

• 综 述 •

活性氧促进道地药材质量形成的假说及其探讨

孟祥才, 王喜军*

黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要: 道地药材质量形成的研究是中药资源研究的重点和难点。环境胁迫可以导致植物体内许多生理生化变化, 无论从发生的先后顺序还是从化学反应进行因果关系分析, 植物代谢的变化应是按活性氧 (ROS) → 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 等酶的活性 → 次生代谢顺序进行, 其中 ROS 是调节代谢的源头, 为生态因子与植物体生理变化之间的媒介物质。生态环境影响药材质量必然通过某些物质为基础的生理过程才能实现, 因此提出了道地药材质量形成 ROS 机制的假说: 生态胁迫通过 ROS 的作用导致植物次生代谢发生改变, ROS 是道地药材质量形成的本质因素之一。该假说丰富了道地药材形成的理论基础, 为中药资源生态学提供一个新的研究领域。同时也探讨了其在提高药材质量中的应用和方法, 通过外施 NO 或一定量 ROS 打破代谢网络平衡系统, 以及外施乙烯、茉莉酸等 ROS 诱导物避开代谢网络的调节等措施, 可提高药材质量, 在某种程度上克服了某些生态因子提高药材质量的同时而导致产量降低的副作用。

关键词: 道地药材; 生态胁迫; 次生代谢; 活性氧; 自由基

中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)04-0799-06

Postulate about active oxygen improving quality of genuine Chinese medicinal materials and its exploration

MENG Xiang-cai, WANG Xi-jun

Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Key words: genuine Chinese medicinal materials; eco-stress; secondary metabolism; active oxygen; free radical

道地药材现代研究开始于 20 世纪 80 年代, 经过 20 余年的努力探索, 道地药材研究虽然在形成原因及某些具体环境因子方面取得一些重要成绩^[1], 但是至今尚未取得突破性进展, 对影响药材质量的生态因子或规律基本上是被应用, 其原因可归纳为两方面: 一是道地药材本身的复杂性和客观性; 二是研究思路和技术水平的局限性^[2]。多学科综合, 扩展研究领域是道地药材研究的一个重要方向。随着科学技术的不断发展, 生物学的介入和 market 分析调查证实影响道地药材质量的因素除环境外, 种质、技术、传媒等都发挥重要作用, 但对道地药材质量形成的研究还是基本停留在宏观的生态因子与药材质量关系的表面层次。

目前, 全国栽培药材种类已近 300 种, 其中大部分为资源匮乏的品种。中药材栽培中, 产量和质量是两个基本的核心内容。虽然育种、施肥、去花、

中耕等许多措施在提高产量方面发挥了重要主观能动作用, 但在药材质量形成方面的研究显得较为薄弱。我国 2002 年 6 月 1 日起开始实施了《中药材生产质量管理规范》(GAP), 旨在提高中药材的质量, 然而在药效成分方面采取的手段和措施主要拘泥于生态环境的选择、采收加工、施肥等传统技术, 手段单一, 缺少创新方法, 仍然受生产区域和质量与产量之间的矛盾所局限, 基本是挖掘自然条件对药材质量影响的作用, 缺少主观作用, 没有从根本上解决提高药材质量的问题。曹晖等^[3]建议将中药材纳入药品管理, 以确保中药材和药品质量的稳定。由于栽培药用植物存在生长环境和生长年限的巨大差异, 采用原有的传统技术, 栽培药材与野生药材之间质量上的差异难以消除。因此对于某些药材, 通过栽培虽然缓解了市场上的供需矛盾, 但是质量的变化会影响中药的疗效; 对野生药材的过度青睐

收稿日期: 2010-06-16

作者简介: 孟祥才 (1967—), 男, 教授, 主要从事药用植物生物学及栽培的研究。E-mail: mengxiangcai000@163.com

*通讯作者 王喜军 Tel: (0451)82193010 E-mail: wxj@hljucm.net

也难以停止对中药资源的破坏。

无论是栽培还是野生的药材,有关质量形成的研究仍是一个难点。许多药材的质量是在生态胁迫(也称“逆境”)条件下形成的,环境影响药材质量必然通过某些物质为基础的生理过程才能实现,根据环境对药材质量形成的本质认识,从仿生的角度干预药用植物代谢,提高次生代谢产物的量,并最大可能保持原植物药材的各成分比例,为道地药材质量形成的机制研究及提高栽培药材质量提供新的思路。

