

人参属植物的悬浮培养及次生代谢调控的研究进展*

朱宏涛^{1,2}, 李江³, 李元¹, 张颖君², 杨崇仁²

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南 昆明 650201; 2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204; 3. 云南省林业科学院, 云南 昆明 650204)

摘要: 通过对国内外人参属药用植物的悬浮培养及次生代谢调控研究的总结分析, 结果表明: (1) 2, 4-二氯苯氧乙酸 (2, 4-D) 和萘乙酸 (NAA) 对悬浮细胞的诱导有促进作用, 多胺 (PA) 和赤霉素 (GA₃) 是体细胞胚诱导的关键, *Rhizobium rhizogenes* KCTC 2744 质粒能诱导人参愈伤组织产生毛状根; (2) 茉莉酸及其衍生物能激发原人参二醇型皂苷合成酶的信号传导从而促进悬浮培养物中人参皂苷的产生和积累, PA 也促进人参悬浮培养物中皂苷含量的提高; (3) 适度的氧 (O₂)、二氧化碳 (CO₂) 和乙烯能调节培养物相关酶的活性, 对其生长和次生代谢物的积累有促进作用; (4) 一定浓度的铜和有机锗对人参皂苷的积累有促进作用, 充足的氮有利于培养物的增长, 相对较少的碳元素有利于皂苷的积累。依据上述研究结果, 提出了人参属药用植物悬浮培养未来研究方向。

关键词: 人参属植物; 不定根; 悬浮培养; 次生代谢

中图分类号: Q 949.763.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2011) 01-0087-10

Research Advances in Suspension Culture and Secondary Metabolism Regulation of *Panax* spp.

ZHU Hong-tao^{1,2}, LI Jiang³, LI Yuan¹, ZHANG Ying-jun², YANG Chong-ren²

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming Yunnan 650201, P. R. China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650204, P. R. China; 3. Yunnan Academy of Forestry, Kunming Yunnan 650204, P. R. China)

Abstract: The advances of research in suspension culture and secondary metabolism regulation of *Panax* spp. were reviewed, summarized and analyzed. The results were as follows: 1) The induction of suspension cell could be promoted by 2, 4-D and NAA, PA and GA₃ were two crucial substances for body cell embryo induction. The plasmid KCTC 2744 of *Rhizobium rhizogenes* could induce the production of adventitious root. 2) Jasmonic acid and its derivatives could stimulate the signal transduction of the original ginseng glycol type saponins synthase, so as to promote the generation and accumulation of ginsenoside, PA gave the same effect. 3) Moderate O₂, CO₂ and ethane could adjust the enzyme activity of culture, which was good for cell growth and accumulation of secondary metabolites. 4) Cu and organic germanium of appropriate amount promoted the accumulation of ginsenoside, adequate N was benefit for the increase of culture, relative few amount of C was good for the accumulation of ginsenoside. In accordance with the advance review, the authors proposed their viewpoints for future research directions of *Panax* spp. suspension culture.

Key words: *Panax* spp.; adventitious root; suspension culture; secondary metabolism

* 收稿日期: 2010-12-16

基金项目: 云南省林业碳储量测算与碳汇潜力分析 (2007C240M), 云南省技术创新人才培养 (2008PY085) 资助。

第一作者简介: 朱宏涛 (1977-) 女, 云南保山人, 实验师, 博士研究生, 主要从事药用植物资源培育和相关植物生物技术方面的研究。

通讯作者简介: 张颖君 (1968-) 女, 云南昆明人, 研究员, 药学博士, 主要从事药用及食用植物的化学、生物活性和资源方面的研究。

人参属 (*Panax*) 植物分布于北半球的喜马拉雅山至东亚大陆、日本、北美大陆这一区域, 以日本、中国的云南、喜马拉雅山为重点分布区。其药用种包括三七 (*P. notoginseng*)、人参 (*P. ginseng*)、西洋参 (*P. quinquefolium* L.)、三叶人参 (*P. trifolius*)、东喜马拉雅人参 (*P. pseudo-ginseng*)、珠子参 (*P. japonicus*)、狭叶竹节参 (*P. japonicus angustifolium*)、疙瘩三七 (*P. japonicus var. bipinnatifidus*)、姜状三七 (*P. zingiberensis*) 和屏边三七 (*P. stipuleanatus*) 等^[1]。人参属植物富含皂苷类成分, 主要包括达玛烷型和齐墩果烷型三萜皂苷^[2]; 挥发油类成分; 黄酮类成分; 甾醇类成分; 聚炔醇类成分; 多糖类成分; 环二肽成分和人参内酯成分等^[3-6]。某些活性成分对人的心脑血管系统、神经系统、免疫系统、代谢系统等具有生理活性, 在抗炎、抗病毒、抗衰老、抗肿瘤等方面均有预防和治疗作用^[7-9]。人参属植物通常为多年生以块根入药的植物, 因连年栽培, 土传病害严重、土壤营养元素匮乏或不均衡, 造成连作障碍^[10], 最终导致该类药用植物的宜栽面积不断减缩, 严重影响了药材的产量和质量, 加剧了人参属药用植物市场供需的矛盾。为缓解这一矛盾, 实现此类珍贵药材资源的可持续利用, 不少科学家已围绕植物悬浮培养这一生物技术手段对人参属植物开展了一系列相关研究^[1,11]。

