

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20160054

诱导子对蜀葵悬浮细胞、不定根培养的影响

别振宇, 李兴林, 汪珊英

(工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 为探究诱导子对蜀葵(*Alcea rosea*)细胞次生代谢产物的影响,分别使用茉莉酸甲酯、水杨酸、酵母提取物3种诱导子处理快速生长期后期的蜀葵悬浮细胞。结果表明:茉莉酸甲酯和水杨酸均会抑制悬浮细胞和不定根的生长,而低浓度的酵母提取物则会促进其生长;茉莉酸甲酯对于悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量没有影响,而水杨酸和酵母提取物均对其糖醛酸含量有促进作用,且酵母提取物效果更好;3种诱导子均能有效提高悬浮细胞和不定根中的总黄酮含量,其中以茉莉酸甲酯效果最好,水杨酸次之。这些结果表明,3种诱导子对蜀葵悬浮细胞和不定根培养物都能产生影响,但综合考虑酵母提取物的效果最为明显,水杨酸次之。

关键词: 蜀葵; 悬浮细胞; 不定根; 诱导子; 糖醛酸; 总黄酮

中图分类号: Q819 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2017)03-0023-06

Effects of Elicitors on Uronic Acid and the Total Flavonoid Content in *Alcea rosea* Suspension Cells and Adventitious Root

BIE Zhenyu, LI Xinglin, WANG Shanying

(Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In order to explore the influence of elicitors on secondary metabolites of *Alcea rosea* cells, methyl jasmonate, salicylic acid and yeast extracts were used to treat *Alcea rosea* suspension cells and adventitious roots. The results showed that methyl jasmonate and salicylic acid inhibited the growth of suspension cells and adventitious roots, but low concentration of yeast extracts were beneficial to their growth. While methyl jasmonate had no effect on the uronic acid content in both cultures, salicylic acid and yeast extracts improved their uronic acid contents, and yeast extracts functioned better. In addition, the total flavonoid contents were effectively improved by these elicitors, and methyl jasmonate was the best, followed by salicylic acid. These results concluded that during *Alcea rosea* suspension cells and adventitious roots culturing in vitro, all the three elicitors have effect on cultures and the secondary metabolites in some degree, but the best was yeast extracts, followed by salicylic acid.

Key words: *Alcea rosea*; suspension cells; adventitious root; elicitors; uronic acid; total flavonoids

蜀葵, 又称一丈红、麻杆花等, 为锦葵科蜀葵属多年生草本植物。蜀葵入药历史悠久, 始载于《尔雅》, 《本草纲目》、《本草推陈》、《中药大辞典》等医药著作都有记载, 以根、叶、花、种子入药, 有很大的药用价值^[1], 具有清热解毒、抑菌的功效, 内服可以治疗便秘、利尿、解河豚毒^[2-3], 外用可以治疗疮疡、烫伤等症。同时对于月经过多、大小便不通、赤

白带下、小儿风疹等也有很好的疗效^[4]。

蜀葵富含糖醛酸等多糖以及黄酮类化合物, 其中糖醛酸以及戊聚糖等多糖成分为蜀葵黏液重要组成部分, 含量远多于同科植物黄蜀葵以及其他植物。天然的糖醛酸多以 D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖醛酸等以糖醛酸苷或者聚糖醛酸的形式存在。D-葡萄糖醛酸在动物体内具有与有毒物质结合后排出的作用, 也是构成

收稿日期: 2016-02-26; 修回日期: 2016-05-03

基金项目: 科技部星火计划资助项目(2012GA610011); 国家自然科学基金资助项目(U1332123)

作者简介: 别振宇(1990—), 男, 河南人, 硕士研究生; 通信作者: 李兴林, 副教授, lxlszf@sina.com

肝素、硫酸软骨素、透明质酸等高活性物质的成分。蜀葵中的糖醛酸成分是蜀葵的重要药用成分。除此之外,糖醛酸还广泛应用在保养品和化妆品领域,具有保健和给肌肤补水的功效。

