

# 不同诱导子对黄芪悬浮培养细胞中黄芪多糖积累的影响

杨静, 孙皓 (天津渤海职业技术学院, 天津 300402)

**摘要** [目的]研究水杨酸、茉莉酸甲酯、硝酸银、高糖、高盐、超声等诱导子对黄芪细胞生长和黄芪多糖合成的影响。[方法]向细胞悬浮液中加入各种诱导子或对细胞悬浮液进行超声处理,测定细胞干重增殖倍数和黄芪多糖的合成量。[结果]加入 10.0 mg/L 水杨酸可使黄芪多糖的含量为对照组的 2.04 倍;添加较低浓度的茉莉酸甲酯浓度(1.0 mg/L)使黄芪多糖的含量达 48.974 mg/g,比对照提高了 2.50 倍;添加 4 mg/L 浓度的硝酸银能使黄芪多糖含量提高 1.60 倍;高糖和高盐胁迫处理均能诱导黄芪多糖的合成。高糖处理能使黄芪多糖的产量比对照提高了 1.92 倍。低剂量的超声刺激对黄芪细胞生物量的积累有显著的刺激作用。[结论]诱导子的添加可有效促进黄芪悬浮培养细胞中黄芪多糖的积累。

**关键词** 诱导子;黄芪多糖;积累;细胞悬浮培养;黄芪

**中图分类号** S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)26-08954-03

## Effect of Different Elicitors on Accumulation of Astragalus Polysaccharides in the Suspension Culture Cell of *Astragalus membranaceus*

YANG Jing et al (Tianjin Bohai Vocational and Technical College, Tianjin 300402)

**Abstract** [Objective] To investigate the effects of different elicitors (salicylic acid, methyl jasmonate, silver nitrate, high sucrose, high salt, ultrasonic stimulation) on the cell growth and inducible formation of astragalus polysaccharides in *Astragalus membranaceus* cells. [Method] The suspension culture cells were treated with the elicitors or ultrasonic stimulation. Then the cell growth rate and the astragalus polysaccharides content in *Astragalus membranaceus* cells were determined. [Result] 10.0 mg/L salicylic acid resulted in an increase of astragalus polysaccharides content by about 2.04 times. With the addition of methyl jasmonate, the highest content of astragalus polysaccharides reached 48.974 mg/g, and it was 2.50 times higher than the control. The addition of 4 mg/L silver nitrate promote astragalus polysaccharides content by 1.60 times. Both the high sucrose and high salt treatment could induce the synthesis of astragalus polysaccharides. With the high sucrose treatment, the astragalus polysaccharides content was increased by 1.92 times. Low dose of ultrasonic stimulation can significantly stimulate the cell growth. [Conclusion] The addition of the elicitors was effective to enhance the formation of astragalus polysaccharides in *Astragalus membranaceus* cells.

**Key words** Elicitors; *Astragalus* polysaccharides; Accumulation; Suspension culture cell; *Astragalus membranaceus*

黄芪(*Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bunge.)是豆科多年生草本植物,根是中药的中药材,主产于黑龙江、内蒙和山西等地。传统中医学认为,黄芪具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、托毒排脓、敛疮生肌等功能<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,黄芪具有增强机体免疫功能、强心降压、降血糖、利尿、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、抗病毒、镇静、镇痛等作用。黄芪被广泛应用于临床配伍或日常保健,位列 40 种大宗药材品种的前 10 名。黄芪含有皂苷、黄酮、多糖和氨基酸等多种成分,其中黄芪多糖(Astragalus Polysaccharides, APS)是含量最多的主要活性成分,在黄芪药理作用中起决定性作用。APS 具有促进免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗辐射、抗衰老、抗寄生虫等多种生物活性<sup>[2]</sup>。近年来,由于人类对黄芪掠夺性开发,有限的野生资源远不能满足人们的需求,而传统栽培又受季节、气候、病虫害的影响,不能满足黄芪市场需求,黄芪资源短缺严重制约其广泛应用。采用植物细胞培养技术生产植物有效成分,具有高效、迅速和季节限制小及保护生态环境等优点,是解决药材资源问题的有效途径之一。目前,关于黄芪组织培养研究的报道比较多,已建立了稳定的愈伤组织培养体系<sup>[3]</sup>,而利用诱导子的添加对黄芪悬浮细胞中黄芪多糖含量影响的研究,尚未见报道。该试验主要考察水杨酸、茉莉酸甲酯、硝酸银、高糖、高盐、超声等诱导子对黄芪细胞生长和黄芪多糖合成的影响,旨在为黄

