

二甲基亚砜和乙醇处理对西洋参不定根表型和人参皂苷含量的影响

胡进¹, 焦红红², 南铁贵², 赵玉洋², 周骏辉², 袁媛^{2*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012;

2. 中国中医科学院中药资源中心道地药材国家重点实验室育种基地, 北京 100700)

[摘要] 目的:以西洋参不定根表型和人参皂苷含量为评价指标,筛选合适的助溶剂及浓度,以期利用西洋参不定根受控实验平台及利用非极性分子化合物进行西洋参“优形、优质”形成机制奠定基础。方法:采用不同体积分数的二甲基亚砜(DMSO)及乙醇助溶剂处理西洋参不定根,利用根系全景扫描仪与WinRHIZO Pro 2016图像处理软件,Synbiosis ProtoCol 3影像分析仪与Image J和根系识别插件SmartRoot相结合的方法,测定不同浓度助溶剂处理后的西洋参不定根分支数及平均直径;采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱(UPLC-MS/MS)技术测定不同处理后西洋参不定根中人参皂苷Rg₁、Rb₁及Re含量。结果:与空白组相比,0.1% DMSO和75%乙醇助溶剂处理后西洋参不定根的表型及人参皂苷含量均发生变化,表现为分支数及平均直径均显著性降低,同时0.1% DMSO处理后导致不定根中人参皂苷Rg₁含量降低,75%乙醇处理后增加人参皂苷Rg₁和Re的含量,而0.01% DMSO助溶剂处理后西洋参不定根表型及人参皂苷含量与对照组比差异无统计学意义。结论:0.01% DMSO助溶剂对西洋参不定根生长无影响,可作为难溶于水的非极性分子化合物的助溶剂,以上结果为后续深入研究西洋参“优形、优质”成因研究奠定了基础。

[关键词] 西洋参; 不定根; 二甲基亚砜; 乙醇; 人参皂苷

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)12-0141-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210811

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210413.1416.004.html>

[网络出版日期] 2021-4-13 15:30

Effects of Dimethyl Sulfoxide and Ethanol on Adventitious Root Growth of *Panax quinquefolium* and Ginsenosides

HU Jin¹, JIAO Hong-hong², NAN Tie-gui², ZHAO Yu-yang², ZHOU Jun-hui², YUAN Yuan^{2*}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2. State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To screen out the suitable nonpolar molecular cosolvent and concentration with adventitious root phenotype and ginsenoside content in the controlled experiment as the evaluation indexes, so as to lay a solid foundation for exploring the causes for good shape and high quality of *Panax quinquefolium*. **Method:** After being treated with different concentrations of dimethyl sulfoxide (DMSO) and ethanol, the adventitious roots were scanned using a panoramic scanner, and the resulting images were used for measuring the branch number and average diameter by WinRHIZO Pro 2016, Synbiosis ProtoCol 3 colony counter, Image J, and SmartRoot. The contents of ginsenosides Rg₁, Rb₁, and Re were determined by ultra-performance liquid

[收稿日期] 20210209(011)

[基金项目] 国家自然科学基金重大项目(81891013,81891010);国家科技性基础资源调查专项(2018FY100800);中央本级重大增减支项目(2060302);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ10-008)

[第一作者] 胡进,在读硕士,从事中药资源与鉴定学研究,E-mail:18315339281@163.com

[通信作者] *袁媛,研究员,博士生导师,从事中药鉴定与分子生药学研究,Tel:010-64087649,E-mail:y_yuan0732@163.com

chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Result:** Compared with the blank control, the 0.1% DMSO and 75% ethanol made the adventitious root phenotype and ginsenoside contents significantly changed. Specifically, the branch number and average diameter were significantly reduced. The ginsenoside R_{g_1} in the adventitious roots decreased after 0.1% DMSO treatment, whereas the ginsenosides R_{g_1} and R_e increased after 75% ethanol treatment. The adventitious root phenotype and ginsenoside contents in the 0.1% DMSO treatment group were not significantly different from those in the control group. **Conclusion:** The 0.01% DMSO does not affect the adventitious root growth of *P. quinquefolium* and is insoluble in water, enabling it to be considered as a suitable nonpolar molecular cosolvent for future research on the genetic causes for the good shape and high quality of *P. quinquefolium*.