1 国内外植物生态胁迫条件下生理变化与次生代谢的研究现状

1.1 环境影响道地药材形成的本质因素之一是生态胁迫

次生代谢与初生代谢一样是植物体内重要的生理过程。次生代谢产物是指在植物中产生的对于正常细胞生命活动或植物生长发育并非必需的小分子有机化合物。植物的次生代谢是植物在长期进化中与环境相互作用的结果,次生代谢产物在植物提高自身保护和生存竞争能力、协调与环境关系上充当着重要的角色^[4],且往往是植物药的主要活性成分。

生物在非最适条件的次分布区,个体生长会发育不良或频率较低,植物在胁迫条件下次生代谢产物会增多,这是一种较为普遍的现象,这种现象往往是受某些或某个因子的限制所致,导致其道地产区在空间上位于物种整个分布的边缘,并非最适生长区域,由此产生“边缘效应”^[5]。植物面临环境胁迫时,次生代谢产物能提高植物自身保护和生存竞争能力。例如,光照条件下才能够产生黄酮类物质,叶片中大量积累的黄酮类物质可以保护叶片免受过强光照的伤害;植物受到伤害后产生酚类和萜类物质,防止微生物的入侵;受干旱影响植物体内积累大量甜菜碱、脯氨酸等物质降低水势,提高抗旱能力;紫外线 B 辐射可升高酚类物质的量等。植物生理生态学从环境与次生代谢的关系和机制方面进行了较为深入地研究,提出了碳素/营养平衡、生长/分化平衡、最佳防御、资源获得等多种假说^[6],Herms 和 Mattson 丰富了原有的环境影响植物次生代谢的碳素/营养平衡假说和生长/分化平衡的假说,认为任何限制生长的作用大于光合作用,都会促进次生代谢产物的形成,从而对生物防御、抗紫外线、抗寒、抗干旱等生态胁迫发挥重要的作用^[7]。

1.2 生态胁迫可导致活性氧代谢失衡

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体内有氧化代谢产生的一类活性较高的含氧化合物,主要包括:超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧($O_2^{\cdot}$)、一氧化氮(NO)等。细胞中叶绿体、线粒体、过氧化物体、细胞壁、质膜等部位均可产生 ROS,其中叶绿体和线粒体是植物产生 ROS 的主要部位。通过对 ROS 产生机制的深入研究,证明了植物在生态胁迫条件下的多种信号分子,如脱落酸、多胺和乙烯等量的改变都与 ROS 变化有密切关系^[8-10]。在干旱脱水、盐害、冷害、热激、重金属污染、紫外线辐射、机械压力、营养缺乏、病原菌侵袭和强光等^[11-12]生态胁迫条件下,植物细胞的叶绿体固定 CO_2 消耗的光能与吸收的光能的平衡常常被打破,造成吸收光能过剩,又由于环境胁迫脱落酸导致气孔关闭阻碍了光合作用产生的 O_2 外排,积累的 O_2 被还原成 $O_2^{\cdot-}$ (即 Mehler 反应),实践证明胁迫下产生 ROS 是植物细胞一个普遍特征,也是主要的特征^[13]。在线粒体中,有 2%~3% 的电子由呼吸链酶复合体 I 和 III 处漏出,使分子氧发生单电子还原,生成 $O_2^{\cdot-}$ ^[14]。 $O_2^{\cdot-}$ 又可与 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 、NO 等 ROS 进行转化,产生各种生理和代谢的变化。

生物体内 ROS 的增加将产生两种后果^[15-16]:一是低浓度 ROS 作为信号分子引发适应和防御反应。在多种 ROS 中, H_2O_2 能够穿透质膜通道进行跨膜扩散,行使信号分子功能^[17]; NO ^[18] 和 $O_2^{\cdot-}$ ^[19] 也可能起信号作用。生态胁迫引起细胞内叶绿体、线粒体、过氧化物体和质外体中 H_2O_2 的产生,并在初期抑制超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化酶(APX)等抗氧化酶的活性,以保证其作为信号信使的功能。当其完成信使功能后,SOD、CAT 和 APX 等活性升高,恢复其低水平稳定状态,以降低对生物体的毒害^[16]。二是高浓度 ROS 作为损伤因子加重细胞和有机体的损害。高浓度 ROS 能提高还原型辅酶 II(NADPH)以及过氧化物体和细胞壁中的氧化酶活性,造成更多的 ROS 产生,同时,又使 SOD、CAT、过氧化物体酶(POD)、APX 活性以及抗坏血酸和谷胱甘肽的水平降低,ROS 与抗氧化系统间的平衡被破坏,以致引发 ROS 的大量积累^[14], $O_2^{\cdot-}$ 可增加 3 倍, H_2O_2 增加 20 倍^[15],造成多方面的生理损害和代谢异常^[11,20],这是环境胁迫与正常条件下生理代谢的本质差异。