药用植物细胞悬浮培养是利用植物组织培养技术生产药用植物次生代谢产物的主要途径之一,具有广泛的发展前景。不定根的培养属于器官培养范畴,药用植物不定根大规模培养是实现中药产业化的一个重要途径。

从细胞培养的角度来讲,诱导子是指能促进植物细胞产生目的产物的因子^[5],可分为生物诱导子和非生物诱导子。生物诱导子主要包括真菌、细菌、病毒与植物细胞成分等,而非生物诱导子主要是起诱导作用的理化因子^[6],常见的有茉莉酸甲酯、水杨酸、水解酪蛋白、重金属盐、稀土元素等。在自然环境中为了抵御不良环境与伤害等胁迫,植物细胞往往会产生次生代谢物质,而植物次生代谢物质的合成具有全能性和多条代谢途径^[7],同时植物对于诱导子会作出应答^[8]。在植物细胞培养中可以通过添加诱导子的方法有效调控次生代谢途径,定向诱导植物细胞提高目的产物含量^[9-10]。

本实验试图建立蜀葵细胞悬浮培养和不定根摇瓶培养体系,并分别考察3种诱导子(茉莉酸甲酯、水杨酸、酵母提取物)对蜀葵悬浮细胞、不定根生长及对糖醛酸和总黄酮含量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

蜀葵(*Alcea rosea*)愈伤细胞由蜀葵花药作为外植体诱导所得,每25 d继代1次,在生化培养箱中25℃恒温暗培养。待诱导的愈伤组织生长稳定后,挑取色泽鲜艳、柔软易碎的愈伤组织4 g,用镊子夹碎后放入盛有100 mL液体培养基的三角瓶中,封口膜封好,25℃、120 r/min恒温振荡培养2 d后,用120目尼龙筛过滤去除较大的细胞团,滤液静置10 min,倒去上层清液,补充新鲜的液体培养基后继续振荡培养,约10 d继代1次,继代时倒入与悬浮液等量的新鲜培养基摇匀后分装成2瓶,几次后得到稳定的悬浮培养细胞。

优化蜀葵花药和不定根的诱导培养基,最终得到:

蜀葵花药诱导培养基成分:MS基础培养基+30 g/L蔗糖+1.5 mg/L 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)+

2 mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)+1 mg/L 萘乙酸(NAA),pH 5.8。

悬浮细胞悬浮培养基成分:MS基本培养基+30 g/L蔗糖+1 mg/L 6-BA+1 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L NAA,pH 5.8。

蜀葵不定根由蜀葵的幼茎作为外植体诱导所得,将诱导所得的不定根切下来进行摇瓶培养,每25 d继代1次,培养条件为25℃、120 r/min振荡培养。

不定根诱导培养基成分:MS基本培养基+30 g/L蔗糖+7 g/L琼脂+2 mg/L 3-吲哚丁酸(IBA),pH 5.8。

不定根摇瓶培养基成分:MS基本培养基+30 g/L蔗糖+2 mg/L IBA,pH 5.8。

1.2 实验方法

悬浮细胞生长曲线测定:取2 g悬浮细胞加入盛有100 mL液体培养基的三角瓶中,封口膜封好,25℃、120 r/min恒温振荡培养,每4 d取样1次,测定其生长曲线。

不定根生长曲线测定:取2 g生长良好的不定根接种于含有100 mL液体培养基的三角瓶中摇瓶培养,25℃、120 r/min恒温振荡培养,每4 d取样1次,测定其生长曲线。

在蜀葵悬浮细胞和不定根的快速生长期末期分别加入不同浓度的茉莉酸甲酯、水杨酸、酵母提取物作为诱导子。继续振荡培养10 d后,干燥至质量恒定,测定悬浮细胞和不定根的质量。茉莉酸甲酯的添加质量浓度为0.02、0.2、2、10、20 mg/L,水杨酸的添加质量浓度为0.01、0.1、1、5、20 mg/L,酵母提取物的添加质量浓度为0.01、0.1、0.5、1、2 g/L。