芪细胞大规模培养奠定基础。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 黄芪种子(北京时珍中草药研究所),经乐仁堂制药厂中心化验室鉴定为 *Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bunge. 的种子。黄芪多糖对照品、葡萄糖对照品购自中国药品生物制品检定所。水杨酸、茉莉酸甲酯、硝酸银、甘露醇和氯化钾等试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司产品。

**1.2 仪器** HPG-280B 强光照培养箱;TCYQ ZYSA0351 型超大型摇床;BCN-1360 型净化工作台;Sartorius BS 2202S 型电子天平;UV-7500 紫外分光光度计;202 型电热恒温干燥箱等。

### 1.3 方法

**1.3.1 黄芪无菌苗的获得。**选择饱满的黄芪种子于 70% 的乙醇中浸泡 1 min,用无菌水冲洗 2 次,然后用 2% 次氯酸钠溶液进行表面消毒 30 min 后,用无菌水浸洗 5 次。将已灭菌的种子接入培养基,培养条件为 MS + 3% 蔗糖 + 1% 琼脂、pH 5.8、光照 16 h 培养,4~5 d 后种子萌发,20 d 后试管苗长势良好。

**1.3.2 愈伤组织的诱导和继代培养。**取黄芪无菌苗的幼嫩叶片,自来水冲洗干净,75% 酒精消毒 30 s,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 7 min,然后无菌水冲洗 4 次,无菌滤纸吸干水分,切成 0.5 cm<sup>2</sup> 的小块,接种到诱导培养基上培养,培养条件为 MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA + 3% 蔗糖 + 1% 琼脂、pH 5.8,采用黑暗培养,(24 ± 1)℃,挑选生长良好

的愈伤组织,称重后继代培养,每四周继代一次,继代培养基中添加 2.0 mg/L 6-BA,其他同诱导培养基,培养条件同前。以上培养基接种前须经高压灭菌,灭菌温度 121 ℃,灭菌时间 20 min。

**1.3.3 黄芪细胞株的获得。**将愈伤组织(约 2 g 鲜重)转移到含 50 ml 液体的培养基(MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA + 3% 蔗糖,pH5.8)的 250 ml 锥形瓶中悬浮培养,每15 d 继代一次,在继代培养过程中,将大块尚未分散的愈伤组织去除,同时去除褐化的愈伤组织,悬浮培养时,摇床的转速为 120 r/min,(22 ± 1) ℃,暗培养。

**1.3.4 黄芪悬浮培养细胞诱导子处理。**茉莉酸甲酯用无水乙醇溶解,配成试验用浓度的溶液,经 0.22 μm 过滤除菌;水杨酸、硝酸银、甘露醇和氯化钾用蒸馏水溶解,配成试验用浓度的溶液,高压灭菌。

**1.3.5 诱导子添加试验。**在培养的第 4 天(指数生长期之前)向培养基中分别添加不同质量浓度的水杨酸(0.1、1.0、10.0 mg/L)、茉莉酸甲酯(0.1、1.0、10.0 mg/L)、硝酸银(2、4、8 mg/L)以及高盐(250 mmol/L KCl)、高糖(25 g/L 甘露醇)和超声处理 5 min(300 Hz/min),再培养 14 d,即第 18 天收获黄芪细胞。培养基 pH 5.8,摇床转速 120 r/min,每组重复 3 ~ 4 瓶,以未添加诱导子的组分作为对照。

**1.3.6 生物量的测定。**将悬浮细胞液置于离心管中,转速 8 000 r/min,离心 15 min,弃去上清液,用蒸馏水洗涤细胞 2 ~ 3 次,弃去上清液,称得沉淀细胞质量,即为细胞鲜重,置于烘箱中 60 ℃干燥 7 ~ 8 h 以至恒重,称其质量为细胞干重。干重增殖倍数 = (收获时细胞干重 - 接种时细胞干重)/接种时细胞干重。