植物的悬浮培养是指植物的细胞、组织或微小器官在液体培养基中旋转培养的一种培养方式。包括胚状体、不定根、毛状根和植物细胞的悬浮培养。植物的悬浮培养具有培养物增殖快、个体均匀、便于代谢调控等优点, 此方法已得到科学家的广泛关注。近年, 已有大量关于人参、紫草 (*Lithospermum erythrorhizon*)、黄连 (*Coptis chinensis*)、长春花 (*Catharanthus roseus*)、紫松果菊 (*Echinacea purpurea*)、红豆杉 (*Taxus chinensis*) 等 200 多种中草药悬浮培养及其代谢物检测的文献报道^[12]。其中, 数种药用植物的细胞悬浮培养早在上世纪 60 年代末就已开始工厂化生产应用, 如 1968 年日本科学家采用 13 万升的发酵罐进行人参细胞悬浮培养生产人参皂苷, 1983 又成功使生产紫草素的紫草细胞悬浮培养进入工业化生产, 之后又有黄连、长春花和紫松果菊等药用植物的细胞培养成功实现工业化生产应用^[13]。

基于人参属植物次生代谢物的复杂性和解决该属植物资源可持续利用的迫切性, 近年来针对人参

属植物悬浮培养及其次生代谢产物方面的研究很多, 本研究总结了国内外关于人参属药用植物胚状体、不定根、毛状根及细胞悬浮培养的现状, 从其次生代谢调控等方面探讨了人参属药用植物悬浮培养中存在的问题及未来的发展趋势, 供相关研究者参考, 以推动国内人参属植物悬浮培养的研究与应用。

1 人参属植物的悬浮培养研究

1.1 悬浮细胞的诱导培养

人参属植物的愈伤组织一般通过在 Murashige Skoog (MS) 基本培养基中加入适当的生长素和细胞分裂素在黑暗的条件下进行诱导和培养。三七和珠子参在添加 2, 4-D 和康基氨基嘌呤 (KT) 的 MS 培养基中培养, 其愈伤组织的分化和生长良好^[14-15]; 适量的 2, 4-D 和 NAA 对人参的愈伤组织生长均有促进作用, 其中以 5 mg/L 浓度的 2, 4-D 效果最显著。KT 浓度在 0.25 mg/L 以下对人参愈伤组织生长有促进作用, 以 0.1 mg/L 浓度时生长最快^[16]。西洋参的根在添加有 2.4-D 2.0 mg/L 和 KT 1.0 mg/L 的 MS 培养基中进行愈伤组织的诱导和培养, 诱导率接近 70%, 生长状况良好^[17]。

1.2 体细胞胚的诱导培养

用人工培养的方法诱导营养器官产生胚, 始于 1958 年德国的 Reinert 在固体培养基上由胡萝卜 (*Daucus carota*) 根的愈伤组织培育成胚。人参属植物体细胞胚的研究始于 20 世纪 80 年代末, 研究者已从多种人参属植物的根、叶、花芽或直接从胚的子叶中诱导出完整的体细胞胚。Claire Kevers 等研究了多胺等一系列植物生长调节剂对人参体细胞胚诱导的影响, 结果表明 1/2MS 培养基中加入腐胺 (BSAA) 和 2, 4-D-硒 (2, 4-D-Se) 对人参体细胞胚的诱导有促进作用, 并认为 PA 和亚精胺 (SPD) 对胚状体的胚根和胚芽生长有促进作用^[18-19]。研究表明, GA₃ 和 NAA 类生长素对三七体细胞胚的诱导起着关键的作用^[20]。

1.3 不定根和毛状根的诱导培养

20 世纪 90 年代初, 甘烦远等把在含苜蓿基氨基嘌呤 (BA) 培养基上分化的三七芽转移至含吲哚丁酸 (IBA) 的培养基中培养, 有不定根的分化, 但生长速率及根的分化率较低且不定根少有分枝^[21]。高先富等认为 KT 对三七不定根的形成没有

