

药用植物悬浮细胞培养研究进展

解婷悦 周星伊 赵乃奕 臧艺玫

北京城市学院，北京市海淀区，100094；

摘要：近年来，我国中医药行业快速发展，中药材市场需求持续增长。然而，传统药用植物种植面临技术限制、病虫害和环境制约等问题。植物悬浮细胞培养技术为解决这些问题提供了新途径，同时能有效提高次生代谢产物产量。本文综述了近年来国内外主要药用植物的悬浮细胞培养条件及其次生代谢产物积累的研究进展，为提升药用植物培育水平和保障有效成分产量提供理论参考，对促进药用植物产业可持续发展具有重要意义。

关键词：植物激素；愈伤组织；悬浮细胞；诱导子

DOI：10.69979/3029-2808.25.03.032

前言

高等植物作为自然界重要的生物资源，其代谢产物具有丰富的化学多样性和显著的生物活性。这些次生代谢产物不仅在植物生长发育和防御机制中发挥关键作用，更为人类提供了宝贵的天然原料，它们被广泛应用于医药、农业、食品及日化等领域的开发中。

悬浮细胞培养是一种在无菌环境下将单个细胞或小细胞团培养在液体培养基中的新兴技术。通过优化各种理化因素，可诱导细胞合成特定次生代谢产物，目前，该技术已成功应用于多种药用植物的次生代谢产物生产中，并取得了一定的成果。

1 愈伤组织诱导对悬浮细胞培养的影响

1.1 外植体的选择

外植体的选择是植物悬浮细胞培养成功与否的关键环节之一，外植体的来源、生理特性及基因型等对愈伤组织的诱导和悬浮细胞的生长有直接影响。

通常而言，那些细胞分裂活动旺盛、分化水平较低的幼嫩组织，更易于被诱导形成愈伤组织。其中叶片作为常用外植体，因其诱导愈伤组织能力较强，诱导出愈率高，成为多数学者的首选培养材料。

王丹丹^[1]等选取虎杖的茎尖、幼叶及茎段三个部位作为外植体部位，通过对比发现，茎尖的愈伤组织诱导率相对较低，而幼叶的诱导率则最高，诱导率高达 100%，这一结果不仅验证了幼叶作为高效外植体的地位，也强调了外植体部位选择在提升诱导效率中起到的关键作用。

1.2 不同消毒方法

外植体消毒是植物组织培养的关键步骤，其对愈伤组织的生长和诱导有显著影响。常用消毒剂包括次氯酸钠（NaClO）、乙醇（C₂H₅OH）、过氧化氢（H₂O₂）和升汞（HgCl₂），其浓度和处理时间因植物种类和外植体不同来源而异。

另外，多种消毒剂联用可有效提高消毒效率。如射干幼叶的最佳消毒方法为 70%乙醇处理 30 秒后，用 2%次氯酸钠溶液浸泡 15 分钟，既能有效控制污染，又能减少对外植体的损伤^[2]。

1.3 植物激素的种类和浓度

植物激素在愈伤组织诱导和悬浮细胞培养过程中发挥着关键的调控作用。李玲玲^[3]等经研究证实，NAA 和 6-BA 合用对叶片愈伤组织的诱导具有显著效果。另外，王玉芬^[4]等发现 2, 4-D、NAA 和 6-BA 三种激素联用对黄芩愈伤组织的诱导效果尤为突出，其中低浓度 2, 4-D 有利于黄芩愈伤组织的初始诱导，而 NAA 和 6-BA 的组合则能有效维持愈伤组织的稳定生长。综上所述，多种植物激素的协同作用对愈伤组织生长和有效代谢产物的合成效果具有显著促进

2 不同培养条件对悬浮细胞培养的影响

悬浮细胞培养作为一种重要的生物技术手段，在次生代谢产物生产等领域发挥着重要作用。然而，在悬浮细胞的生长和活性化学物质的积累中常受到多种培养条件的影响，其中氮源碳源、pH 值、温度等理化因素对其的影响尤为明显。

2.1 碳源和氮源

碳源和氮源是悬浮细胞培养中的关键营养物质，对

细胞生长、代谢及次生产物合成具有重要调控作用。氮源的种类和浓度对细胞的生长速率及次生代谢产物产量有着直接影响。蔗糖、葡萄糖和果糖为较为常用的碳源，三者对悬浮细胞的生长和代谢的影响存在差异。