1.3 测定方法

糖醛酸含量测定方法:精密称取0.2 g干燥至质量恒定的待测样品置于100 mL具塞三角瓶中,加入40 mL蒸馏水,100℃水浴振荡提取1 h,超声30 min,趁热真空抽滤2次,收集滤液,在100 mL容量瓶用蒸馏水定容作为样品液。以葡萄糖醛酸作为标准品,用硫酸咔唑法测定其糖醛酸含量^[11]。

总黄酮含量测定方法:准确称取0.5 g干燥至质量恒定的待测样品,加入60 mL体积分数为60%的乙醇于100 mL圆底烧瓶内,70℃水浴加热回流提取2 h。过滤、收集滤液,用体积分数为60%的乙醇定容至100 mL,作为样品液。以芦丁作为标准品,用硝酸铝比色法测定其总黄酮含量^[12]。

1.4 数据处理

用SPSS软件进行数据处理。*表示与空白对照

相比具有显著性差异 ($P < 0.05$), **表示与空白对照相比差异非常显著 ($P < 0.01$).

2 结果与分析

2.1 蜀葵悬浮细胞和不定根的生长曲线

测定 0~28 d 悬浮细胞和不定根的生长情况, 每 4 d 取样检测 1 次, 测定其细胞干质量, 生长曲线如图 1 所示. 在 8~20 d 时, 悬浮细胞和不定根均快速生长, 可以认为是悬浮细胞和不定根生长的快速生长期, 选择在培养第 18 天时加入诱导子继续培养.

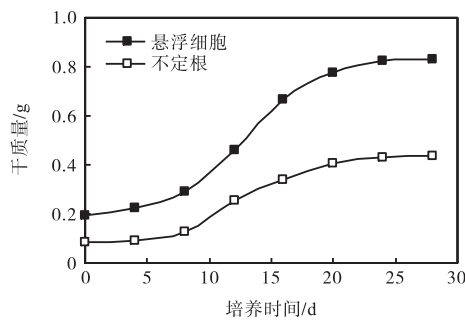


图 1 蜀葵悬浮细胞和不定根生长曲线

Fig. 1 Growth curve of cells and adventitious root of *Alcea rosea* during suspension culture

2.2 茉莉酸甲酯对蜀葵悬浮细胞、不定根生长及糖醛酸和总黄酮含量的影响

茉莉酸甲酯对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响如图 2 所示.

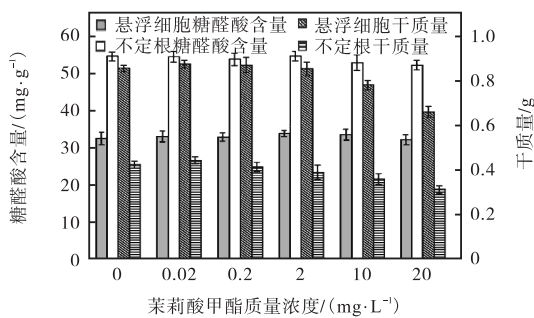


图 2 茉莉酸甲酯对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响

Fig. 2 Effects of methyl jasmonate on the growth and alduronic acid content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

由图 2 可知, 随着茉莉酸甲酯浓度的增加, 悬浮细胞和不定根的干质量整体均呈下降趋势, 特别是高浓度的茉莉酸甲酯使得下降趋势更为明显, 说明茉莉酸甲酯对于蜀葵悬浮细胞和不定根的生长均有抑制

作用. 悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量均没有明显的变化, 说明在悬浮细胞和不定根培养的快速生长期末期添加茉莉酸甲酯对于蜀葵悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量没有影响.