[Key words] *Panax quinquefolium*; adventitious roots; dimethyl sulfoxide (DMSO); ethanol; ginsenoside

西洋参为五加科植物西洋参的干燥根,用于补气养阴、清热生津^[1],在药品食品中运用普遍。西洋参生长周期长,一般需要4至5年,其生长环境、气候、栽培技术等均会影响品质,近年来西洋参市场需求量急剧增加,西洋参的组织培养技术快速发展^[2-4],其中最突出的是采用不定根离体培养技术生产西洋参,避免栽培西洋参管理成本高,“重、毒、副”残留及与基本农田争地等日益显著的问题^[5-7],同时也缩短了生长周期,满足市场需求。其次,西洋参不定根具有生长均一、周期短、遗传背景一致、增殖能力强等优点,可作为受控实验的理想材料来研究外源物质处理对人参皂苷生物合成途径关键基因的影响。WANG等^[8]用茉莉酸甲酯处理西洋参不定根并结合转录组学研究人参皂苷生物合成途径中的关键差异表达基因,YU等^[9]以人参植株根际土壤中分离得到的病原菌作为生物诱导子,研究病原真菌诱导子促进西洋参不定根人参皂苷的生物合成效应。李慧娟等^[10]采用西洋参细胞和不定根共培养,使得皂苷含量提高了2倍。

近年来,道地药材“优形、优质”遗传成因已成为中药资源研究的重要内容之一,其中“优形”是指道地药材具有公认的性状特征^[11],其形成与药用植物发育、细胞信号转导等密切相关。根据《中药材传统鉴别经验》记载^[12]:“野生西洋参以横灵体、表面灰褐色、横纹紧密、断面黄白色、体轻质硬、气清香浓,味苦微甘者为佳。栽培西洋参以根条均匀、横纹紧密、体重坚实、气味浓者为佳。”可见,西洋参“优形”的指标以根型为主。“优质”是指西洋参有效成分人参皂苷的含量,2020年版《中华人民共和国药典》以人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 的总量作为西洋参质量评价的指标之一^[13]。目前,可以利用图像识别结合数据分析对道地药材“优形”特征进行辨识和定

量表征,其中应用最为广泛的是WinRHIZO根系扫描系统,Image J软件,SmartRoot和WinRHIZO软件^[14-16]。

受控试验平台是研究植物生长发育机制的重要手段^[17-19],在受控实验中通常会采用一些极性和非极性小分子化合物作为信号通路的干扰剂或阻断剂。非极性分子由于难以溶于水,常需要有机溶剂作为助溶剂促进其溶解。二甲基亚砜(DMSO)是最常用的“万能助溶剂”^[20],但高体积分数的DMSO对植物细胞产生毒害^[21],适宜体积分数的DMSO可提升植物细胞的营养吸收和转化,进而促进植物生长^[22-24]。甲醇及乙醇也可以作为某些物质的助溶剂,但本身也会对植物的生长发育产生影响。FARZAD等^[25]发现去根绿豆苗经过高体积分数的甲醇和乙醇溶液处理,生根的速度明显上升。孙利利^[26]用5%乙醇叶面喷施万年青,连续处理3周后,其鲜重和可溶性蛋白含量均明显增加。于雪松^[27]用3%甲醇和乙醇喷施蚕豆叶片,蚕豆植株株高、鲜重和干重及叶片数量都显著增长,且乙醇对蚕豆植株生长的促进作用高于甲醇,但也有学者发现这种效果受处理物种、处理浓度及处理部位等多种因素的影响^[28-29]。

综上,本文拟选用西洋参不定根作为受控实验测试对象,分析不同体积分数的DMSO和乙醇助溶剂对西洋参不定根生长的影响,旨在筛选适合的非极性小分子化合物助溶剂及其浓度,为后续西洋参“优形、优质”成因研究奠定基础。

1 材料

西洋参药材主要来源于吉林长白山5年生西洋参的根,经中国中医科学院中药资源中心金艳老师鉴定为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* 的干燥根。西洋参愈伤组织诱导获得的不定根(大连普

瑞康生物技术有限公司)。

人参皂苷对照品 Rg₁, Re, Rb₁(上海融禾医药科技发展有限公司,批号分别为 16C129, 160127, MUST-20060101,纯度均为 98%,)。MS 培养基, 3-吡啶丁酸(IBA), 萘乙酸(NAA)(美国 PhytoTechnology 公司)。DMSO(天津市光复精细化工研究所),无水乙醇(天津市鼎盛鑫化工有限公司),色谱级甲醇、乙腈、甲酸(LC-MS 分析用,美国 Fisher Scientific 公司)。