1.3 ROS 失衡是次生代谢或异常代谢的物质基础

1.3.1 ROS 改变次生代谢的理论基础研究 基因网络有两个基本原则:冗余和灵活。有些基因在正常情况下不是必需的,而在生态胁迫条件下是不可或缺的^[21]。近些年来研究发现,ROS 可能通过从质膜到细胞核不同水平的多种信号分子的网络途径完成信使功能,从细胞活动的基因表达、酶的合成和活性、各种酶促反应等不同层次影响次生代谢过程^[14]:(1)启动基因表达。通过蛋白激酶核蛋白磷酸酶对靶蛋白磷酸化和脱磷酸化,启动相关基因表达,是生物体对外界刺激反应最普遍的信号转导通路。(2)激活 Ca^{2+} 通道。ROS 可以活化质膜 Ca^{2+} 通道,引起胞内 Ca^{2+} 水平升高,启动 Ca^{2+} 信号传递途径。 Ca^{2+} 信号在介导蛋白激酶磷酸化和脱磷酸化、诱导有关基因表达方面,已在植物对低温、干旱和盐胁迫的适应反应中有许多可信的证据。(3)修饰蛋白结构,产生特异反应,如 ROS 可以通过二硫键的形成和裂解而改变蛋白的结构和功能,细胞内的 ROS 水平的升高引起某些酶的活性升高。(4)直接或间接作用于转录子。这些生理生化变化均可导致一些新的代谢过程的发生,是 ROS 改变次生代谢的基本理论基础。

植物可产生交叉抗性。交叉抗性是指植物通过某种生态胁迫诱导而提高了对多种生态胁迫的耐受力,如臭氧或 UV 处理增强了拟南芥和烟草的抗病性;乙烯处理的大豆和花生对臭氧有了抵抗力;干旱处理增强了花生对除草剂百草枯的抵抗力^[11]。“多因一效”与“一因多效”证明能够决定植物对生态胁迫反应的基本物质可能为同一类物质——ROS^[13]。由于各种生物体的基因、酶、 Ca^{2+} 通道等方面存在较大的差异,ROS 作用于不同生物体或不同靶点而产生不同的生物学效应,即同一环境因子对不同植物可产生不同的生物学效应,不同环境因子可能产生相同的生物效应,这也可能是形成“一药多道地”和“多药一道地”现象^[22]的原因,“多因一效”与“多药一道地”、“一因多效”与“一药多道地”可能是相对应的。

1.3.2 ROS 与次生代谢和异常代谢的因果关系 根据现有的大量文献分析,生态胁迫可能通过 ROS 代谢改变而影响植物次生代谢(或异常代谢),并由此导致次生代谢产物量升高。对人体大量研究表明,衰老、肿瘤、动脉粥样硬化、糖尿病、黄褐斑、白内障、纤维化疾病等各种疾病,以及电力辐射、中毒、吸烟等危害触发的异常代谢都与 ROS

有着密切的关系^[23]。

在胁迫条件下植物中 ROS 普遍升高^[6],同时次生代谢的物质质量也明显升高。从发生的时间分析,生态胁迫能即刻导致 ROS 代谢失衡^[13-14], H_2O_2 是诱导拟南芥表皮气孔关闭的次级信使^[24];而各种酶和多种相关生化指标在 1~4 d 内缓慢变化^[25],次生代谢产物作为酶的产物将会更晚产生。从化学反应进行因果关系分析,大量研究显示植物代谢的变化只能是按 ROS→酶的活性→次生代谢顺序进行,为 ROS 与次生代谢的密切关系提供了大量的间接证据。综上所述,道地药材形成的本质因素之一是生态胁迫,生态胁迫可导致 ROS 代谢失衡和次生代谢增强。因此 ROS 可能是异常代谢或次生代谢的物质基础,是调节次生代谢的源头,为生态因子与植物体生理变化之间的媒介物质。

