

影响白术挥发油积累因素的研究进展

阳湖荣, 袁洁, 戴传超*

南京师范大学生命科学学院, 江苏省微生物功能与基因组学重点实验室 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心,
江苏 南京 210023

摘要: 菊科苍术属白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎为白术的药用部位, 是常用的传统中药, 具有健脾、美容等功效。挥发油是白术的主要药用成分, 其中主要含有倍半萜类化合物, 具有明显的抗肿瘤作用。近年来, 白术的市场需求量逐渐增加, 然而其质量却参差不齐。对白术次级代谢产物挥发油中倍半萜的生物合成和转化途径进行综述, 并从遗传和生态角度总结了影响白术挥发油积累的主要因素, 以期研究白术倍半萜的合成和转化途径提供参考, 为提高白术挥发油的产量和品质提供帮助。

关键词: 白术; 挥发油; 倍半萜; 生物合成和转化; 遗传因素; 生态因素

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)03-0754-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.03.035

Research progress on factors affecting accumulation of volatile oil from *Atractylodes Macrocephala*

YANG Hu-rong, YUAN Jie, DAI Chuan-chao

Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Industrialization of Microbial Resources, Jiangsu Key Laboratory for Microbes and Functional Genomics, College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

Abstract: *Atractylodes macrocephala*, belonging to *Compositae* family, whose dry rhizome as its medicinal parts, is a famous traditional Chinese medicine, with the function of tonifying spleen, aesthetic improvements and so on. Its main medicinal ingredient is volatile oil, which has obviously effect of antitumor. Recently, the market demand of this herb gradually increased, while its quality has not been guaranteed. This paper concluded the process of biosynthesis and transformation of sesquiterpenoids, an important secondary metabolite in volatile oil; And firstly reviewed the factors affecting the accumulation of volatile oil in *A. macrocephala* in the aspects of inheritance and ecology. It is expected to provide a reference for the further study of the biosynthesis and biotransformation of sesquiterpenoids in *A. macrocephala* and help to improve the yield and quality of the volatile oil.

Key words: *Atractylodes macrocephala* koidz.; volatile oil; sesquiterpenoids; biosynthesis and biotransformation; genetic factors; ecological factors

白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 为菊科苍术属多年生草本植物, 其干燥根茎为著名的传统中药^[1]。白术性温, 有健脾、益气、止汗、安胎、美容、抗炎等多种功效^[2-4]。白术的化学成分复杂, 主要含有挥发油、内酯、多糖和氨基酸^[5]。挥发油作为白术最主要的药用成分之一, 其抗肿瘤效果明显^[6], 具有重要的临床医学价值, 尤其在中成药以及保健品等方面需求量较大。

白术在中国安徽、浙江、江西、湖南、四川等

省份均有栽培。野生白术曾经分布广泛, 但由于过度采挖, 野生白术现已稀缺^[7], 如今药用白术主要为栽培品。病虫害的威胁和生态环境的破坏等因素导致栽培白术出现抗虫害能力减弱、挥发油产量减少、质量下降等问题。而国内外对白术的需求量较大。据 2008 年市场调查显示, 白术的全球年需求量为 $6 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$ t^[7]。因此, 很有必要对影响白术挥发油积累的因素进行总结, 并且应用可行的生物学手段来促进白术药用成分的合成和积累, 为提高

收稿日期: 2017-03-01

基金项目: 南京市产学研合作项目 (201306019)

作者简介: 阳湖荣 (1994—), 湖南衡阳人, 硕士, 研究方向为植物内生菌与药用植物的相互作用。Tel: 18260027679 E-mail: 18373299502@163.com

*通信作者 戴传超, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物与微生物相互作用和微生物生态。Tel: (025)85891382 E-mail: daichuancho@njnu.edu.cn