茉莉酸甲酯对蜀葵悬浮细胞和不定根的总黄酮含量的影响如图 3 所示. 对比在快速生长末期添加茉莉酸甲酯过后的悬浮细胞和不定根中的总黄酮含量发现: 在低浓度下, 随着茉莉酸甲酯浓度的增加, 悬浮细胞和不定根中的总黄酮含量呈增加趋势, 在 0.2 mg/L 时均达到高点, 分别为 8.91、10.95 mg/g, 分别达到对照的 1.64 倍和 1.70 倍. 但在高浓度下 (> 0.2 mg/L) 随着茉莉酸甲酯浓度的增加, 二者的总黄酮含量均呈下降趋势. 由于在茉莉酸甲酯质量浓度为 0.2 mg/L 时两者的干质量与对照相比并没有明显变化, 故对于利于总黄酮含量的积累来说, 在悬浮细胞和不定根悬浮培养的快速生长期末期加茉莉酸甲酯的最佳添加质量浓度为 0.2 mg/L.

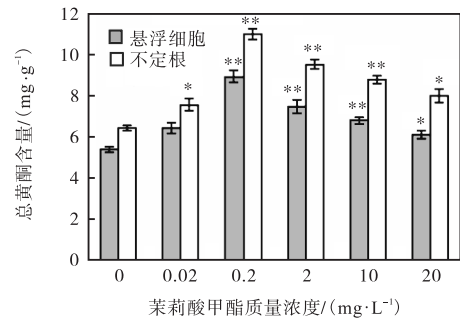


图 3 茉莉酸甲酯对蜀葵悬浮细胞和不定根的总黄酮含量的影响

Fig. 3 Effects of methyl jasmonate on the flavonoids content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

2.3 水杨酸对蜀葵悬浮细胞、不定根生长及糖醛酸和总黄酮含量的影响

水杨酸对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响如图 4 所示. 在蜀葵悬浮细胞和不定根快速生长期的末期加入水杨酸后与对照相比其干质量随着水杨酸浓度的增加不断减少, 说明水杨酸对于蜀葵悬浮细胞和不定根的生长有一定的抑制作用, 且浓度越大抑制作用越明显.

对比在快速生长末期添加不同浓度水杨酸后的悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量, 发现在低浓度下糖醛酸含量均呈增加趋势, 悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量在水杨酸质量浓度为 5 mg/L 时均达到最高, 分别达到了 43.57 mg/g 和 67.94 mg/g, 分别是对

对照组的 1.34 倍和 1.27 倍,而后随着水杨酸浓度的增大,糖醛酸含量呈降低趋势。

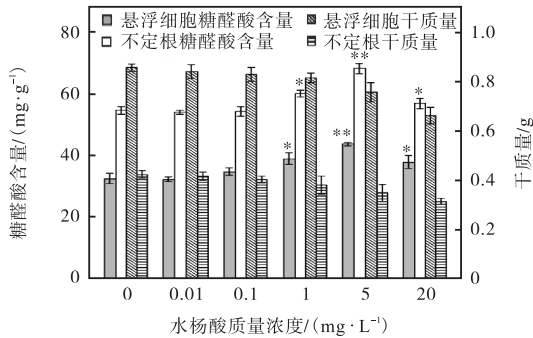


图 4 水杨酸对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响
Fig. 4 Effects of salicylic acid on the growth and aldonic acid content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

水杨酸对蜀葵悬浮细胞总黄酮含量的影响如图 5 所示。对比在快速生长末期添加不同浓度水杨酸后的悬浮细胞和不定根中的总黄酮含量,发现在低浓度下总黄酮含量均呈增加趋势,在水杨酸质量浓度为 1 mg/L 时均达到最高,分别为 8.26、10.95 mg/g,达到对照组的 1.52 倍和 1.58 倍,而后随着水杨酸浓度增加,总黄酮含量呈下降趋势。

由于随着水杨酸浓度的增加,悬浮细胞和不定根的干质量变化并不明显,故对于悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量提高的水杨酸的最佳添加质量浓度为 5 mg/L。利于悬浮细胞和不定根总黄酮含量提高的水杨酸的最佳添加质量浓度为 1 mg/L。