1.3.3 ROS 有关的生理生化以及提高次生代谢产物产量的研究 ROS 与次生代谢的关系已有许多间接和直接的证据。ROS 的水平通常由抗氧化酶的活性反映出来,抗氧化酶活性的变化也反映了 ROS 对次生代谢的作用。如不同程度干旱胁迫的甘草幼苗 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率, H_2O_2 、MDA 和可溶性蛋白量, SOD、CAT、POD 活性都有明显变化^[26]。这些生理变化与一定生态胁迫条件下甘草的质量形成的结论相一致。25% PEG 6000 处理甘草子叶愈伤组织时,过度的干旱导致 POD 酶的活力下降,甘草黄酮的量约为对照的 1.379 倍^[27]。高能流低功率激光照射是通过 ROS 诱导线粒体通透性的变化,从而激活酪氨酸激酶^[28]。银杏雄株 CAT、POD 活性及抗氧化能力高于雌株^[29],雌株易受环境的干扰^[30],说明 ROS 对雌性植株影响较大,而银杏黄酮在雌性植株中的量为 0.71%,雄性仅为 0.45%,且雌性植株中内酯类成分的量也较高^[31]。

ROS 可促进次生代谢产物量的提高。水杨酸可诱导 ROS 爆发,上调青蒿素基因的表达,使二氢青蒿酸转化为青蒿素,提高青蒿素产量^[32]。白杨在干旱生态环境下,由于 ROS 的介导作用,上调与干旱逆境有关的蛋白表达,促进次生代谢产物的量大幅度提高^[33]。当 ROS 与重金属诱导子 phytoprostane 合成后,特定的刺激物干扰了膜受体,引起茉莉酮大量合成,进一步促进次生代谢产物的生成^[34]。重金属诱导产生的 ROS 可引起脂质过氧化反应,产生相应的信号触发次生代谢产物生成,提高次生代谢物质的量^[35]。NO 是植物代谢的重要信号因子,可

提高很多植物次生代谢产物的量,其效应与其抑制 SOD、CAT、GP 等多种抗氧化酶的活性^[11],破坏氧化平衡系统,提高 ROS 量有密切关系。

ROS 对次生代谢的作用可能存在多种途径,其中对乙烯和茉莉酸作用的研究较为深入^[9,36-37]。乙烯和脱落酸是与植物生态胁迫密切相关的两种激素,有大量文献证明植物环境胁迫与次生代谢的关系是通过脱落酸引起 ROS 和乙烯变化而实现的^[38]。机械损害 120 min 后,南瓜果实果皮中 $O_2^{\cdot-}$ 的产生增加约 8 倍,同时乙烯产生速率提高 6 倍,而且乙烯形成的 ACS 酶基因高度表达^[39]。一般风害条件可促进乙烯的产生而增加茎的机械强度,以降低对植物体的危害。活性氧、活性氮、钙内流和有丝分裂原激活蛋白激酶可级联激活茉莉酸信号转导^[40]。NO 增加粉葛 *Pueraria thomsonii* Benth. 悬浮细胞培养液中葛根素合成是通过茉莉酸和水杨酸完成的^[41]。

2 目前研究存在的问题

目前对道地药材的研究存在以下两方面问题:一是研究只是停留在表面宏观现象,未触及机制研究。人们对环境影响药材质量的认知已有千年的历史,但目前的研究也仅是某一具体的环境因子与质量的关系,对环境是如何影响植物的代谢机制尚不明确。二是研究成果在生产中尚难以应用。自然状态下药材质量的形成需要环境因子的长期作用,而对环境因子的作用难以进行量化和干预。因此,对环境与药材质量的关系只能是被动运用。为此,中药资源生态学理论方法研究、中药资源生态学适宜性评价方法和指标的建立、中药质量与生态环境的相关性研究已成为中药资源生态学理论研究的热点和难点。中药资源品质形成的生态学研究是中药资源生态学最重要、最独特的研究内容;道地药材的研究也成为这一领域的核心内容^[42]。