白术挥发油产量、优化药材质量提供理论基础，从而改善市场高品质白术供不应求的现状。

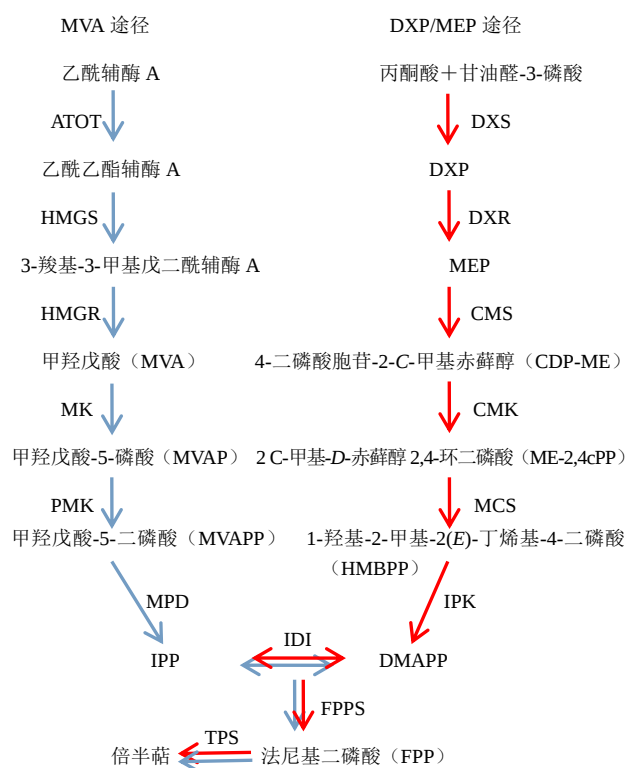
目前对于白术挥发油的药用成分^[8]以及药理作用研究比较全面，而关于其生物合成和代谢的具体影响因素和机制研究较少。与其他植物一样，白术挥发油的积累受自身遗传因素和自然环境的影响。遗传是内在因素，对植物的生长发育起决定性作用。在影响萜类化合物合成的因素中，研究较热的是 bHLH (basic helix-loop-helix) 家族的转录因子^[8]。环境中影响白术挥发油积累的因素主要包括气候、水分、土壤、生物因素等。值得注意的是，植物内生菌作为一种特殊的有益微生物，能够显著促进多种药用植物活性成分的积累，是植物-微生物互作研究的一个重要方向。本文从遗传因素和生态因素角度出发，综述了影响白术挥发油积累因素的研究进展，为研究白术挥发油合成和积累的机制提供参考，同时对保证白术药材的产量和品质具有潜在应用价值。

1 白术挥发油成分及植物体内倍半萜类化合物合成途径

挥发油是白术抗肿瘤的有效活性成分，占白术的 1.40%~2.39%^[9]，经水蒸气蒸馏法提取后为黄色澄清油状液体^[10]。白术挥发油中含萜类成分和内酯衍生物^[11]，萜类成分居多，主要为倍半萜类化合物^[12]。倍半萜类化合物结构和功能多样，因此具有独特的生物学特性。研究表明，白术挥发油中苍术酮量最高，约 61%^[13]，但不稳定，极易受光照、温度以及 pH 的影响氧化分解，转化成白术内酯^[14]。不同产区的白术挥发油成分存在较大差异。周枝凤等^[15]通过水蒸气蒸馏法对白术挥发油进行提取和鉴定比较，发现湖南平江、怀化以及浙江白术的挥发油分别含有 61、54、58 个组分，其中白术内酯 I、II 是 3 个产区白术挥发油中主要的共有成分。孙林芳等^[13]研究表明，白术内酯 I、III 是白术挥发油中含量较高且较稳定的成分。

植物细胞中萜类化合物分别在胞质和质体中存在 2 种合成途径，即甲羟戊酸 (mevalonate, MVA) 途径和脱氧木酮糖-5-磷酸 (1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate, DXP)/甲基赤藓醇-4-磷酸 (methylerythritol-4-phosphate, MEP) 途径，其中倍半萜主要通过 MVA 途径合成。MVA 途径以乙酰辅酶 A 为前体合成异戊烯基焦磷酸 (IPP)。IPP 在异戊烯基二磷酸异构酶 (IDI) 的作用下形成其异构体二甲基烯丙基二

磷酸 (DMAPP)^[12]，IPP 和 DMAPP 是所有萜类化合物的共同前体物质，二者在不同的萜烯合酶 (TPS) 作用下转化为多种多样的萜类化合物，由倍半萜烯环化酶催化形成环状的倍半萜 (图 1)^[16-17]。2 种途径中的限速酶主要有 3 种，即 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 (HMGR)、脱氧木酮糖-5-磷酸合酶 (DXS) 和脱氧木酮糖 L 磷酸盐还原异构酶 (DXR)^[18]。另外，法尼基二磷酸合酶 (FPPS) 将 1 个 DMAPP 单元和 2 个 IPP 单元融合成法尼基二磷酸 (FDP，倍半萜生物合成途径的中心中间体)^[19]，萜烯合酶的编码基因在植物体内表达量低，而且具有时空特异性^[20]，这 2 种酶也是重要的调控位点。