QTRAP © 6500 型三重四极杆质谱联用分析系统(美国 AB Sciex 公司),SCIENTZ-48 型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司),5810 R 型高速冷冻离心机(美国 Eppendorf 公司),QL-901 型涡旋混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司),BSA224S 型 1/1 万电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),New Classic MS-S 型 1/10 万电子天平(梅特勒-托利多上海有限公司),J221A 型 PERFECTION V700 PHOTO 彩色图像扫描仪(日本 EPSON 公司),Synbiosis ProtoCol 3 测量影像分析仪(英国 Synbiosis 公司),Ink 3 Protocol 软件,Image J 软件(National Institutes of Health),WinRHIZO Pro 2016 根系扫描软件,SmartRoot 软件及 Graphpad Prism 7.0 软件。

2 方法

2.1 西洋参不定根的培养 西洋参愈伤组织诱导获得的不定根,其培养条件为采用附加 3.0 mg·L⁻¹ IBA+1.0 mg·L⁻¹ NAA+3% 蔗糖的 3/4 MS 液体培养基,pH 5.8。1 L 液体培养基中接种西洋参不定根 4 g,于摇床中 25 °C 暗振荡培养,转速 120 r·min⁻¹,5 周继代 1 次,待不定根生长稳定后用于后续试验。

2.2 不同助溶剂处理西洋参不定根 不定根固体培养基为 3/4 MS 液体培养基附加 7% 的琼脂,pH 5.8。将配制好的西洋参不定根固体培养基分装后进行高压灭菌(120 °C,15 min),待温度下降到 50~60 °C 时分别进行不同溶剂处理实验。空白组(CK):不添加任何溶剂;处理组:在培养基中分别添加终体积分数为 0.1%,0.01% 的 DMSO 和终体积分数为 0.002%,75% 的乙醇。待培养基凝固后将继代稳定后长势一致的西洋参不定根剪成长 0.5~1 cm 的根段,分别接种在不同处理培养基中,每个平板接种 4 个根段,每个处理重复 25 次,实验重复 3 次。接种后的培养皿在 25 °C 恒温黑暗培养 45 d 后,取出观察并检测各项指标。

2.3 应用 WinRHIZO Pro 2016 和 SmartRoot 测定

西洋参不定根直径及分支数目

2.3.1 西洋参不定根直径的测定 随机抽取 30 条不定根,剥离琼脂,洗净,放入样品盘中加水将其展平,利用 EPSON PERFECTION V700 PHOTO 进行根系全景扫描,保存为“8 位 TIFF 图片文件”的扫描图片格式以备用。结合植物根系分析测量软件 WinRHIZO Pro 2016 对原始图片进行预处理,转化为 8-bit 灰度图像并将阈值调到最佳效果,通过软件的系统分析测定西洋参不定根直径。

2.3.2 西洋参不定根分支数目的测定 使用 Synbiosis ProtoCol 3 测量影像分析仪拍摄西洋参不定根,参照文献[30]方法对原始图片进行预处理,存为“16 位 TIFF 图片文件”格式,后转化为 8-bit 灰度图像并设定分辨率为 191 pixels/inch,然后基于图像处理软件 Image J 和根系识别插件 SmartRoot 对西洋参不定根平板生长图片进行分析,测定西洋参不定根分支情况。

2.4 色谱-质谱条件

2.4.1 色谱条件^[31] 选用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.05% 甲酸水(B)溶液,梯度洗脱(0~0.5 min,20%A;0.5~3 min,20%~80%A;3~3.1 min,80%~98%A;3.1~5 min,98%A;5~5.1 min,98%~20%A;5.1~8 min,20%A)。进样量 1 μL,流速 0.5 mL·min⁻¹,柱温 40 °C。

2.4.2 质谱条件 V 型涡流离子源(Turbo V),电离模式 ESI,气帘气压力 206 842.71 Pa;电离电压 -4 500 V;喷雾气压力 344 737.85 Pa,辅助加热气压力 344 737.85 Pa;采集方式质谱多反应监测(MRM);离子源温度 550 °C,见表 1。