**1.3.7 黄芪多糖的含量测定。**

**1.3.7.1 样品溶液的制备<sup>[4]</sup>。**将黄芪细胞培养物 50 ℃下烘干至恒重,粉碎,准确称取 1.500 g,用滤纸包好置索氏提取器中加入 70% 的乙醇提取 3 h,挥干滤纸包中的乙醇,放于小烧杯中加入 20 倍量的去离子水超声,提取 110 min。水提液浓缩定容于 25 ml 的容量瓶中备用。

**1.3.7.2 对照品溶液的制备。**精密称取于 105 ℃干燥至恒重的 D-无水葡萄糖 100 mg,置 100 ml 量瓶中加水溶解,定容至刻度,摇匀即得 1 μg/ml 的对照品溶液。

**1.3.7.3 黄芪多糖含量测定方法。**精密吸取空白对照品和供试品溶液各 2 ml 于具塞试管中,分别加入 5% 苯酚溶液 1.0 ml,摇匀,迅速加入 5.0 ml 浓硫酸,振摇 2 min,置沸水浴中加热 15 min,取出置冷水浴中冷却 30 min,以蒸馏水为空白对照,在 490 nm 处测定吸光度。根据回归方程,计算出相应浓度。试验所有数据均用 SPSS 11.5 软件进行统计学处理。数据以平均值 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。

**1.3.7.4 标准曲线绘制。**分别精密吸取的对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml 的溶液于 25 ml 容量瓶中,加蒸馏水至刻度,精密吸取上述各溶液 2 ml 于具塞试管中,按照“1.3.7.3”方法测定吸光度。以吸光度对浓度进行线性回归,得回归方程  $A = 68.703C + 0.0251$  ( $r = 0.9995$ ),结果

表明,葡萄糖在 2.0 ~ 14.0 μg/ml 线性关系良好。

2 结果与分析

**2.1 水杨酸对黄芪细胞生长及黄芪多糖积累的影响** 从诱导子水杨酸的添加对黄芪细胞生长和黄芪多糖合成的影响(表 1)可以看出,在细胞生长指数期前添加水杨酸浓度较低时(0.1、1.0 mg/L),水杨酸对黄芪细胞生长的影响与对照组相比无显著影响;添加高质量浓度水杨酸(10.0 mg/L)时,黄芪细胞干重为对照组的 70.85%。可见,较高浓度的水杨酸则会抑制黄芪细胞生长。随着水杨酸质量浓度的增加,黄芪多糖的含量也逐渐增加;当水杨酸浓度达 10.0 mg/L 时,黄芪多糖的含量显著增加,达到对照组的 2.04 倍。由此可见,当水杨酸在 0.1 ~ 10.0 mg/L 范围内,诱导产物合成效果逐渐提高,但随着水杨酸浓度的增加,其对细胞毒害也逐渐加强,细胞干重明显下降。分析原因一方面可能是水杨酸的添加导致细胞活力下降甚至死亡;另一方面,水杨酸添加又激活了黄芪多糖合成代谢途径中某些酶,进而提高黄芪多糖的合成速率。可见,只有在适宜的诱导子浓度下,找到细胞生物量的下降与黄芪多糖含量的提高之间的平衡点,才能获得较好的诱导效果。

表 1 水杨酸对黄芪细胞生长和细胞中黄芪多糖含量的影响

| 水杨酸浓度<br>mg/L | 干重//mg         | 增殖倍数         | 多糖含量//mg/g       |
|---------------|----------------|--------------|------------------|
| 对照            | 315.45 ± 4.807 | 5.15 ± 0.265 | 19.622 ± 0.470   |
| 0.1           | 302.26 ± 4.784 | 5.07 ± 0.112 | 22.959 ± 0.802 * |
| 1.0           | 290.32 ± 7.441 | 4.89 ± 0.308 | 28.447 ± 0.951 * |
| 10.0          | 223.51 ± 4.318 | 3.52 ± 0.102 | 39.934 ± 1.237 * |