ATOT-乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶 HMGS-羟甲基戊二酰辅酶 A 合酶
MK-MVA 激酶 PMK-二氧磷酸基 MVA 激酶 MPD-MVA 焦磷酸
脱羧酶 CMS-4-二磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓醇合酶 CMK-4-
二磷酸胞苷-2-C-甲基赤藓糖激酶 MCS-2-甲基赤藓糖-2,4-环二
磷酸合酶 IDI-异戊烯基二磷酸异构酶 IPK-异戊烯基单磷酸激酶
ATOT-acetoacetyl-CoA thiolase HMGS-hydroxymethyl glutaryl
CoA synthase PMK-dioxo-phosphoryl MVA kinase MPD-MVA
pyrophosphate decarboxylase CMS-4-cytidine diphosphate-2-C-
methyl-D-erythritol synthase CMK-4-cytidine diphosphate-2-C-
methyl erythritol kinase MCS-2-methyl erythritol-2,4-cyclic
diphosphate synthase IDI-isopentenyl diphosphate isomerase
IPK-isopentenyl monophosphate kinase

图 1 植物倍半萜生物合成途径^[18]

Fig. 1 Biosynthetic pathway of sesquiterpenoids of plants

倍半萜类化合物是植物的次级代谢物, 合成后易受生物催化剂的影响而被加工, 从而形成新颖的甚至活性更强的天然化合物^[21]。倍半萜容易受植物和微生物的影响发生羟基化、羰基化、环氧化、开环、氢化以及发生消除和重排等反应^[22]。 α -山道年属于倍半萜内酯类化合物 (SQLs), 具有抗炎、抗菌、抗癌等功能^[23]。经培养的地钱 *Marchantia polymorpha* L. 植物细胞内含多种酶, 可使 α -山道年进行氢化反应, 生成 1,2-二氢- α -山道年 (1,2-dihydro- α -santonin)^[24]。利用真菌紫孢侧耳 *Pleurotus sapidus* (Schulz.) Sacc. 可将双环倍半萜 (+)-瓦伦烯羧基化, 使之氧化为倍半萜酮 (+)-诺卡酮^[25]。这些结果表明, 药用植物的倍半萜成分可能会受酶或微生物的影响而发生转化。

2 影响白术挥发油积累的遗传因素

几乎所有生物的表型都由基因和环境的共同作用决定, 基因是影响植物生理机制的内在遗传因素^[26]。白术挥发油的合成不仅受到多基因编码调控, 也受转录水平的调控。毛碧增等^[27]用基因枪介导法转化水稻几丁质酶基因 *rch10* 和苜蓿 β -1,3-葡聚糖酶基因 *aglu*, 连接质粒导入白术茎尖, 培养得到抗病性增强的转基因株系。而白术体内次级代谢物与其防御功能存在一定联系^[28], 提示利用基因工程等生物手段对白术进行定向改造有可能获得高品质药材。bHLH 转录因子通过在转录水平上特异性识别相关基因启动子上的顺式作用元件, 参与调控萜类次生代谢产物的合成, 与植物生长发育、次级代谢物形成以及防御反应和激素信号密切相关^[29]。其中, *myc* 是研究最多的 1 类 bHLH 转录因子。植物受外界刺激时, *myc* 能够应答茉莉酸和赤霉素信号, 调控挥发性倍半萜的形成。据报道, 拟南芥受外界刺激时, *myc* 能够应答茉莉酸和赤霉素信号, 调控挥发性倍半萜的形成^[30], 在白术同属植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 中也有类似发现^[31]。这说明, 在防御过程中, 白术体内的倍半萜合成很有可能也受到 *myc* 转录因子的调控。

在遗传学基础上利用合成生物学手段可以有效提高萜类化合物的生产水平。天然的萜类化合物主要来源于植物和微生物。植物本身的合成萜类含量极低, 而且极易受自然环境和人工因素的影响, 因而萜类化合物在植物体内产量较低。近年来, 不少研究者借助合成生物学手段通过改造微生物来解决这一问题^[32]。Ro 等^[33]首先在酵母细胞中过表达了

青蒿倍半萜合成关键酶紫穗槐二烯合酶基因, 之后又通过染色体重组将合成途径整合到酵母基因组中, 在菌株中重构 MEP 途径, 使 FPP 合成相关的基因表达上调, 进而将青蒿中紫穗槐二烯的产量提高至原产量的 500 倍, 并且在基因水平上改造了菌株的遗传稳定性。通过在大肠杆菌中加入可调节莽草酸激酶合成基因表达的代谢调控开关^[34], 克服了微生物生产莽草酸时需要加入芳香化合物诱导这一缺陷, 同时也降低了成本。也有人通过向植物中引入强启动子, 驱动萜类合酶基因过表达, 刺激植物使得相关酶的量提高, 从而提高植物体内萜类化合物的量^[32]。事实证明, 利用合成生物学的方法, 通过调节倍半萜合成途径关键基因的表达, 或调控相关转录因子, 能有效提高次级代谢物的合成效率。