表 1 LC-MS/MS 质谱条件优化

Table 1 Optimization of LC-MS/MS mass spectrometry conditions

成分	[M-H] ⁻	质谱多反应监测(MRM)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
人参皂苷 Rb ₁	1 107.50	1 107.50>945.50	160	61
人参皂苷 Rg ₁	799.30	799.30>637.20	100	34
人参皂苷 Re	945.50	945.50>637.20	125	56

2.4.3 供试品溶液制备 样品经液氮冷冻后研成粉末约 0.1 g,平行 6 份,精密称定,放置于 5.0 mL 离心管中,精密加入 70% 乙醇 2.0 mL,25 °C 超声提取,功率为 250 W,频率 45 kHz,提取 30 min 后用 13 000 ×g 离心,离心 10 min 后,吸取样品上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液,放置

于4℃冰箱供UPLC-MS/MS分析用。

2.4.4 对照品溶液制备 分别精密称取适量人参皂苷Rg₁, Rb₁, Re对照品,以70%的甲醇溶解并定容,摇匀,配制成1 g·L⁻¹的混合对照品储备液。取适量储备液,用甲醇稀释配制成质量浓度分别为0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 mg·L⁻¹混合对照品溶液。

2.5 数据分析 各组数据均以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示。采用Graphpad Prism 7.0统计软件来进行t检验分析, P<0.05表示差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 助溶剂处理对西洋参不定根表型的影响 使用Synbiosis ProtoCol 3测量影像分析仪对同一盘培养皿中的西洋参不定根逐日连续拍照。西洋参不定根生长45 d后,与CK组相比,0.1% DMSO和75%乙醇处理明显抑制直径与分支数;而0.01% DMSO处理的不定根直径和分支数无明显变化。见图1。

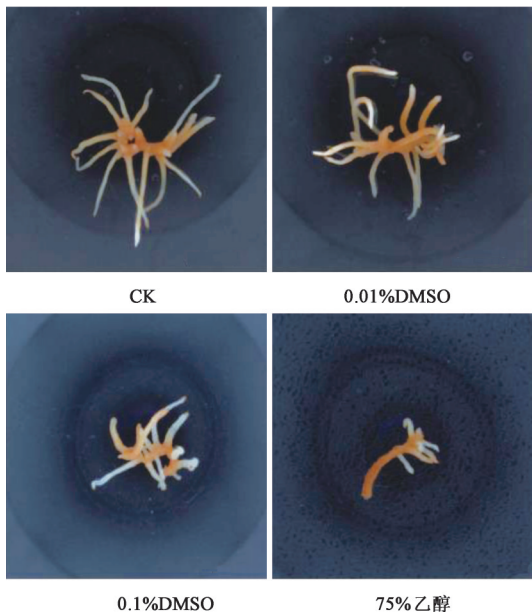


图1 西洋参不定根表型(n=30)

Fig. 1 Phenotypic observation on adventitious roots of *Panax quinquefolium* (n=30)

3.2 助溶剂对西洋参不定根平均直径的影响 利用WinRHIZO Pro 2016软件对西洋参不定根根系全景扫描表型数据进行测量和统计。结果表明,CK组不定根平均直径为(0.769±0.129) mm, 0.01% DMSO处理后不定根平均直径为(0.743±0.104) mm, 0.1% DMSO处理后不定根平均直径为(0.572±0.207) mm, 75%乙醇处理后不定根平均直径为(0.646±0.094) mm。与CK组相比, 0.1% DMSO和75%乙醇处理对西洋参不定根平均直径表现出显著抑制作用(P<0.01), 分别降低了25.6%

和16.0%,但0.01% DMSO处理后不定根平均直径变化无统计学差异,见表2。

表2 不同溶剂处理对西洋参不定根平均直径和分支数目的影响($\bar{x}\pm s, n=30$)

Table 2 Effects of different solvents on adventitious root diameter and adventitious root number of *Panax quinquefolium* ($\bar{x}\pm s, n=30$)

处理	平均直径/mm	分支数/个
CK	0.769±0.129	12.1±1.845
0.01% DMSO	0.743±0.104	13.2±1.730 ²⁾
0.1% DMSO	0.572±0.207 ¹⁾	10.633±1.629 ¹⁾
75%乙醇	0.646±0.094 ¹⁾	5.567±1.813 ¹⁾