影响, 2, 4-D 对不定根的诱导具有阻遏作用, IBA 是最适于从三七须根外植体直接诱导不定根的植物激素。在低浓度 IBA 的 MS 培养基中, 以再生苗的带根茎段外植体诱导不定根效果最佳, 其次是侧根、茎段、叶柄和花蕾, 且其诱导率依次降低^[22]。对人参不定根的诱导培养技术已趋于成熟, 其中应用最广泛的方法是将多年生人参的鲜根洗净、消毒切割后在含有 2, 4-D、KT 和蔗糖的 MS 固体培养基中进行愈伤组织诱导。之后, 将诱导出的愈伤组织移至添加了不同浓度的 IBA 和蔗糖的 MS 固体培养基中诱导和增殖不定根^[23-24]。随着转基因技术的不断完善, 也可以通过将发根脓杆菌的质粒转入到人参属植物中形成毛状根, 这种类型的根能在不含植物激素的培养基中迅速生长。有研究表明, 转入 *Rhizobium rhizogenes* KCTC 2744 质粒的人参毛状根在通入空气的条件下生长迅速^[25]。

2 人参属植物的次生代谢调控研究

2.1 植物生长调节剂对人参属植物生长和次生代谢的影响

2.1.1 茉莉酸类物质

茉莉酸及其衍生物是一类应用广泛的植物生长抑制剂。在人参、三七、珠子参和西洋参的细胞及不定根悬浮培养中添加茉莉酸, 在很大程度上抑制了生物量的增长^[26]。在人参不定根的悬浮培养中添加浓度为 10 mg/L 的茉莉酸时, 不定根的生长速率约为空白对照的 25%^[27]。这可能是因为添加茉莉酸促进了不定根中人参皂苷的合成, 致使不定根吸收和同化的物质主要以次生代谢产物的形式累积而不是促进快速生长, 最终导致其生物量的生长受限^[27]。然而, 当茉莉酸甲酯与 IBA 结合使用则能提高人参不定根的生物量^[28]。

茉莉酸已被证实是一种提高细胞次生代谢产物生成的有效激发子^[29-30]。Kee-Won Yu 等研究表明在悬浮培养的不定根中加入茉莉酸能使不定根中总皂苷含量显著增加, 当茉莉酸浓度提高到 10 mg/L 时不定根中的皂苷含量是对照的 5.2 倍, 其总皂苷中以 Rb 组原人参二醇皂苷为主^[27]。茉莉酸类植物生长调节剂对人参、三七和珠子参的悬浮细胞和人参悬浮毛状根培养中皂苷类成分的累积也有很强的促进作用^[27,31-33]。此外, 茉莉酸类衍生物还具有促进人参属植物酚类物质累积的作用^[34]。

茉莉酸及其衍生物与一些信号传导途径有关,

这些信号能激发特定的酶来催化生物化学反应形成诸如多酚、生物碱类、醌类及氨基化合物等小分子防御化合物^[29]。人参皂苷属于三萜类皂苷, 是乙酰辅酶 A 通过十多次代谢生成, 人参中的原人参三醇和原人参二醇皂苷都是有达玛烷骨架羟基化形成^[35]。茉莉酸之所以能提高不定根中的人参皂苷特别是原人参二醇型皂苷, 究其原因, 可能是茉莉酸能促进激发原人参二醇型皂苷合成酶的信号传导^[27]。

2.1.2 生长素和多胺对人参属植物悬浮培养的影响

Yun-Soo Kim, C. S. Jeong. 等指出生长素 IBA 在人参不定根的诱导和培养过程中都具有促进作用, IBA 能有效诱导人参侧根的形成和生长。在加有 IBA 的 MS 培养基中, 人参不定根体形细长且分支较多。与之相比较, 在加有 NAA 的 MS 培养基中, 人参不定根则粗短, 分支较少且褐变。同时, IBA 在促进人参总皂苷积累方面的作用远大于 NAA^[36-37], 类似的研究结果在人参毛状根的悬浮培养中得到证实^[38]。一定浓度的 2, 4-D 对人参属植物悬浮细胞及不定根的诱导培养有促进作用, 对人参总皂苷含量有负增长的作用。然而, 2, 4-D 具有改变人参皂苷异质性的作用, 在加有 2, 4-D 的 MS 培养基中培养的人参细胞中人参皂苷 Rb/Rg 的比值平稳增加, 但在无 2, 4-D 的培养基中则无此现象的发生^[39]。研究者对不同浓度的 BSAA 和 SPD 对人参毛状根的生长和人参皂苷含量影响的研究表明, 在 MS 基本培养基中添加 0.1 mmol 的 SPD 对人参毛状根的生长具有很强的促进作用, 0.1 mmol 的 BSAA 能促进人参皂苷的累积, 高浓度的 PA 对人参毛状根的生长及其次生代谢物的累积都有抑制作用^[38]。