3 影响白术挥发油积累的生态因素

药用植物的分布、产量与质量都与地理环境有直接的关系。白术是浙江省道地药材, 虽然目前中国各地甚至亚洲其他地区也有引种栽培, 但是不同环境下生长的白术种类和所含药用成分依然存在差异^[35]。赵红红等^[36]对地域、气候和土壤等环境因素不同的湖南、安徽和河北产白术挥发油成分及含量进行比较, 发现不同产地的白术挥发油成分不尽相同, 即使是相同成分, 在含量上也存在差异。说明白术挥发油成分的变异除了受自身遗传因素的控制外, 也会受到自然环境的重要影响。

3.1 气候因素

自然界中, 气候这一不可控生态因子对植物的生长发育具有重要的影响^[37-38]。白术的生长条件受温度、水分、光照等气候因素的影响。据报道, 当气温超过 35 °C 时, 白术生长受阻, 容易休眠^[39]。白术耐寒, 喜凉爽气候, 怕高温高湿^[40]。由于地理气候随着海拔高度变化而变化, 白术对不同海拔的地区适应性不同^[40]。气候变化通过影响植物 CO₂ 吸收和相关蛋白进而影响植物呼吸作用^[41]。有研究表明, 随着近些年全球气候的变化, 植物生长速度与病害程度、生物与非生物之间的相互作用与疾病等都受到影响^[42]。此外, 植物的功能性状和繁殖传播也受到气候的影响^[43-44]。随着季节变化, 植物体内的内生菌群出现演替规律^[44], 可诱导茅苍术植物体内挥发油的积累^[44-45]。植物能够对气候变化做出相应的反应, 人们也可以通过植物的生理生化变化来预测大自然的气候现状或变化趋势。气候因子对药用植物组分的影响可能与药用成分形成和转化的关

键酶及相关基因有关。

3.2 水分与土壤因素

中药材的道地性与产地的环境因素有密切关系,其中土壤水分、肥料以及空气养分等营养条件是重要的环境影响因素,这些营养条件既影响植物的生长,也影响植物体内次级代谢物的积累。研究表明,在茅苍术营养生长期、果后期以及整个生长过程中,土壤干旱胁迫不但可降低苍术的根茎生长量及存活率,也使根茎中主要挥发油成分的量下降^[46]。研究发现,水分胁迫能调控倍半萜类化合物合成相关基因表达,例如 HMGR、Ovtps2、CYP71D180 基因表达上调,而 FPPS 和 Ovtps6 基因表达下调^[47]。这表明,水分是植物挥发油合成的限制因素。虽然目前没有关于水分因素对白术挥发油积累直接影响的报道,但基于这些因素对白术同属植物茅苍术挥发油的影响推测,白术体内挥发油的含量也有可能受到水分因素的影响,而受影响的程度和趋势是否与其他植物相同还有待探讨。

土壤条件影响白术生长。药用植物的连作障碍经常导致植物生长发育不良、发病率升高,这种现象在药用植物中普遍存在^[48],包括茅苍术、白术。土壤连作障碍主要归因于土壤理化性质恶化、土传病害、自毒作用。有报道称,白术的根系土壤存在大量化感物质而引起的自毒作用,是引起白术产生连作障碍现象的主要原因之一^[49]。不同地区种植的白术的药用价值也存在差异,而植物的药用价值主要取决于药用成分的积累。这说明土壤因素很可能是限制白术挥发油积累的重要因素之一。

3.3 生物因素

在自然环境中,生物与生物之间存在错综复杂的关系,它们相互影响,或利或弊^[50-51]。目前关于影响白术挥发油的生物因素报道不多,而存在于植物体内的内生菌与植物的联系最为密切^[52],相关报道也层出不穷。所以本文主要针对植物内生菌对白术挥发油可能会产生的影响进行合理预测。