3 ROS 研究对道地药材生产应用前景展望

3.1 丰富道地药材形成的理论基础

在理论上,生态胁迫对道地药材形成的机制研究实现了从宏观到微观、从现象到本质的转变,建立了道地药材理论研究的新方法,扩展了道地药材的研究领域,将是中药资源生态学研究的一项广阔的研究领域。通过生态胁迫条件下的本质差异的研究将会阐明道地药材的质量形成机制,进而可以建立中药资源生态学适宜性评价方法和指标,并在生产上通过代谢干预,提高药材的质量。因此,本文提出 ROS 促进道地药材质量形成的假说:生态胁迫

通过 ROS 的作用导致植物次生代谢发生改变,ROS 是道地药材质量形成的本质因素之一。

由于自然条件下各种生态因子作用错综复杂,对药材质量形成的影响周期也较长,较难确定单一生态因子的作用,而 ROS 对植物的作用可在很短的时间内就表现出来,通过对 ROS 的变化研究,能很快地获得相应的结果,使单一环境因子或综合环境因子的生态作用的研究简单化。

ROS 作为信号因子可以引发适应和防御反应,是生命活动所必需的。在长期的进化过程中植物体内形成了一个错综复杂的 ROS 稳态平衡系统,各种抗氧化酶、多酚类等物质均可以对其进行调解,使其保持一个稳定状态;而在正常条件下增施外源物质难以稳定地提高体内 ROS 水平。但是,植物体内 ROS 的平衡也并非是一成不变的,对植物次生代谢可采用以下措施进行调控:(1) ROS 是一个相对的稳态平衡系统,高浓度 ROS 作为损伤因子加重对细胞和有机体的损害,降低抗氧化酶的水平,在适宜阶段可以有效打破这种平衡。(2) 根据抗氧化酶的变化规律,确定调控的时间和方式。(3) 采用外施 NO 及 ROS 的诱导物进行调控,避免 ROS 稳态平衡系统的作用。(4) 通过外源抗氧化酶的抑制剂抑制酶的活性,以提高 ROS 水平。

3.2 在中药材优质高产中发挥指导作用

目前 ROS 对提高次生代谢产物产量研究也较多。中药材的有效成分复杂,其疗效是其所含的多种成分共同作用的结果,几种有效成分难以评价药材的质量。在对墨西哥柏木 *Cupressus lusitanica* Mill. 的细胞培养研究中,证明 ROS 的产生先于氧化应激反应,激活乙烯路径,诱导产生乙烯和 β -侧柏素, H_2O_2 也可诱导产生 β -侧柏素,但 $O_2^{\cdot-}$ 诱导细胞死亡而不能诱导产生 β -侧柏素^[43]。在红豆杉 *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd. 细胞悬浮培养中,低能量的超声能迅速地增加 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、茉莉酸的量和多种抗氧化酶的活性,增强了紫杉醇的合成,而使用 ROS 抑制剂或脂氧合酶抑制剂可抑制茉莉酸积累,进一步抑制了紫杉醇的产生,说明氧化反应的快速发生先于茉莉酸的积累^[44]。ROS 还可调节烟草和其他植物未分化细胞的生物碱代谢^[45]等。

ROS 的诱导产物可提高植物次生代谢产物的量也间接证明了其在中药材的生产中起重要指导作用。乙烯可诱导枫香树脂道的形成和提高挥发油的产量^[46];茉莉酸和 NO 可提高苦参细胞悬浮培养液

中苦参碱的量,并且二者具有协同作用^[47];在胀果甘草悬浮培养中,茉莉酸甲酯能够引起细胞产生防御反应,并提高防御反应的关键酶的活性,同时细胞膜在一定程度上仍发生过氧化,但最终促进了甘草总黄酮的合成,其最大产量达到对照的3.39倍^[48]。

生态胁迫对道地药材形成的机制研究在中药材优质高产生产中的指导作用可体现在两个方面:一是提高栽培药材的质量。环境因子较难控制,而ROS导致的生理生化改变较易控制,通过ROS或ROS生成剂的使用,可干预生理反应,实现对植物次生代谢的调控,从而提高药材质量。二是提高产量。次生代谢产物的合成需要大量的能量,所以植物生态胁迫中生长较为缓慢,在宏观方面就可得到明显的感知。以次生代谢产物为有效成分的药用植物种植时,传统手段难以做到既高产又优质^[49]。