注:与CK组比较¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.05(表3同)。

3.3 助溶剂对西洋参不定根分支数目的影响 利用SmartRoot软件对Synbiosis ProtoCol 3测量影像分析仪所拍摄的西洋参不定根图片进行表型数据统计分析。CK组不定根分支数为(12.1±1.8)个, 0.01% DMSO处理后不定根分支数为(13.2±1.7)个, 0.1% DMSO处理后不定根分支数为(10.633±1.629)个, 75%乙醇处理后不定根分支数为(5.567±1.813)个。与CK组比, 0.1% DMSO和75%乙醇处理后的西洋参不定根分支数显著降低(P<0.01), 分别为12.124%和53.992%,但0.01% DMSO处理后不定根分支数目变化无统计学差异,见表2。

3.4 助溶剂对西洋参人参皂苷含量的影响 利用UPLC-MS/MS测定不同体积分数DMSO和乙醇处理45 d后西洋参不定根中人参皂苷的含量,并使用MultiQuant软件对数据进行处理,确认DMSO和乙醇对人参皂苷的影响。结果表明,与CK组比,不同体积分数的DMSO处理后人参皂苷Rg₁含量均呈下降趋势,0.1% DMSO处理后不定根中人参皂苷Rg₁含量显著降低了40.527%;而75%乙醇处理后人参皂苷Rg₁, Re的含量均显著提高,人参皂苷Rg₁提高了26.752%,人参皂苷Re提高了89.980%。见表3。

表3 助溶剂对西洋参不定根人参皂苷含量的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effects of Co-solvents on Ginsenoside Content in adventitious roots of *Panax quinquefolium* ($\bar{x}\pm s, n=6$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

处理	Rb ₁	Rg ₁	Re
CK	38.734±10.599	115.345±11.397	72.694±13.635
0.01% DMSO	42.740±27.476	82.079±28.425	78.666±32.865
0.1% DMSO	23.671±13.498	68.599±13.695 ¹⁾	57.017±13.482
75%乙醇	54.427±19.042	146.202±17.700 ¹⁾	138.104±23.287 ¹⁾

4 讨论

将有机溶剂作为助溶剂时,需要考虑以下3个

方面:①药品是否充分溶解于培养基中;②有机溶剂是否具有非选择性细胞毒作用,使用不同助溶剂测定数据会出现较大的偏差,选用毒力较低的同一种溶剂可以得出更为准确的试验结果^[32];③应尽可能的使用低体积分数的溶剂,如果有机溶剂体积分数太高,因细胞毒性影响受试植物生长,不仅造成假阳性实验结果还干扰或掩盖阻断剂作用;但有机溶剂的体积分数太低,不能充分溶解药品^[33]。为消除助溶剂对测定结果的影响,通常设置等量的助溶剂作对照。

DMSO作为一种常用的助溶剂,与水均具有良好的互溶性,但不同植物材料对其敏感性不同^[34]。如ZOU等^[35]用0.01% DMSO溶解激动素和洛伐他汀,发现两者以剂量依赖的方式抑制水稻种子根的生长;GELOVA等^[36]用0.01% DMSO溶解反式玉米素核苷(tZR)/6-苄基氨基嘌呤(BAP),结果表明抗体介导的细胞分裂素核苷调控进一步提高了野生型烟草幼苗根中细胞分裂素的相对丰度,并以器官特异性的方式诱导了细胞分裂素相关的表型;文献报道用0.1% DMSO溶解细胞分裂素碱基和反式玉米素-N-葡萄糖苷,并分析其对拟南芥生长状况的影响,结果表明细胞分裂素碱基和反式玉米素-N-葡萄糖苷在延缓子叶衰老的衰老试验中表现得最为明显^[37-38]。本文研究结果表明0.01% DMSO处理对于西洋参不定根的分支及直径差异无统计学意义;而0.1% DMSO明显抑制西洋参不定根的分支数、平均直径,同时抑制人参皂苷R_{g1}积累。