越来越多的证据表明,植物体内的微生物对植物的生物量和矿质元素的积累、生理指标变化、药物活性成分等具有重要的影响。内生菌接种到植物体内以后,能与宿主植物建立共生关系,促进宿主植物萜类次级代谢物积累,提高植物生物量,提高菊科植物的产量和品质^[53-55]。土壤中的植物内生细菌可作为一种微生物肥料,产生葡萄糖酸(GA),溶解不溶性磷酸盐,从而刺激豌豆植株的生长^[56]。

分离自植物叶片的内生真菌 *Curvularia* sp. CATDLF5 和 *Choanephora infundibulifera* CATDLF6 能调节长春花药用成分文多灵的生物合成途径中关键基因的表达,促进长春花次级代谢物的积累^[57]。

白术体内积累了丰富的内生菌菌群。茅苍术是与白术同属的菊科植物,其主要药效成分也为萜类物质,本课题组利用有机溶剂萃取法^[58]分别提取二者地上部分和地下部分的挥发油,用气相色谱法进行检测,将白术和茅苍术的气相色谱图进行比较,发现无论是地下部分还是地上部分,白术与茅苍术的挥发油组分出峰时间和峰形相近,说明二者的挥发油成分可能相似。鉴于白术与茅苍术挥发油相似性极大,内生菌对茅苍术的影响效果和机制是否也一样适用于白术,还有待进一步研究。2015年,Zhou等^[31]发现接种植物内生细菌荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* Migula 能刺激茅苍术直接产生活性氧(ROS),引发氧迸发,一方面能促进植物不含氧萜类化合物的积累,另一方面植物内生细菌触发的 ROS 可能将无氧倍半萜氧化成含氧倍半萜,继而增加倍半萜类化合物的多样性。所以推测如果荧光假单胞菌能定殖于白术体内,可能会产生类似影响。

茅苍术的挥发油积累受植物内生菌的影响。从茅苍术体内分离出的孔球孢霉属(*Gilmaniella* sp.)内生真菌接种到茅苍术后,苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性增加^[59]。此外,几丁质酶和 β -葡聚糖酶活性显著提高,真菌侵染提高了宿主的光合速率,增加碳水化合物水平以及宿主体中的叶绿素含量,促进植物生长^[60],还可诱导植物产生一氧化氮(NO)、水杨酸(SA)、过氧化氢(H₂O₂)和植物激素乙烯,促进挥发油的积累^[45,61]。研究表明,某些内生真菌能增强植物对生物胁迫和非生物胁迫(干旱、高温、矿物质失调和高盐等)的耐受性^[62]。多年前,甚至有人称植物内生真菌自身可能具有合成紫杉醇等药物的潜力^[63],但是之后也有人提出反对意见,认为这是一项很难完成、极具挑战性的任务^[64]。但是,这进一步说明了内生真菌在植物体内的价值不可估量,可能还有许多待发掘的新功能。

2006年,有研究报道内生菌根泡囊丛枝菌根 *Vesicular arbuscular mycorrhiza* (VAM) 是植物的有益真菌,不仅能促进白术生长代谢,提高植物抗逆性,还可以在在一定程度上提高其挥发油含量^[65]。仇有文^[66]发现土壤微生物通过影响土壤肥力和理

化性质,进而影响白术生物量和药用成分的积累。在不伤害植物的基础上,通过外源添加真菌或细菌诱导子来激活植物体内萜类化合物合成基因的表达,以诱导植物合成次级代谢物的方法也可以应用于白术,但其中的机制尚不清楚。未来很有可能实现利用植物内生菌进行商业生产,将之转化为工业规模的内生菌生物技术。

4 结语

白术的有效成分包括挥发性成分以及内酯类、苷类、多糖类、氨基酸类等成分,其中挥发油是白术的主要药用成分。影响白术挥发油积累的因素可以总结为自身遗传因素和外界环境因素两大类。

白术倍半萜合成途径研究成熟,利用代谢工程和合成生物学手段对途径加以改造,不但能在可控条件下提高萜类化合物的产量,还具有节约资源等优势。与合成的化合物相比,天然化合物的药用价值往往更高。植物生长于大自然中,免不了会受到生物胁迫(如微生物共生或寄生、病虫害侵害、动物啃食等)的作用。植物可通过改变体内蛋白质和酶类活性而形成自我防御机制,以应答生物胁迫^[67]。这些生物因子对药用植物产生的影响不容忽视。植物挥发性倍半萜作为一种次级代谢物,本身也有助于植物抵御外界伤害。报道表明,植物在受到机械损伤、病原菌侵入的诱导下,能激活萜类合酶基因表达,从而刺激萜类化合物释放^[58,65]。值得注意的是,植物内生菌是定殖于植物体内而不引起病状的微生物,内生菌与植物共生的过程中是否会参与诱导白术倍半萜类化合物合成还有待研究。