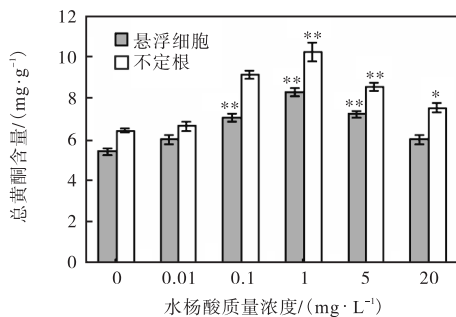


图 5 水杨酸对蜀葵悬浮细胞总黄酮含量的影响
Fig. 5 Effects of salicylic acid on the flavonoids content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

2.4 酵母提取物对蜀葵悬浮细胞、不定根生长及糖醛酸和总黄酮含量的影响

酵母提取物对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响如图 6 所示。在蜀葵悬浮细胞和不定根的快速生长期末期加入酵母提取物,加入较低

浓度的酵母提取物后悬浮细胞和不定根的干质量均有不同程度的增加,悬浮细胞干质量在酵母提取物质量浓度为 0.5 g/L 时达到最高,为 0.91 g;不定根干质量在酵母提取物质量浓度为 1 g/L 时达到最高,为 0.51 g。而后均随着酵母提取物浓度增加干质量呈下降趋势。这说明在一定浓度条件下酵母提取物对于蜀葵愈伤悬浮细胞、不定根的生长有一定的促进作用。

在蜀葵悬浮细胞和不定根快速生长期的末期加入酵母提取物,收获后分别测定其糖醛酸含量,发现在一定浓度下悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量均随着酵母提取物浓度的增加而增加,糖醛酸含量均在酵母提取物质量浓度为 1 g/L 时达到最高,分别达到了 47.53 mg/g 和 75.34 mg/g,是对照组的 1.47 倍和 1.38 倍,而后随着酵母提取物浓度的提高,其糖醛酸含量均呈下降趋势。

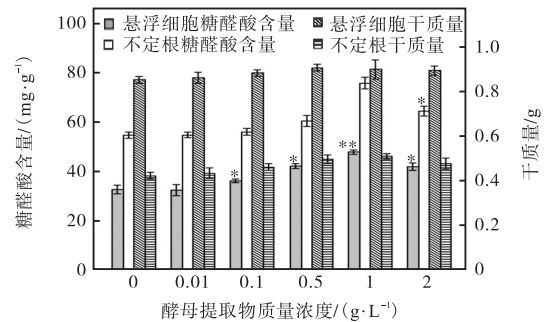


图 6 酵母提取物对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长及糖醛酸含量的影响
Fig. 6 Effects of yeast extracts on the flavonoids content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

酵母提取物对蜀葵悬浮细胞总黄酮含量的影响如图 7 所示。

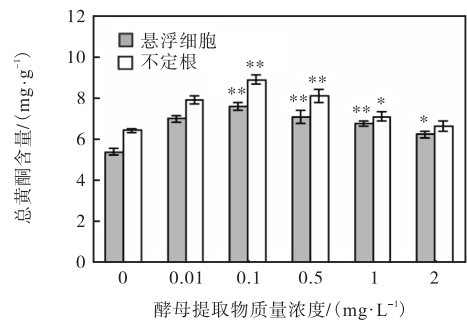


图 7 酵母提取物对蜀葵悬浮细胞总黄酮含量的影响
Fig. 7 Effects of yeast extracts on the flavonoids content of *Alcea rosea* suspension cell and adventitious root

在蜀葵悬浮细胞和不定根快速生长期的末期加入酵母提取物,收获后分别测定其总黄酮含量,发现在一定浓度下悬浮细胞和不定根中的总黄酮含量均

随着酵母提取物浓度的增加而增加,均在酵母提取物质量浓度为 0.1 g/L 时达到高点,分别为 7.61 mg/g 和 8.88 mg/g,达到对照组的 1.40 倍和 1.38 倍.而后随着酵母提取物浓度的增加,总黄酮含量均呈下降趋势.