注: \* 表示与对照相比有显著差异( $P < 0.01$ )。

**2.2 茉莉酸甲酯对黄芪细胞生长及黄芪多糖含量的影响** 茉莉酸甲酯是激发次生代谢物积累的常用诱导子之一,不同植物悬浮培养体系中加入茉莉酸甲酯后能够诱导细胞中次生代谢物积累增加<sup>[5]</sup>。由茉莉酸甲酯对黄芪细胞生长及黄芪多糖含量的影响(表 2)可见,随添加入茉莉酸甲酯浓度的增加,细胞干重逐渐降低;当茉莉酸甲酯浓度达 10.0 mg/L 时,细胞干重降为对照组的 68.74%。可见,茉莉酸甲酯的添加对黄芪细胞生长一定的抑制作用。茉莉酸甲酯对黄芪的积累有明显的促进作用。添加 1.0 mg/L 茉莉酸甲酯可使黄芪多糖的含量达 48.974 mg/g,达到对照组的 2.50 倍;随着加入茉莉酸甲酯浓度的增加,对黄芪多糖积累的促进作用逐渐减弱;当加入的茉莉酸甲酯的质量浓度达 10.0 mg/L,细胞中黄芪多糖的含量与对照组相比已没有明显提高。由此可以推断,较低的茉莉酸甲酯浓度(1.0 mg/L)更有利于黄芪细胞中黄芪多糖的积累。

**2.3 硝酸银对黄芪细胞生长及黄芪多糖含量的影响** 从硝酸银对黄芪细胞的生长和黄芪多糖的合成影响(表 3)可以看出,各组试验中,黄芪细胞干重均有所下降,可见硝酸银对黄芪细胞生长没有多大益处,甚至阻碍了黄芪细胞的影响。而硝酸银浓度较低为 2 mg/L 时,黄芪多糖的产量与对照组接近;当硝酸银浓度达 4 mg/L 时,黄芪多糖的含量达到

最大值,为对照组的 1.60 倍;但在高浓度 8 mg/L 的硝酸银下,黄芪多糖的合成受到了抑制,仅为对照组的 36.58%,这可能是高浓度银离子毒性所造成的。综合分析,4 mg/L 浓度的硝酸银最有利于黄芪多糖的积累。

表 2 茉莉酸甲酯对黄芪细胞生长和细胞中黄芪多糖含量的影响

| 茉莉酸甲酯浓度<br>mg/L | 干重//mg         | 增殖倍数         | 多糖含量<br>mg/g     |
|-----------------|----------------|--------------|------------------|
| 对照              | 315.45 ± 4.807 | 5.15 ± 0.265 | 19.622 ± 0.470   |
| 0.1             | 287.40 ± 5.675 | 4.81 ± 0.114 | 24.374 ± 1.041 * |
| 1.0             | 254.81 ± 3.563 | 4.10 ± 0.095 | 48.974 ± 0.793 * |
| 10.0            | 216.84 ± 3.110 | 3.35 ± 0.098 | 21.025 ± 0.691   |

注: \* 表示与对照相比有显著差异( $P < 0.01$ )。

表 3 硝酸银对黄芪细胞生长和细胞中黄芪多糖含量的影响

| 硝酸银浓度<br>mg/L | 干重//mg         | 增殖倍数         | 多糖含量//mg/g       |
|---------------|----------------|--------------|------------------|
| 对照            | 315.45 ± 4.807 | 5.15 ± 0.265 | 19.622 ± 0.470   |
| 2             | 283.23 ± 3.701 | 4.75 ± 0.072 | 21.546 ± 0.918 * |
| 4             | 220.79 ± 1.019 | 3.55 ± 0.049 | 31.371 ± 0.994 * |
| 8             | 202.46 ± 1.812 | 3.19 ± 0.103 | 7.177 ± 0.609 *  |

注: \*, \*\* 分别表示与对照相比有显著差异( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )差异。