综合考虑遗传和环境因素,能更有效地促进挥发油在白术体内积累。白术自身合成挥发油存在生长周期长、易受环境的影响、合成效率不高等问题。而利用基因工程、代谢工程、合成生物学等手段虽然能在植物体外快速生产大量萜类化合物,但存在合成前体单一、伴随杂质产生等问题,往往导致药物品质不如天然化合物。若以外界生物胁迫为诱导因子,刺激植物自身合成化合物,不但能提高合成效率,也能保障药材品质,似乎是一种更有效可行的方法。植物内生菌具有种类多、资源丰富等优势,近年来受到了人们的普遍关注。以内生菌为诱导子,促进药用植物活性成分积累已有报道。如果以植物内生菌对白术挥发油积累的影响机制为基础,将生物合成手段应用于内生菌诱导子,提高内生菌

的诱导效果,从而促进白术生长和药用成分大量积累,能更好地保证植物的药用品质。因此,对植物体内内生菌对白术挥发油积累影响机制的研究将为生产高品质药材提供新思路。

参考文献

- [1] 石俊英,陈随清,崔亚军,等. 中药鉴定学 [M]. 北京:中国医药科技出版社,2006.
- [2] Chau C F, Wu S H. The development of regulations of Chinese herbal medicines for both medicinal and food uses [J]. *Trends Food Sci Tech*, 2006, 17(6): 313-323.
- [3] 杨 娥,钟艳梅,冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 218-221.
- [4] Zhang Y Q. Antagonistic effects of 3 sesquiterpene lactones from *Atractylodes macrocephala* Koidz on rat uterine contraction *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(1): 91-95.
- [5] Li C Q, He L C, Dong H Y, et al. Screening for the anti-inflammatory activity of fractions and compounds from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(2): 212-217.
- [6] 张 宗,张鸿翔,史天良,等. 白术挥发油抗肿瘤作用的研究 [J]. 肿瘤研究与临床, 2006, 18(12): 799-800.
- [7] 方成武,彭华胜,杨 洁,等. 白术资源现状调查及保护对策 [A] // 2008 年安徽中医药继承与创新博士科技论坛论文集 [C]. 合肥:中国中医药学会,中国药学会,中国针灸学会,中国中西医结合学会,2008.
- [8] Chakrabarty D, Chauhan P S, Chauhan A S, et al. De novo assembly and characterization of root transcriptome in two distinct morphotypes of vetiver, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep18630.
- [9] 崔庆新,董 岩,王怀生. 白术挥发油化学成分的 GC/MS 分析 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(1): 124-126.
- [10] 谢 明,宗可欣,富 波,等. 中药白术的研究综述 [J]. 黑龙江医药, 2015, 28(2): 299-301.
- [11] 李 滢,陶海燕,杨秀伟. 生白术和炒白术挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(7): 1210-1217.
- [12] 彭少麟,南 蓬,钟 扬. 高等植物中的萜类化合物及其在生态系统中的作用 [J]. 生态学杂志, 2002, 21(3): 33-38.
- [13] 孙林芳,朱 莹,贺嵩敏,等. 白术挥发油的质量标准研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2015, 39(4): 372-376.
- [14] 李玲辉,窦德强. 白术挥发油中苍术酮的稳定性研究 [J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2014, 16(1): 193-198.
- [15] 周枝凤,沈菊文,龚 范,等. 白术挥发油成分分析及其色谱指纹图谱研究初探 [J]. 中草药, 2004, 35(1):