2.2 通气条件对人参属植物生长和次生代谢的影响

气体的组成影响植物细胞和组织的生长生理, 特别是 O₂、CO₂ 和乙烯对植物的生长速度和次生代谢产物的影响更大。改善三七悬浮细胞培养的装置, 增加发酵罐内的通气量, 不仅能提高悬浮细胞的生物量, 而且能增加细胞中总皂苷的含量^[40]。

2.2.1 O₂ 对人参悬浮培养的影响

Cheol-Seung Jeong, Mohammad Babar Ali. 等将人参不定根置于 5 L 的生物反应器中, 在含有 26.4 μmol/L IBA, 50 mg/L 蔗糖的改良 MS 液体培养基内于 22 ± 1℃ 条件下通气培养, 以改变输入反应器里的空气组成种类和气体体积比例。研究结果表明, 30% ~ 40% 的通氧浓度在培养 20 天后对人参不定根的生长与对照相比具有明显的促进作用

用^[23-24], 在人参细胞的悬浮培养研究中也取得了同样的效果^[41]。这是因为增加通入气体中氧的浓度能够增加培养液中的液态氧浓度, 从而增加细胞中的 ATP 能量, 直接影响细胞的代谢和形态表现。一定范围内相对较高的溶解氧能够改善器官对蔗糖的吸收, 并促进氯、钾、镁和磷等多种金属或非金属离子在器官中的循环速度, 从而促进人参悬浮组织和器官生物量的生长^[42-46]。

O₂ 对人参皂苷和多糖含量存在很大的影响。当通入含 O₂ 量为 40 % 的空气时, 人参悬浮不定根中总皂苷含量高达 5.42 mg/g (干重); 当通 O₂ 量减小时, 人参皂苷的含量也随之降低, 这是由于通 O₂ 量的加大, 促进了不定根对培养液中营养物质的吸收利用, 从而加快了培养液中营养物质的消耗使人参不定根中的各细胞尽快处于饥饿状态, 当其处于饥饿时更容易激发皂苷合成酶的活性, 最终加速人参皂苷的合成^[47-49]。此外, 在相同的通 O₂ 条件下, 人参不定根总多糖的含量也在培养 30 天后达到了最大值, 这也说明 O₂ 是人参多糖产出的主要限制因子^[50]。

2.2.2 CO₂ 和乙烯与悬浮培养的关系

CO₂ 小于 2.5 % 时, 人参不定根和悬浮细胞等培养物的生长速度与 CO₂ 浓度成正相关关系, 但随着浓度的增高, 其生长速度则不断降低。这可能是由于一定范围内的 CO₂ 能够激活底物中磷酸羧化酶的水平, 促进植物碳代谢过程中的暗反应而促进植物生长; 当浓度过大时却延缓和抑制铵根离子、钾离子和钙离子的吸收, 细胞内一旦缺乏此类离子将会降低有机物的合成甚至产生细胞毒害从而影响不定根和悬浮细胞的生长^[50-51]。通入 10 mg/L 和 20 mg/L 的乙烯则对人参不定根的生长具有很强的促进作用, 但随着通入量的增大对生物量的生长没有明显变化。据悉, 此现象的产生是由于悬浮培养基中的蔗糖很容易在植物细胞分泌的胞外酶作用下降解成果糖和葡萄糖, 在正常情况下植物体对蔗糖的吸收和转化速度远快于果糖和葡萄糖, 提高乙烯的通入量则能促进植物体对两种单糖的吸收和转化, 最终促进不定根的生长^[52]。

培养液中通入高浓度 CO₂ (2.5 ~ 5 mg/L) 和乙烯 (10 ~ 20 mg/L) 对人参不定根中人参皂苷和多糖含量的产生都有限制作用^[23]。CO₂ 在植物的光合作用过程中是至关重要的, 然而植物光和暗反应的控制机能又被其浓度所调节, 因此, CO₂ 的浓度将直接影响植物细胞的生长和间接影响植物次生