在悬浮培养中蔗糖较为常用，而不同蔗糖浓度对药用植物悬浮细胞培养体系的响应差异显著。李学栋^[5]等发现，益母草悬浮细胞在 3%蔗糖浓度下生物量增长率最大，揭示了碳源浓度与细胞生长的剂量效应关系。

2.2 pH 值

pH 值影响细胞膜通透性、酶活性和代谢途径。不同细胞系对 pH 值的要求不同，通常植物细胞培养的适宜 pH 范围为 5.0-6.0 杜尚广^[6]。pH 值过高或过低都会抑制细胞生长，进而影响次生代谢产物的合成。

2.3 温度

温度是影响酶活性和细胞代谢速率的关键因素之一。在植物细胞悬浮培养体系中，最适培养温度通常为 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 。温度过高和过低都不利于植物细胞的生长，不同植物细胞系的最适培养温度存在明显差异。研究表明，低温处理对某些药用植物的次生代谢产物的合成具有促进作用，特别是在花青素生物合成方面。曾海涛^[7]等的研究进一步证实，在 16°C 低温条件下联合使用茉莉酸甲酯进行诱导，可有效促进黑枸杞悬浮细胞中花青素的积累。

3 不同诱导子对植物悬浮细胞培养的影响

植物悬浮细胞培养中，生物与非生物诱导子通过调控细胞生理代谢，进而对细胞的生长、次生代谢产物的积累以及基因表达产生影响。

3.1 生物诱导子类

生物诱导子主要来源于植物和微生物本身，包括真菌提取物及细菌多糖等，方芳^[8]等应用内生真菌 AL4 和 AL12 诱导茅苍术悬浮细胞培养。结果表明，经 AL4 诱导的悬浮细胞在细胞增殖量及活性成分积累上都有显著增加。邱涵^[9]等通过研究结果表明，在灵芝诱导红豆杉悬浮细胞培养中，最佳诱导子添加浓度为 $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ，最佳添加时间在细胞培养的第 8 天。说明生物类对诱导悬浮细胞培养有积极的促进作用。

非生物诱导子是一类能够模拟植物逆境胁迫并激活特定代谢途径的外源物质，主要包括化学试剂和金属

离子两大类。

SA 是一种重要的内源信号分子，在调控植物生长发育、逆境响应及次生代谢中起关键作用。杨静^[10]等发现 $10\ \text{mg}/\text{L}$ SA 对黄芪细胞的增殖有明显的抑制作用，但却能促进其有效活性成分黄芪多糖的积累，证明 SA 的效应具有浓度依赖性。另外，Rani^[11]等发现 SA 还可促进野葛悬浮细胞中异黄酮类成分的生成，并有效提高其提取物的抗氧化活性。

MeJA 作为植物激素类似物，通过激活茉莉酸信号通路，促进多种药用植物次生代谢产物的积累。如在半夏悬浮西部培养体系中，MeJA 可显著提高生物碱类成分含量^[12]；在雷公藤悬浮细胞培养中，MeJA 不仅能增强细胞的生长活力，还能促进其活性成分雷公藤甲素的生物合成^[13]。

金属离子作为另一类重要的非生物诱导子，其可通过特异性调控机制，实现对植物次生代谢途径的定向调控。葛志强^[14]等发现 Ce^{4+} 在南方红豆杉悬浮细胞早期培养阶段中表现出显著的促增殖效应，而 Ying Chen^[15]等也发现不同浓度的 Ce^{3+} 可分别诱导银杏细胞的生长和类黄酮成分积累。

3.2 诱导子的协同效应

一般来说，单一诱导子的作用效果有限，多种诱导子的协同使用能够有效提升次生代谢产物的合成效率。兰文智^[16]等通过研究发现，在红豆杉的悬浮细胞诱导紫杉醇合成中，水杨酸与真菌诱导子 (F5) 联合处理的效果最优。两者协同作用提高了过氧化酶的活性，使紫杉醇的产量达到对照组的 7.5 倍。这一现象可能与不同信号通路之间的交叉调控机制有关。另外，吴桂荣^[17]等发现，与单一诱导处理相比，联用茉莉酸甲酯、苯丙氨酸和乙酸钠异黄酮的生物合成促进效果更好。在该组合处理下，异黄酮产量达到 $19.32\ \text{mg}/\text{L}$ ，是对照组 3.72 倍。