乙醇在植物中积累的水平也会因植物种类和器官的不同而存在差异,如KATO-NOGUCHI等^[39]用不同体积分数的乙醇抑制胚芽鞘和根的生长,根对乙醇的敏感度高于胚芽鞘。与DMSO不同,乙醇也是一种在植物器官中积累的天然产物,特别是当暴露在厌氧条件或各种其他胁迫条件下时^[40],植物体内乙醇水平均发生改变。本文研究结果表明75%乙醇明显抑制西洋参不定根的分支数、平均直径,但促进人参皂苷R_{g1}、R_e含量升高,这可能与乙醇在西洋参不定根体内代谢生成乙酰辅酶A有关,即乙醇进入西洋参体内可能参与了调控萜类成分相关基因的表达。

综上,不同的助溶剂和浓度的选择会影响植物受控实验结果的可靠性、准确性。与CK组比,0.01% DMSO处理对于西洋参不定根的分支数、平均直径及人参皂苷含量均无显著性影响,表明0.01% DMSO对西洋参不定根的影响毒性最低,可

用于西洋参不定根受控试验研究的合适溶剂,同时也为后期深入研究西洋参不定根相关受控试验奠定了基础。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[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,2020:136.
- [2] KOCHAN E, SZYMCZYK P, KUZMA L, et al. The increase of triterpene saponin production induced by trans-anethole in hairy root cultures of *Panax quinquefolium* [J]. *Molecules*, 2018, 23(10):2674.
- [3] 路俊仙,郭瑞齐,林慧彬. 西洋参组织培养研究近况及其技术相关问题的探讨[J]. *山东农业科学*, 2021, 53(1):125-129.
- [4] 张锋,谷召俊,江伟,等. 山东威海西洋参产业发展对策探讨[J]. *山东农业科学*, 2020, 52(12):160-162.
- [5] 李润田,刘志琨,邹丹,等. 培养条件对西洋参不定根诱导的影响[J]. *广西植物*, 2020, 40(4):557-566.
- [6] 陈洪海,张志华. 长白山区西洋参种植及高产栽培技术分析[J]. *农业与技术*, 2014, 34(11):134.
- [7] 潘肃,王欣华,丁洪伟. 关于人参产业的调研与思考[J]. *人参研究*, 2019, 31(2):55-58.
- [8] WANG J, GAO W Y, ZHANG J, et al. Combination effect of lactalbumin hydrolysate and methyl jasmonate on ginsenoside and polysaccharide production in *Panax quinquefolium* L. cells cultures [J]. *Acta Physiol Plant*, 2011, 33(3):861-866.
- [9] YU Y, ZHANG W B, LI X Y, et al. Pathogenic fungal elicitors enhance ginsenoside biosynthesis of adventitious roots in *Panax quinquefolius* during bioreactor culture [J]. *Ind Crops Prod*, 2016, 94:729-735.
- [10] 李慧娟,朴炫春,费丽坤,等. 影响西洋参不定根组培增殖的几种因素及皂苷生产的研究[J]. *延边大学学报*, 2011, 32(2):77-82.
- [11] 袁媛,黄璐琦. 道地药材分子生药学研究进展和发展趋势[J]. *科学通报*, 2020, 65(12):1093-1102.
- [12] 金世元. 中药材传统鉴别经验[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:132-134.
- [13] 唐艳,闫述模,汪静静,等. 基于UPLC及多成分分析的西洋参质量评价[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(9):1678-1684.
- [14] 刘季,安锋,袁坤,等. 运用SmartRoot测量橡胶树细根[J]. *植物生态学报*, 2013, 37(8):786-792.
- [15] 韩毅强,石英,巩海仁,等. SmartRoot在大豆根系形态指标测定上的应用[J]. *安徽农学通报*, 2017, 23(5):37-40.