- 5-8.
- [16] Yu Z X, Wang L J, Zhao B, *et al.* Progressive regulation of sesquiterpene biosynthesis in *Arabidopsis* and *Patchouli* (*Pogostemon cablin*) by the miR156-targeted SPL transcription factors [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(1): 98-110.
- [17] Bohlmann J, Meyergauen G, Croteau R. Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8): 4126-4133.
- [18] 张长波, 孙红霞, 巩中军, 等. 植物萜类化合物的天然合成途径及其相关合酶 [J]. 植物生理学报, 2007, 43(4): 779-786.
- [19] Richter A, Seidl-Adams I, Köllner T G, *et al.* A small, differentially regulated family of farnesyl diphosphate synthases in maize (*Zea mays*) provides farnesyl diphosphate for the biosynthesis of herbivore-induced sesquiterpenes [J]. *Planta*, 2015, 241(6): 1351-1361.
- [20] 梁宗锁, 方誉民, 杨东风. 植物萜类化合物生物合成与调控及其代谢工程研究进展 [J]. 浙江理工大学学报: 自然科学版, 2017, 37(2): 255-264.
- [21] Appendino G, Jakupovic J, Bossio E. Structural revision of the parsley sesquiterpenes crispanone and crispane [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(6): 1719-1722.
- [22] 王 佳, 游 松, 周丽娜. 倍半萜生物转化的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(2): 156-164.
- [23] Zhang L, Dai X, Tao L, *et al.* Total synthesis of (+)-chinensioid B from α -santonin [J]. *Chin J Chem*, 2017, 35, 1284-1288.
- [24] Hegazy M E F, Kuwata C, Matsushima A, *et al.* Biotransformation of sesquiterpenoids having α , β -unsaturated carbonyl groups with cultured plant cells of *Marchantia polymorpha* [J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2006, 39(1): 13-17.
- [25] Krügener S, Krings U, Zorn H, *et al.* A dioxygenase of *Pleurotus sapidus* transforms (+)-valencene regio-specifically to (+)-nootkatone via a stereo-specific allylic hydroperoxidation [J]. *Bioresource Technol*, 2009, 101(2): 457-462.
- [26] Mutikainen P, Walls M, Ovaska J, *et al.* Herbivore resistance in *Betula pendula*: Effect of fertilization, defoliation, and plant genotype [J]. *Ecology*, 2000, 81(1): 49-65.
- [27] 毛碧增, 孙 丽, 刘雪辉. 基因枪转化双价防卫基因获得抗立枯病白术 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 99-102.
- [28] Schnee C, Köllner T G, Held M, *et al.* The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(4): 1129-1134.
- [29] 李 欣, 李 影, 曲子越. bHLH 转录因子在茉莉酸信号诱导植物次生产物合成中的作用及分子机制 [J]. 植物生理学报, 2017, 53(1): 1-8.
- [30] Hong G J, Xue X Y, Mao Y B, *et al.* *Arabidopsis* MYC2 interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(6): 2635-2648.
- [31] Zhou J Y, Yuan J, Li X, *et al.* Endophytic bacterium-triggered reactive oxygen species directly increase oxygenous sesquiterpenoid content and diversity in *Atractylodes lancea* [J]. *Appl Environ Microb*, 2015, 82(5): 1577-1585.
- [32] Moses T, Pollier J, Thevelein J M, *et al.* Bioengineering of plant (tri)terpenoids: from metabolic engineering of plants to synthetic biology *in vivo* and *in vitro* [J]. *New Phytol*, 2013, 200(1): 27-43.
- [33] Ro D K, Paradise E M, Ouellet M, *et al.* Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast [J]. *Nature*, 2006, 440(13): 940-943.
- [34] Gu P, Su T, Wang Q, *et al.* Tunable switch mediated shikimate biosynthesis in an engineered non-auxotrophic *Escherichia coli* [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep29745.
- [35] 彭华胜, 郝近大, 黄璐琦. 道地药材形成要素的沿革与变迁 [J]. 中药材, 2015, 38(8): 1750-1755.
- [36] 赵红红, 阎克里, 王 虹, 等. 三产地白术挥发油氧化分解后化学成分的变化 [J]. 山西大学学报: 自然科学版, 2015, 38(3): 516-521.
- [37] 郭兰萍, 黄璐琦, 蒋有绪, 等. 影响苍术挥发油组分的气候主导因子及气候适宜性区划研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10): 888-893.
- [38] Ryan M G. Effects of climate change on plant respiration [J]. *Ecol Appl*, 1991, 1(2): 157-167.
- [39] 唐 宁. 白术规范化种植技术 [J]. 农村新技术, 2015(3): 10-11.
- [40] 蔡小红, 邓年妹. 崇义县白术、玄参、升麻种植的气候适应性研究 [J]. 现代农业科技, 2012(8): 288-288.
- [41] Boland G J, Melzer M S, Hopkin A, *et al.* Climate change and plant diseases in Ontario [J]. *Can J Plant Pathol*, 2004, 26(3): 335-350.
- [42] Guittar J, Goldberg D, Klanderud K, *et al.* Can trait patterns along gradients predict plant community responses to climate change? [J]. *Ecology*, 2016, 97(10): 2791-2801.
- [43] Keith D A, Myerscough P J. Population variation in germination traits and its implications for responses to climate change in a fire-prone plant species complex [J]. *Plant Ecol*, 2016, 217(6): 781-788.
- [44] 吕立新, 王宏伟, 梁雪飞, 等. 不同化学型和季节变化