4 结论

植物悬浮细胞培养技术在次生代谢产物生产和植物科学研究领域展现出显著的应用潜力，提升悬浮细胞培养效率及次生代谢产物产量，通过多学科技术融合提升培养效率。该技术的完善将推动高附加值植物次生代谢产物的可持续生产，具有重要应用前景。

参考文献

- [1]王丹丹. 虎杖的悬浮细胞培养和白藜芦醇含量的变化[D]. 天津科技大学, 2010.
- [2]方绪凤. 道地药材射干的愈伤组织诱导及其分化的研究[D]. 华中科技大学, 2007.
- [3]李玲玲. 激素对银杏叶愈伤组织状态的影响及悬浮培养体系的建立[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2024, 43(04): 349-354.
- [4]王玉芬, 姚东作, 马海会, 等. 正交法优化黄芩愈伤组织诱导条件[J]. 山西农业科学, 2022, 50(10): 1368-1374.
- [5]李学栋, 龚真才, 马勇, 等. 不同培养条件对益母草悬浮培养细胞生长的影响[J]. 西华师范大学学报(自然科学版), 2008, (02): 136-140.
- [6]杜尚广, 盛文涛. 影响植物组织培养生产次生代谢产物的因素[J]. 园艺与种苗, 2018, (11): 30-33+43.
- [7]曾海涛, 仇莹莹, 徐皓, 等. 外源诱导子和温度对黑果枸杞悬浮细胞花青素积累的影响[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2024, 52(01): 79-89.
- [8]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(03): 452-455.
- [9]邱涵, 孟丽媛, 杨婉婷, 等. 灵芝诱导子对南方红豆杉悬浮培养细胞产紫杉醇的影响[J]. 河南农业科学, 2023, 52(10): 52-59.
- [10]杨静. 不同前体对黄芪悬浮培养细胞中黄芪多糖积累的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(27): 9317-9319+9422. DOI: 10. 13989/j. cnki. 0517-6611. 2014. 27. 025.
- [11]Rani D ,Buranasudja V ,Kobtrakul K , et al. Elicitation of *Pueraria candollei* var. *mirifica* suspension cells promises antioxidant potential, implying antiaging activity[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2021, 145(1): 1-13.
- [12]段永波, 鲁放, 崔婷婷, 等. 非生物诱导子茉莉酸甲酯和水杨酸对半夏悬浮细胞中生物碱代谢的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(01): 87-90.
- [13]张强, 宋萍, 朱留刚, 等. 诱导子对雷公藤悬浮细胞中雷公藤甲素积累的影响[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(05): 1149-1158. DOI: 10. 13836/j. jjau. 2021124.
- [14]葛志强, 李景川, 元英进, 等. Ce^{4+} 对悬浮培养南方红豆杉细胞DNA含量和PAL活性的影响[J]. 稀土, 2000, (05): 35-37+49.
- [15]Chen Y ,Luo Y ,Qiu N , et al. Erratum to: Ce^{3+} induces flavonoids accumulation by regulation of pigments, ions, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in suspension cells of *Ginkgo biloba* L. [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2015, 123(2): 297-297.
- [16]兰文智, 余龙江, 吴元喜. 水杨酸对真菌诱导子诱导红豆杉悬浮细胞膜脂过氧化和紫杉醇生物合成的影响[J]. 西北植物学报, 2002, (01): 78-83.
- [17]吴桂容, 曲芬霞, 何彩梅, 等. 诱导子和前体协同添加对悬浮培养的鸡血藤细胞产异黄酮的影响[J]. 广东农业科学, 2016, 43(05): 129-134. DOI: 10. 16768/j. issn. 1004-874X. 2016. 05. 025.
- 作者简介: 解婷悦(2002.11-), 女, 汉族, 河北保定, 本科在读, 研究方向: 药用植物与分子生药。
- 周星伊(2002.12-), 女, 汉族, 北京市, 本科在读, 研究方向: 药用植物与分子生药。
- 赵乃奕(2003.12-) 女, 汉族, 北京市, 本科在读, 研究方向: 药用植物与分子生药。
- 通讯作者: 臧艺玫(1990.08-), 女, 汉族, 河北保定, 硕士研究生; 博士在读; 研究方向: 药用植物与分子生药