**2.4 高盐、高糖、超声刺激对黄芪细胞生长及黄芪多糖含量的影响** 由表 4 可见,在细胞培养的对数期前,对黄芪细胞进行了渗透胁迫可提高细胞干重,在高盐渗透胁迫下得到了较大的黄芪细胞干重的增殖倍数;高盐、高糖处理情况下均显著提高了黄芪多糖的含量,以高糖处理效果最好,使得黄芪多糖的产量比对照提高了 1.92 倍。高盐胁迫是提高悬浮细胞中代谢产物的重要手段,高糖则可为细胞生长提供充足的碳源,有利于产物的合成,如陈永勤等在对云南红豆杉细胞悬浮培养时使用高盐、高糖渗透胁迫显著促进细胞中紫杉醇的合成<sup>[6]</sup>。低剂量的超声刺激对黄芪细胞生物量的积累有显著的刺激作用,但对黄芪多糖的含量的提高影响不大。

表 4 高盐、高糖和超声对黄芪细胞生长和细胞中黄芪多糖含量的影响

| 样品 | 干重//mg         | 增殖倍数         | 多糖含量//mg/g       |
|----|----------------|--------------|------------------|
| 对照 | 315.45 ± 4.807 | 5.15 ± 0.265 | 19.622 ± 0.470   |
| 高盐 | 485.98 ± 3.523 | 8.85 ± 0.139 | 26.357 ± 0.774 * |
| 高糖 | 443.71 ± 8.565 | 8.09 ± 0.266 | 37.595 ± 0.586 * |
| 超声 | 485.00 ± 4.227 | 8.40 ± 0.125 | 22.640 ± 0.877 * |

注: \* 表示与对照相比有显著差异( $P < 0.01$ )。

3 讨论

植物次生代谢过程中,诱导子作为一种特殊的生化信号,能快速、专一和有选择地诱导某些特定基因的表达,从而提高代谢途径中相关酶的活性,进而促进或抑制细胞中该酶调控的次生代谢产物的合成<sup>[7]</sup>。通过添加外源诱导子改变植物次生代谢途径,是提高植物次生代谢产物的有效方法之一。

水杨酸和茉莉酸甲酯是植物的信号分子,可参与细胞内和细胞间信号传导,诱发细胞的防御反应,并激活细胞内多种酶的活性,促进次级代谢产物合成。Dong 等采用水杨酸

做诱导子促进了丹参细胞中酚类化合物积累,并激活抗氧化物的活性<sup>[8]</sup>。而 Angeles 等向水飞蓟细胞悬浮培养体系中加入了 MJ 发现水飞蓟素大量积累<sup>[9]</sup>。该试验以水杨酸和茉莉酸甲酯作为诱导子,二者均能在一定程度上抑制黄芪细胞生长和有效提高黄芪中黄芪多糖的含量,这与孙镇等的研究结果<sup>[10]</sup>一致。水杨酸和茉莉酸甲酯影响黄芪多糖合成的最佳作用浓度不同,水杨酸最佳作用浓度为 10.0 mg/L,而茉莉酸甲酯最佳作用浓度为 1.0 mg/L,茉莉酸甲酯诱导效果优于水杨酸。重金属离子对细胞培养合成次生代谢产物的影响可能是由于引起或促进了与植物防御机制有关的特异的次生产物合成途径<sup>[11]</sup>,如王传贵等研究表明一定浓度的硝酸银能促进中国红豆杉细胞中紫杉醇的合成<sup>[12]</sup>。另有报道,Ag-NO<sub>3</sub> 不但能促进人参毛状根中总皂苷含量和单体皂苷的积累,还能促进人参皂苷的外泌<sup>[13]</sup>。高盐胁迫可以改变细胞内外渗透压,有研究指出提高渗透压可以提高人参悬浮细胞中皂苷的含量<sup>[14]</sup>。低强度的超声可以提高细胞膜的通透性,利于营养物质和代谢产物进出细胞<sup>[15]</sup>。因此,超声常作为非生物诱导子用于细胞悬浮培养中提高次级代谢产物的含量。LIN 等研究发现低剂量超声能促进人参细胞生物量的增加和人参皂苷的合成<sup>[15]</sup>。

此外,诱导子的诱导效果不仅与诱导子的添加浓度有关,还与诱导子的添加时间有关。细胞接受外界刺激,调节自身代谢与它所处的生长时期有关。只有处于一定生长时期的细胞才能有效地接受诱导子信号,此时诱导子才能表现出最强的活性。Veeresham 提出在指数生长期前加入诱导子对次生代谢产物合成最有利<sup>[16]</sup>。因此,试验在细胞到达指数期前即第 5 天添加诱导子,类似的报道可见于 MJ 诱导子诱导葡萄细胞诱导合成花青素<sup>[17]</sup>。当然,其他的添加时间对黄芪细胞生长及其黄芪多糖积累的影响也待进一步研究。