通过生态胁迫对道地药材形成机制的阐明,可为中药材高产优质技术提供新的手段。在较适宜的环境条件下,可使植物生长旺盛,获得较高的产量。由于ROS具有短期效应,在采收前的适宜时间内,通过增施一定量的ROS进行适当的人为干扰,增加植物的次生代谢,可提高药材的质量,从而可最大程度保证药材的优质和高产。目前,全国栽培药材种类已近300种,在我国常见的200种中药材中,有85%的药材进行栽培。因此,ROS与道地药材关系的研究在实践中具有较广泛应用前景,将会极大促进我国中医药产业的发展。

参考文献

- [1] 杨生超,赵昶灵,文国松,等.植物药材道地性的分子机制研究与应用[J].中草药,2007,38(11):1738-1741.
- [2] 肖小河,陈士林,黄璐琦,等.中国道地药材研究20年概论[J].中国中药杂志,2009,34(5):519-524.
- [3] 曹晖,于留荣,王孝涛.我国中药产业管理体制的变迁及中药材按照药品管理的思考[J].现代药物与临床,2011,26(1):4-9.
- [4] 苏文华,张光飞,李秀华,等.植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系[J].中草药,2005,36(9):1415-1418.
- [5] 黄璐琦,陈美兰,肖培根.中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说[J].中国中药杂志,2004,29(6):494-497.
- [6] 赵福庚,何龙飞,罗庆云.植物环境胁迫生理生态学[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [7] Schoonhoven L M, Jermy T, ven Loon J A. *Insect-plant Biology from Physiology to Evolution* [M]. London: Chapman and Hall, 1998.
- [8] Neil S, Desikan R, Hancock J. Hydrogen peroxide signalling [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(5): 388-395.
- [9] 刘建新,胡浩斌,赵国林.干旱胁迫下多裂骆驼蓬(*Peganum multiseptum* Bobr) 叶片乙烯释放和多胺含量变化与活性氧积累的关系[J].生态学报,2008,28(4):1579-1586.
- [10] 柯德森,王正询.植物乙烯生物合成过程中活性氧的作用[J].武汉植物学研究,2009,27(3):327-331.
- [11] 郑荣梁,黄中洋.自由基生物学[M].第3版.北京:高等教育出版社,2007.
- [12] Tamás L, Mistrík I, Huttová J, et al. Role of reactive oxygen species-generating enzymes and hydrogen peroxide during cadmium, mercury and osmotic stresses in barley root tip [J]. *Planta*, 2010, 231(2): 221-231.
- [13] 赵福庚,何龙飞,罗庆云.植物逆境生理生态学[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [14] 简令成,王红.环境胁迫植物细胞生物学[M].北京:科学出版社,2009.
- [15] Vandenabeele S, Vranova E. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57(5): 779-795.
- [16] Mittler R. Oxidative stress, anti-oxidants and stress tolerance [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(9): 405-410.
- [17] Lamattina L, Garcia-Mata C, Graziana M. Nitric oxide: The versatility of an extensive signal molecule [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54(6): 109-136.
- [18] Hu X, Li W, Chen Q, et al. Early signal transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant [J]. *Plant Signal Behav*, 2009, 4(8): 696-697.
- [19] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, et al. Reactive oxygen gene network of plants [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9(10): 490-498.
- [20] Bartoli C G, Gomez F, Martinez D E. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2004, 55(403): 1663-1669.
- [21] Kanwischer M, Porfirova S, Bergmuller E. Alterations in tocopherol cyclase activity in transgenic and mutant plants of *Arabidopsis* affect tocopherol content, tocopherol composition, and oxidative stress [J]. *Plant Physiol*, 2005, 137(2): 713-723.
- [22] 李隆云,肖小河,秦松云.道地药材的形成与分化探讨[J].中国中医药科技,1999,6(2):105-108.
- [23] 海春旭.自由基医学[M].西安:第四军医大学出版社,2006.
- [24] Kolla V A, Vavasseur A, Raghavendra A S. Hydrogen peroxide production is an early event during bicarbonate induced stomatal closure in abaxial epidermis of *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2007, 225(6): 1421-1429.