由于随着酵母提取物浓度的改变,悬浮细胞和不定根的干质量变化并不明显,因此利于悬浮细胞和不定根中糖醛酸含量提高的酵母提取物的最佳添加质量浓度为 1 g/L. 利于悬浮细胞和不定根中总黄酮类含量提高的酵母提取物的最佳添加质量浓度为 0.1 g/L.

3 讨论

研究^[13]证明诱导子能诱导植物体内生物碱、萜类和黄酮类化合物等植物次生代谢物产量的增加.茉莉酸甲酯能够明显提高蒙古黄芪、甘草中总黄酮的含量^[14];水杨酸在红豆杉细胞培养中可以提高紫杉醇的含量^[15];以酵母提取物作为诱导子处理野葛根悬浮细胞,异黄酮类化合物的含量显著提高^[16].在一定条件下,利用添加诱导子来调节药用植物的次生代谢途径,从而提高药用植物细胞培养中的次生代谢产物的含量,具有良好的经济效益和社会效益.

蜀葵和其他锦葵科植物如黄蜀葵、秋葵等都是优良的药用植物,虽然它们已经在我国的许多地方广泛种植,但是大部分还是以作为景观植物为主,无法被有效利用.大规模的人工种植又会浪费大量宝贵的耕地资源,同时易受农药、害虫和病毒的侵染等因素的影响,还存在着种植周期长、劳动力成本过高等问题,这类实用性非常强的药用植物很难有效地被人们所利用.通过生物技术的应用,利用植物组织培养技术可以很好地解决这些问题^[17],药用植物悬浮细胞培养、药用植物不定根培养是目前两种常用的途径,但是有关蜀葵乃至锦葵科植物在此类方面的研究几乎没有.

本文成功利用蜀葵花药作为外植体诱导愈伤组织并悬浮培养,利用蜀葵幼茎作为外植体诱导不定根并摇瓶培养,分别测定它们的生长曲线并研究了 3 种诱导子分别对蜀葵悬浮细胞、不定根的生长及糖醛酸和总黄酮含量的影响.结果表明:茉莉酸甲酯和水杨酸均会对蜀葵悬浮细胞和不定根的生长有一定抑制作用,而低浓度的酵母提取物则会促进蜀葵悬浮细胞和不定根的生长,但效果不明显.在快速生长期末期加入茉莉酸甲酯对于悬浮细胞和不定根中的糖醛酸含量没有影响,而在快速生长期末期加入适宜浓度的

水杨酸和酵母提取物则均能不同程度地提高悬浮细胞和不定根中糖醛酸产量.而酵母提取物不仅在低浓度下能促进细胞的生长,并且在一定浓度下还能提高黄酮和糖醛酸化合物的产量.在用这 3 种诱导子处理过程中不定根中两种化合物的含量均高于悬浮细胞.

在悬浮细胞和不定根的快速生长期末期分别加入适宜浓度的茉莉酸甲酯、水杨酸和酵母提取物 3 种诱导子均能不同程度地提高悬浮细胞和不定根的次生代谢产物,其中以酵母提取物的效果最为明显,水杨酸次之.

在药用植物培养中加入诱导子来提高某些产物含量的具体作用机制目前尚不清楚.但多数研究表明加入诱导子可以引起一些酶活性变化并合成某些酶,形成和积累抵抗微生物的植保素,从而促进次生代谢产物含量的提高.研究^[17]表明通过添加诱导子,一些植物的次生代谢产物含量可提高 10 倍以上.本实验中 3 种诱导子对蜀葵细胞培养中糖醛酸和总黄酮含量的促进作用不是特别明显,有待进一步研究.