除了诱导子的种类、浓度和添加时间影响植物细胞生长外,许多试验表明,诱导子之间存在着协同效应,如孙健玲等研究表明非生物和生物诱导子协同作用对半夏细胞生长和总生物碱的积累有促进作用<sup>[18]</sup>。该试验仅考虑了诱导子的单因素作用,多种诱导子之间的协同或拮抗作用还值得作进一步的考察。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:283-284.  
[2] SHAO B M, XU W, DAI H. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of Astragalus membranaceus a Chinese medicinal herb[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 20(4): 1103-1111.  
[3] 张延红, 高素芳, 朱田田, 等. 基本培养基及温度和 pH 对黄芪组织培养的影响[J]. 甘肃农业科技, 2011(3): 7-9.  
[4] 步营. 培养条件对黄芪细胞中几种次生物质含量的影响[D]. 大连:大连工业大学, 2008.  
[5] 何梦玲, 何芳, 孟京兰, 等. 3 种诱导子对白木香根悬浮培养细胞中 2-(2-苯乙基)色酮化合物形成的影响[J]. 中成药, 2013, 35(7): 1367-1371.  
[6] 陈永勤, 朱蔚华, 吴蕴祺, 等. 前体物质和化学诱导子对云南红豆杉细胞生长和产生紫杉醇的影响[J]. 湖北大学学报, 2000, 22(1): 91-94.  
[7] ZHAO J, DAVIS L C, VERPOORT R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites[J]. Biotechnol Adv, 2005, 23: 283-333.

繁殖成活率低<sup>[7]</sup>。在群落生境的构建中,处于被动适应的地位,种群竞争力较弱,这也是导致海南梧桐濒危的主要原因。

**3.2 讨论** 我国的生物多样性居世界第 8 位,但却是生物多样性受到最严重威胁的国家之一,由于我国人口剧增,对植物资源的过度开发和索取,使其植物资源受到重大破坏。我国有许多生物物种已变成濒危种和受威胁种。濒危野生动植物种国际贸易公约(CITES)中列出的 640 个世界性濒危物种中,我国就占了 156 种,约占总数的 1/4<sup>[8]</sup>,且其中 5% 左右有可能在近十年中灭绝。

海南岛共有珍稀濒危植物 35 科 49 属 57 种<sup>[9]</sup>。海南梧桐为濒危三级重点保护野生植物,野生资源稀少,由于野生原生环境被破坏,毁林开荒、人类过度采伐利用破坏了生态环境和资源分布,导致生态环境失衡,加速了物种的灭绝。病虫害和灾害性环境的发生,造成物种本身生活降低,传粉缺少,引起野生药用植物濒危。海南梧桐资源陷入了一种十分脆弱状态,面临灭绝。自身实地对海南 5 个地区的野生资源进行调查,海南梧桐位于深山人迹罕至位置,现存数量极少。由于其自身生物学特性的内在制约和生态环境外在影响,人类的不合理开发利用已成为海南梧桐资源濒危状况的重要因素。面对这一物种的濒危,应积极采取保护措施,通过就地保护、迁地保护措施,使珍稀野生海南梧桐资源得到可持续利用,目前在海南尖峰岭、吊罗山、霸王岭、佳西四大自然保护区及石山地区内仍有零星分布的野生海南梧桐资源,通过繁育种苗迁地保护该物种势在必行。

海南梧桐植物含有的香醛和莰萜亭具有独特的抗癌作用,开发利用就成为必然之势。但其开发利用不能靠野生资源,而应依赖于人工繁育。以自然保护区建设为依托,加强和完善就地保护工作,对极其濒危的海南梧桐野生资源进行野外回归试验,开展引种、驯化等生物学保护研究,建立其活