- [25] 张 志. 温度胁迫对草坪草生理指标影响 [J]. 生态环境, 2008, 17(4): 1577-1588.
- [26] 谢亚军, 王 兵, 梁新华, 等. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响 [J]. 农业科学研究, 2008, 29(4): 19-22.
- [27] 程焕欣, 梁玉玲, 姚红宝. 干旱胁迫对甘草愈伤组织总黄酮含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5633-5635.
- [28] Wu S, Xing D, Gao X, *et al.* High fluence low-power laser irradiation induces mitochondrial permeability transition mediated by reactive oxygen species [J]. *J Cell Physiol*, 2009, 218(3): 603-611.
- [29] 王双明. 不同性别银杏植株叶片生理生化特性探析 [J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 49-51.
- [30] 胥 晓, 杨 帆, 尹春英, 等. 雌雄异株植物对环境胁迫响应的性别差异研究进展 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(11): 2626-2631.
- [31] 池静端, 白秀峰, 刘爱茹, 等. HPLC 法测定银杏叶中 6 种黄酮类成分的含量 [J]. 药学学报, 1997, 32(6): 625-630.
- [32] Pu G B, Ma D M, Chen J L, *et al.* Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. [J]. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(7): 1127-1135.
- [33] Xiao X, Yang F, Zhang S, *et al.* Physiological and proteomic responses of two contrasting *Populus cathayana* populations to drought stress [J]. *Physiol Plant*, 2009, 136(2): 150-168.
- [34] Thoma I, Krischke M, Loeffler C, *et al.* The isoprostanoid pathway in plants [J]. *Chem Phys Lipids*, 2004, 128(1-2): 135-148.
- [35] Nasim S A, Dhir B. Heavy metals alter the potency of medicinal plants [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2010, 203: 139-149.
- [36] Ke D S, Sun G C. The effect of reactive of reactive oxygen species on ethylene production induced by osmotic stress in etiolated mung bean seedling [J]. *Plant Growth Regul*, 2004, 44(2): 199-206.
- [37] 柯德森, 王正询, 巫锦雄, 等. 环境胁迫绿豆幼苗呼吸、活性氧及乙烯产生关系研究 [J]. 广州大学学报: 自然科学版, 2009, 8(4): 23-27.
- [38] Wei K, Jin X, Chen X, *et al.* The effect of H₂O₂ and abscisic acid (ABA) interaction on beta-amylase activity under osmotic stress during grain development in barley [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(2): 132-138.
- [39] Wilkinson S, Davies W J. Ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community [J]. *Plant Signal Behav*, 2009, 4(2): 100-108.
- [40] Hu X, Li W, Chen Q, *et al.* Early signal transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant [J]. *Plant Signal Behav*, 2009, 4(8): 696-697.
- [41] Xu M, Dong J, Zhu M. Nitric oxide mediates the fungal elicitor-induced puerarin biosynthesis in *Pueraria thomsonii* Benth. suspension cells through a salicylic acid (SA)-dependent and a jasmonic acid (JA)-dependent signal pathway [J]. *Sci Sin C*, 2006, 49(4): 379-389.
- [42] 黄璐琦, 郭兰萍. 中药资源生态学研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007.
- [43] Zhao J, Fujita K, Sakai K. Oxidative stress in plant cell culture: a role in production of beta-thujaplicin by *Cupressus lusitanica* suspension culture [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2005, 90(5): 621-631.
- [44] Wu J, Ge X. Oxidative burst, jasmonic acid biosynthesis, and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus chinensis* cell suspension cultures [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2004, 85(7): 714-721.
- [45] Sachan N, Rogers D T, Yun K Y, *et al.* Reactive oxygen species regulate alkaloid metabolism in undifferentiated *N. tabacum* cells [J]. *Plant Cell Rep*, 2010, 29(5): 437-448.
- [46] 陆祖军, 王永繁. 枫香干枝在创伤、创伤乙烯利处理条件下树脂道的形成和分布 [J]. 中草药, 1999, 30(6): 456-459.
- [47] Xu M J, Dong J F. Synergistic action between jasmonic acid and nitric oxide in inducing matrine accumulation of *Sophora flavescens* suspension cells [J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(1): 92-101.
- [48] 杨 英, 郑 辉, 何 峰, 等. 不同浓度茉莉酸甲酯对悬浮培养的胀果甘草细胞合成甘草总黄酮的影响 [J]. 云南植物研究, 2008, 30(5): 586-592.
- [49] Gershenzon J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants [J]. *Chem Ecol*, 1994, 20(6): 172-176.