- [16] MAO J, NIU C, LI K, et al. Exogenous 6-benzyladenine application affects the root morphology, by altering hormonal status, and gene expression of developing lateral root in *Malus hupehensis* [J]. *Plant Biol*, 2020, 22: 1150-1159.
- [17] BAI Z, ZHANG J, NING X, et al. A kinase-phosphatase-transcription factor module regulates adventitious root emergence in arabidopsis root-hypocotyl junctions [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1162-1177.
- [18] LIU J, CHEN T, ZHANG J, et al. Ginsenosides regulate adventitious root formation in *Panax ginseng* via a PgCLE45-PgWOX11 regulatory module [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71(20): 6396-6407.
- [19] DU J, KIRUI A, HUANG S, et al. Mutations in the pectin methyltransferase QUASIMODO2 influence cellulose biosynthesis and wall integrity in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell*, 2020, 32(11): 3576-3597.
- [20] MIN-HEE K, JOYDEEP D, SANGILIYANDI G, et al. The cytotoxic effects of dimethyl sulfoxide in mouse preimplantation embryos: a mechanistic study [J]. *Theranostics*, 2017, 7(19): 4735-4752.
- [21] 董芳蕊, 臧诗蕾, 黎莉莉, 等. 溶剂及其体积分数对6种肺癌细胞的细胞毒作用 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(4): 506-511.
- [22] ABOUZARIPOUR M, FATHI F, DANESHI E, et al. Combined effect of retinoic acid and basic fibroblast growth factor on maturation of mouse oocyte and subsequent fertilization and development [J]. *Int J Fertil Steril*, 2018, 12(1): 68-71.
- [23] LUO Q, FENG B, LIU Z, et al. Experimental study on simultaneous absorption and desorption of CO₂, SO₂, and NO_x using aqueous *N*-methyl-diethanolamine and dimethyl sulfoxide solutions [J]. *Energy Fuels*, 2018, 32(3): 3647-3659.
- [24] 王贵元, 夏仁学, 曾祥国, 等. 着色期 DMSO 处理对红肉脐橙果肉糖含量变化的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2011(1): 208-209.
- [25] FARZAD P, MOITABA M, AL-AHMADI M J, et al. Physiological response of soybean (*Glycine max*) to foliar application of methanol under different soil moistures [J]. *Am J Agric Biol Sci*, 2009, 4(4): 311-318.
- [26] 孙利利. 拟南芥 Rubisco 激活酶应答甲醇/乙醇刺激的机理研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.
- [27] 于雪松. 甲醇和乙醇的喷施对蚕豆光合作用和气孔的影响及其分子机理的研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.
- [28] YANG X, YI X. Emission and utilization of methanol in higher plants [J]. *Ecol Environ*, 2006, 5(6): 1258-1263.
- [29] THEODORIDOU A, DORNEMANN D, KOTZABASIS K. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1573(2): 189-198.
- [30] 张雪艳, 胡启跳, 方成武, 等. SmartRoot 在蜜环菌菌索表型谱分析中的应用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(19): 23-28.
- [31] CHEN K, LIU J, JI R, et al. Biogenic synthesis and spatial distribution of endogenous phytohormones and ginsenosides provide insights on their intrinsic relevance in *Panax ginseng* [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 9: 1951.
- [32] 黄雄英, 齐淑华, 袁会珠, 等. 4种常用有机溶剂对杀菌剂生物测定的影响 [J]. *农药科学与管理*, 2006, 27(1): 16-19.
- [33] 纪舒昱, 翁稚颖, 周轶平, 等. 8种有机溶剂对肿瘤细胞的细胞毒作用 [J]. *云南大学学报: 自然科学版*, 2001, 23(6): 457-460.
- [34] WANG X, WANG X, LI L, et al. Lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* by DMSO is dependent on sir-2.1 and daf-16 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 400(4): 613-618.
- [35] ZOU X, SHAO J W, WANG Q, et al. Supraoptimal cytokinin content inhibits rice seminal root growth by reducing root meristem size and cell length via increased ethylene content [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 4051.
- [36] GELOVA Z, PETRA T H, NOVAK O, et al. Antibody-mediated modulation of cytokinins in tobacco: organ-specific changes in cytokinin homeostasis [J]. *J Exp Bot*, 2018, 69(3): 441-454.
- [37] HALLMARK H T, ERN M, BRZOBOHAT B, et al. Trans-Zeatin-N-glucosides have biological activity in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): 232-762.
- [38] JAHN A, SCHERER B, FRITZ G, et al. Statins induce a DAF-16/Foxo-dependent longevity phenotype via JNK-1 through mevalonate depletion in *C. elegans* [J]. *Aging Dis*, 2020, 11(1): 60-72.
- [39] KATO-NOGUCHI H, KUGIMIYA T. Effects of ethanol on growth of rice seedlings [J]. *Plant Growth Regul*, 2001, 35(1): 93-96.
- [40] KELSEY R G, JOSEPH G, WESTLIND D, et al. Ethanol and acetone from Douglas-fir roots stressed by *Phellinus sulphurascens* infection: implications for detecting diseased trees and for beetle host selection [J]. *For Ecol Manage*, 2016, 360: 261-272.

[责任编辑 顾雪竹]