适应培养环境, 细胞增殖迅速, 较快地进入稳定期, 但不利于多糖和苍术素的生物合成。而根茎细胞生长较慢, 进入稳定期的时间相对滞后, 单位细胞量中多糖及苍术素的含量较高, 但由于根茎细胞总量较少, 所以培养液中多糖及苍术素总积累量低于叶柄细胞培养液中的总量。因此, 通过进一步优化茅苍术叶柄细胞悬浮培养条件, 促进叶柄细胞多糖及苍术素的生物合成, 进一步延长细胞生长的稳定期, 从而有助于多糖、苍术素等茅苍术活性成分的积累。

3 结论与讨论

适宜的植物外植体有助于愈伤组织的诱导, 不同的植物生长调节剂对外植体愈伤组织诱导的影响存在差异。本文研究表明, 茅苍术不同外植体叶柄、叶片、根茎均可诱导出愈伤组织, 尤其是叶柄愈伤组织的诱导率较高, 每种外植体产生的愈伤组织颜色、质地没有显著的区别, 但在长势上表现出一定的差异, 来自于叶柄的愈伤组织长势最好。研究发现 2, 4-D 对茅苍术 3 种外植体愈伤组织均产生极显著的诱导效果。因此, 今后可从生理生化角度进一步探讨 2, 4-D 对叶柄愈伤组织诱导的影响, 从而有助于提高愈伤组织的诱导率、质量和产量, 为茅苍术无菌苗和细胞悬浮培养的研究提供实验材料。

目前利用植物细胞悬浮培养技术进行药用植物次生代谢产物生物合成研究是中药生物技术的重要内容。而优良的植物悬浮培养细胞种质来源多是通过愈伤组织的诱导及单细胞的分离和筛选获得。因而愈伤组织的外观形态和生理状态直接影响到后续建立细胞悬浮系的质量, 愈伤组织越疏松, 细胞的分散程度就越大。因此, 挑选颗粒细小、疏松易碎、外观湿润鲜艳的白色或淡黄色愈伤组织有利于诱导悬浮细胞系(江曙等, 2009)。通过对茅苍术根茎和叶柄愈伤组织的筛选、继代后, 进行细胞悬浮培养, 从细胞生长曲线可看出利用茅苍术的愈伤组织进行细胞悬浮培养是可行的, 这也为茅苍术细胞悬浮培养的进一步研究奠定了基础。通过建立茅苍术细胞悬浮培养体系, 研究茅苍术细胞的生理、生化特点, 并探索其活性成分的积累规律, 对缓解珍稀濒危药物植物资源的短缺矛盾具有重要的理论意义和应用价

值, 有助于实现中药资源的可持续发展。

参考文献:

- Chen JX(陈佳昕), Dai CC(戴传超), Li X(李霞), et al. 2008. Endophytic fungi screening from *Atractylodes lancea* and inoculating into the host plantlet(茅苍术内生真菌的分离鉴定及在组培中的回接)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(2):256—260
- Fu MH(付梅红), Zhu DH(朱东海), Fang J(方婧), et al. 2009. Advances in chemistry, molecular biology and pharmacological of Cangzhu(苍术的化学、分子生物学和药理学研究进展)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **34**(20):2 669—2 672
- Guo FQ(郭方道), Huang LF(黄兰芳), Liang YZ(梁逸曾), et al. 2008. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile compounds from *Atractylodes lancea*(HS-SPME-GC-MS 用于苍术中挥发性成分的分析)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), **20**:452—457
- Guo LP(郭兰萍), Liu JY(刘俊英), Ji L(吉力), et al. 2002. The naphtha composing characteristics of geotherbs of *Atractylodes lancea*(茅苍术道地药材的挥发油组成特征分析)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **27**(11):814—819
- Inagaki N, Komatsu Y, Sasaki H, et al. 2001. Acidic polysaccharides from rhizomes of *Atractylodes lancea* as protective principle in Candida-Infected mice[J]. *Planta Med*, **67**(5):425—428
- Jiang S(江曙), Duan JA(段金廛), Chen JW(陈建伟), et al. 2009. Research on callus induction and cell suspension culture of *Changium myrsinoides*(明党参愈伤组织诱导及其细胞悬浮培养的研究)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **34**(9):1 078—1 081
- Junichik A K, Toru I. 2003. Glycosides of *Atractylodes lancea* [J]. *Chem Pharm Bull*, **51**(6):673—678
- Nakai Y, Kido T, Hashimoto K, et al. 2003. Effect of the rhizomes of *Atractylodes lancea* and its constituents on the delay of gastric emptying[J]. *J Ethnopharm*, **84**(1):51—54
- Sun YZ(孙宇章), Guo LP(郭兰萍), Yang XQ(阳小琼), et al. 2008. Biomass structure analysis of *Atractylodes lancea* in different ecological environments(不同生境下茅山苍术的种群构件生物量分析)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **33**(13):1 516—1 518
- Tao JH(陶金华), Pu XL(濮雪莲), Jiang S(江曙). 2010. Effect of endophytic fungal elicitors on growth and atractylodin accumulation of cell suspension cultures of *Atractylodes lancea*(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]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **36**(1):27—31
- Wang XX(王喜习), Liu JL(刘建利), Liu ZL(刘竹兰). 2008. Research progress of chemical ingredients in *Atractylodes lancea*(苍术属植物化学成分研究进展)[J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药), **30**(7):1 039—1 043
- Yu KW, Kiyohara H, Matsumoto T, et al. 2001. Characterization of pectic polysaccharides having intestinal immune system modulating activity from rhizomes of *Atractylodes lancea*[J]. *Carbohydrate Polymers*, **46**:125—129