- 对茅苍术内生真菌群落多样性的影响 [J]. 生态学报, 2014, 34(24): 7300-7310.
- [45] Yuan J, Sun K, Dengwang M Y, *et al.* The mechanism of ethylene signaling induced by endophytic fungus *Gilmaniella* sp. AL12 mediating sesquiterpenoids biosynthesis in *Atractylodes lancea* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.00361.
- [46] 顾永华, 冯 煦, 夏 冰. 水分胁迫对茅苍术根茎生长及挥发油含量的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 23-27.
- [47] Morshedloo M R, Craker L E, Salami A, *et al.* Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono-and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2017, doi: 10.1016/j.plaphy.2016.11.023.
- [48] 赵杨景. 植物化感作用在药用植物栽培中的重要性和应用前景 [J]. 中草药, 2000, 31(8): 附 1-4.
- [49] 徐建中, 王志安, 孙乙铭, 等. 白术自毒作用研究 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(11): 25-27.
- [50] 陶金华, 汪冬庚, 濮雪莲, 等. H_2O_2 介导内生真菌诱导子促进茅苍术细胞 HMGR 的活化和 β -桉叶醇的生物合成 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2740-2744.
- [51] Agarwal P K, Agarwal P, Reddy M K, *et al.* Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants [J]. *Plant Cell Rep*, 2006, 25(12): 1263-1274.
- [52] Clay K, Holah J. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields [J]. *Science*, 1999, 285(5434): 1742-1744.
- [53] 方 芳, 戴传超, 张 波, 等. 茅苍术悬浮细胞系建立及内生真菌诱导子对其挥发油积累的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 452-455.
- [54] 勇应辉, 戴传超, 高伏康, 等. 大戟内生真菌对其生长和两种萜类物质的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1136-1139.
- [55] 宋文玲, 戴传超, 刘晓珍, 等. 不同内生真菌对菊花产量和品质的影响 [J]. 中药材, 2010, 33(1): 4-7.
- [56] Oteino N, Lally R D, Kiwanuka S, *et al.* Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates [J]. *Front Microbiol*, 2015, doi: 10.3389/fmicb.2015.00745.
- [57] Pandey S S, Singh S, Babu C S V, *et al.* Fungal endophytes of *Catharanthus roseus* enhance vindoline content by modulating structural and regulatory genes related to terpenoid indole alkaloid biosynthesis [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep26583.
- [58] Zhou J Y, Li X, Zhao D, *et al.* Reactive oxygen species and hormone signaling cascades in endophytic bacterium induced essential oil accumulation in *Atractylodes lancea* [J]. *Planta*, 2016, 244(3): 699-712.
- [59] Wang Y, Dai C C, Cao J L. Comparison of the effects of fungal endophyte *Gilmaniella* sp. and its elicitor on *Atractylodes lancea* plantlets [J]. *World J Microb Biot*, 2012, 28(2): 575-584.
- [60] Yuan J, Zhou J Y, Li X, *et al.* The primary mechanism of endophytic fungus *Gilmaniella* sp. AL12 promotion of plant growth and sesquiterpenoid accumulation in *Atractylodes lancea* [J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2016, 125(3): 571-584.
- [61] Ren C G, Dai C C. Jasmonic acid is involved in the signaling pathway for fungal endophyte-induced volatile oil accumulation of *Atractylodes lancea* plantlets [J]. *BMC Plant Biol*, 2012, 12(1): 1-11.
- [62] 刘晓珍, 宋文玲, 张 凯, 等. 内生真菌对菊花幼苗干旱胁迫生理的影响 [J]. 园艺学报, 2011, 38(2): 335-342.
- [63] Kusari S, Singh S, Jayabaskaran C. Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype [J]. *Trends Biotechnol*, 2014, 32(6): 297-303.
- [64] Kusari S, Singh S, Jayabaskaran C. Rethinking production of taxol (paclitaxel) using endophyte biotechnology [J]. *Trends Biotechnol*, 2014, 32(6): 304-311.
- [65] 王东雪. AM 真菌和施磷量对白术生长和品质的影响 [D]. 保定: 河北大学, 2006.
- [66] 仇有文. 土壤微生物对药材白术生物学产量和品质影响的研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2007.
- [67] 范海延, 李 楠, 苗 青, 等. 植物应答生物胁迫的蛋白质组学研究进展 [J]. 湖北农业科学, 2009, 48(12): 3167-3171.