体保存圃,杜绝种群野外灭绝的悲剧发生。对处于濒危状态的药用海南梧桐资源的保护有着极大的作用,对加快海南中药行业的发展具有重大的研究意义。

目前海南梧桐资源仅限于零星分布的野生种,市场未见人工培育种苗,稀少的野生资源大大限制其在医疗上的研究和园林绿化工程上的应用。面对当前这种现状,人类应该秉持可持续发展的理念,在不损害已经濒危的海南梧桐野生资源情况下进行科学的利用。因此,笔者对此提供以下建议:通过设计种子育苗试验研究,建立有效的种子繁殖技术体系,提高海南梧桐的繁殖系数,节约繁殖成本,为海南梧桐种子育苗规模化生产提供技术支撑;同时对大田种苗繁殖的成活率、种苗移植后的成活率及幼苗后期管理做相应的试验,以期海南梧桐能够广泛地应用于医疗研究和园林绿化,也可作为海南梧桐植物资源的研发提供保障,拓宽药材的来源,造福于人类。

### 参考文献

- [1] 陈焕镛. 海南植物志,第 2 卷[M]. 北京:科学出版社,1965:75.
- [2] 何平,陈艳梅,胡汉杰,等. 25 种海南特有植物抗癌筛选结果的初步报告[J]. 海南医学,1994,5(2):93.
- [3] 康胜利,刘明生. 海南梧桐化学成分的研究[J]. 明珍国医国药,2007(4):797-798.
- [4] 郭巧生. 药用植物资源学[M]. 北京:高等教育出版社,2007.
- [5] 宋希强,王健,陈展川,等. 观赏植物种质资源学[M]. 北京:中国建筑工业出版社,2012:64-70.
- [6] 茹文明,张金屯,张峰,等. 濒危植物南方红豆杉濒危原因分析[J]. 植物研究,2006(5):624-628.
- [7] 张长青,李广平,王世斌. 园艺植物育苗原理与技术[M]. 上海:上海交通大学出版社,2012:77.
- [8] 王玉玲. 生物多样性与生物多样性保护的意义[J]. 农业与技术,2005,25(2):48-49.
- [9] 方彦,谢春平. 海南岛珍稀濒危植物区系研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006(4):138-140.

(上接第 8956 页)

- [8] DONG J E, WAN G W, LIANG G S. Accumulation of salicylic acid induced phenolic compound and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture[J]. *Journal of Biotechnology*, 2010, 148:99-104.
- [9] ANGELES SÁNCHEZ-SAMPEDRO M, FERNÁNDEZ-TÁRRAGO J, CORCHETE P. Yeast extract and methyl jasmonate-induced silymarin production in cell cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn[J]. *Journal of Biotechnology*, 2005, 119:60-65.
- [10] 孙镇,袁丽红,吴频梅. 诱导子对藏红花悬浮培养细胞生产藏红花色素的影响[J]. 生物加工过程,2013,11(3):18-23.
- [11] POPP M P, LESNEY M S, DAVIS J M. Defense Responses Elicited in Plant Cell suspension Cultures[J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1997, 47:199-206.
- [12] 王传贵,余斐,张妹,等. 几种胁迫因素对中国红豆杉细胞培养的影响

- [J]. 华中科技大学学报,2001,29(2):111-113.
- [13] 周倩耘,周建民,刘峻,等. 诱导子对人参毛状根中皂苷含量的影响[J]. 南京军医科学院学报,2003,25(2):76-78.
- [14] WUA J Y, WONG K, HO K P, et al. Enhancement of saponin production in *Panax ginseng* cell culture by osmotic stress and nutrient feeding[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2005, 36(1):133-138.
- [15] LIN L D, WU J Y, HO K P, et al. Ultrasound-induced physiological effect and secondary metabolite(saponin) production in *panax ginseng* cell cultures[J]. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 2001, 27(8):1147-1152.
- [16] VEERESHAM L. Elicitation of *Taxus* sp. Cell cultures for production of taxol[J]. *Biotechnol Lett*, 1995, 17(12):1343-1346.
- [17] 曲均革,虞星炬,张卫,等. 前体饲喂、诱导子和光照联合使用对葡萄细胞培养合成花青素的影响[J]. 生物工程学报,2006,22(2):299-305.
- [18] 孙健玲,张玉琼,朱景存,等. 诱导子对半夏细胞生长和总生物碱积累的影响[J]. 时珍国医国药,2011,22(1):28-30.