参考文献:

- [1] Papiez M, Gancarczyk M, Bilińska B. The compounds from the hollyhock extract (*Althaea rosea* Cav. var. *nigra*) affect the aromatization in rat testicular cells in vivo and in vitro[J]. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2002, 40(4): 353-359.
- [2] 刘荣芬, 王海波, 彭润华. 蜀葵治疗河豚毒素中毒的临床疗效观察[J]. *中国中药杂志*, 2001, 26(4): 280-281.
- [3] 王海波, 林静, 戚颖, 等. 蜀葵结合西药治疗河豚鱼中毒临床体会[J]. *中国中医急症*, 2000, 9(3): 101-102.
- [4] 吴征镒. 新华本草纲要: 第二册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 284.
- [5] 王和勇, 罗恒, 孙敏. 诱导子在药用植物细胞培养中的应用[J]. *中草药*, 2004, 35(8): 3-7.
- [6] Ebel J. Phytoalexin synthesis: The biochemical analysis of the induction process[J]. *Annual Reviews Phytopathol*, 1986, 24(4): 235-264.
- [7] Verpoorte R, Heijden R V D, Memelink J. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production [J]. *Transgenic Research*, 2000, 9(4/5): 323-343.
- [8] Namdeo A G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: A review[J]. *Revue De Psychologie Des Peuples*, 2007, 1(1): 69-83.
- [9] Zhang W, Furusaki S. Production of anthocyanins by

- plant cell cultures[J]. *Biotechnology & Bioprocess Engineering*, 1999, 4(4): 231–252.
- [10] Almagro L, Sabater-Jara A B, Belchí-Navarro S, et al. Effect of UV light on secondary metabolite biosynthesis in plant cell cultures elicited with cyclodextrins and methyl jasmonate[M]//Vasanthaiah H K N, Kambiranda D. *Plants and Environment*. Croatia: InTech, 2011: 115–140.
- [11] Watanabe K, Yano S I, Yamada Y. The selection of cultured plant cell lines producing high levels of biotin[J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(3): 513–516.
- [12] 高丽华, 胡显文. 分光光度法测定水母雪莲细胞培养物中的总黄酮[J]. *中外食品加工技术*, 2003, 14(2): 136–137.
- [13] 张艳霞, 史玲玲, 戴向辰, 等. 茉莉酸及其衍生物: 一类重要的植物次生代谢诱导子[J]. *海南师范大学学报*, 2008, 21(3): 323–327.
- [14] 刘雅静, 邢菊展, 张宇婷, 等. 茉莉酸甲酯, 蔗糖和氮源对蒙古黄芪愈伤组织生长和黄酮含量的影响[J]. *内蒙古大学学报: 自然科学版*, 2012, 43(1): 63–68.
- [15] 苗志奇, 未作君, 元英进. 水杨酸在紫杉醇生物合成中诱导作用的研究[J]. *生物工程学报*, 2000, 16(4): 509–513.
- [16] Park H H, Hakamatsuka T, Sankawa U, et al. Rapid metabolism of isoflavonoids in elicitor-treated cell suspension cultures of *Pueraria lobata*[J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(2): 373–380.
- [17] 薛淮, 刘敏, 张纯花. 中国药用植物组织培养研究进展[J]. *植物杂志*, 2002(1): 6–7.

责任编辑: 郎婧

(上接第10页)

- [66] Shi Z Y, Zheng Y T, Zhang H B, et al. DNA electrochemical aptasensor for detecting fumonisins B₁ based on grapheme and thionine nanocomposite[J]. *Electroanalysis*, 2015, 27(5): 1097–1103.
- [67] Ueno Y. Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes[J]. *Toxicological Sciences*, 1984, 4(2): 124–132.
- [68] Yarom R, Sherman Y, Yagen B. T-2 toxin-induced pathology in the hearts of rats[J]. *British Journal of Experimental Pathology*, 1983, 64(5): 570–577.
- [69] Piermarini S, Volpe G, Ricci F, et al. Rapid screening electrochemical methods for aflatoxin B₁ and type-A trichothecenes: A preliminary study[J]. *Analytical Letters*, 2007, 40(7): 1333–1346.
- [70] Wei Z L, Sun X L, Li Z J, et al. Highly sensitive deoxynivalenol immunosensor based on a glassy carbon electrode modified with a fullerene/ferrocene/ionic liquid composite[J]. *Microchimica Acta*, 2011, 172(3): 365–371.

责任编辑: 郎婧