代谢物产生^[53]。目前, 很多研究结果认为, 提高 CO₂ 浓度对多种植物细胞中次生代谢产物的产生有促进作用, 但也有相反的实验结果。S. Y. Huang 等则得到相反的研究结果, 他们认为, 提高培养液中的 CO₂ 浓度改变了培养液中的 pH 值, 导致人参不定根中人参皂苷合成速度缓慢^[23,54]。

2.3 重金属元素对人参属植物生长和次生代谢的影响

2.3.1 铜元素

铜是微生物生长繁殖过程中一种特殊的微量营养, 是多种生物酶的辅助因子, 在电子传送、氧化还原反应和多种代谢途径中起着重要的作用^[56]。铜对植物体生长代谢的影响取决于植物体接触铜溶液的浓度及接触时间。铜在人参不定根中的富集量取决于培养液中的浓度和培养时间, 不定根中铜含量的多少直接影响生长状况。人参不定根在低于 25 μmol 铜浓度的培养液中培养时, 铜对其生物量的生长没有明显影响。这是由于植物在长期的进化过程中, 已经具备了从土壤中吸收部分微量金属营养的能力, 并且对一定范围内的重金属毒害具有耐受能力^[55]。

在 50 μmol 铜浓度的培养液中培养的人参不定根, 培养 20 天和 40 天时, 其体内的铜含量分别为 473.6 μg/g 和 577.8 μg/g 干重, 而不定根的生长则受到 52 % 和 89 % 抑制^[55]。研究者认为, 这种现象的产生是由于不定根中高浓度重金属铜离子的存在能够增加不定根氧化损伤的程度, 诱导更多的自由氧和过氧化氢, 这些物质的存在严重地损害了细胞的生长并加速细胞的凋亡最终导致不定根生长的抑制和停止^[56-58]。

5 ~ 25 μmol 浓度的铜在人参不定根培养的 20 天和 40 天对人参皂苷含量有促进作用, 其中对 Rg 组原人参三醇型皂苷作用尤为明显。尽管人参不定根中高浓度的铜激发超氧化物歧化酶的活性, 同时却能产生更多的自由氧和过氧化氢对细胞的组成和脂质过氧化进行伤害^[57]。但植物在受到伤害后会调动全身的应急防御机制, 使自身的受伤害程度降到最低, 而且皂苷在植物防御中扮演着重要的角色^[59]。液体悬浮培养中的人参属植物器官或组织为了减轻高含量铜对其产生的伤害, 因而激发了皂苷合成酶的诱导子, 催化皂苷的生物合成最终导致不定根中人参皂苷含量的增加^[24]。

2.3.2 有机锗

有机锗是植物体内另外一种含量甚微的金属营

养元素，其在有机体中主要有增强免疫、清除自由基和清除体内重金属等作用^[60]。在人参不定根悬浮培养基中加入不同浓度的有机锗，结果对人参不定根形态特征无影响但对其生长和人参皂苷的含量都有很大的影响。研究表明，人参不定根在含有60 mg/L有机锗的培养基中培养时，其生物量和人参皂苷含量分别是对照的数倍之高，这可能与有机锗在生物体内的生物活性作用密切相关^[61]。

2.4 营养元素对人参属植物生长和次生代谢的影响

2.4.1 氮元素对三七悬浮细胞的生长及人参皂苷和多糖累积的效应

植物培养液中的氮元素通常以硝酸盐和铵的形式存在，其中硝酸盐与铵的比例通过影响三七悬浮细胞对培养液中碳氮化合物的吸收，从而对细胞的生物量及代谢物产生重要影响。硝酸盐不利于三七多糖的生物合成更不利于人参皂苷的形成。铵则有利于二者在三七细胞悬浮培养中产生，当培养液中铵的浓度在60 mmol内，三七悬浮细胞的生物量、多糖含量和人参皂苷含量与铵的浓度存在正相关关系^[62]。

2.4.2 液体培养基中营养元素的消耗和补偿与悬浮物的生长及代谢的关系

Cheol-Seung Jeong, Wang H. O., Srinivsan V. 等报道，对液体悬浮培养中的人参不定根进行培养液的更换或补充，能将不定根的生物量大约提高到对照的两倍，用此方法对人参细胞悬浮培养或对其他植物材料如紫草、紫果果菊和红豆杉等进行处理得到的结果相似^[63-66]等的实验证实，人参不定根的液体悬浮培养过程中随着培养时间的延长，培养液中的营养成分和金属、非金属离子发生了很大的变化。蔗糖在培养的前20天迅速降解成葡萄糖和果糖，而此两种糖不利于植物体的直接吸收和利用。其次，培养液中的钙离子、镁离子和硫酸根离子持续降低；钾离子、铵根离子和磷酸根离子急剧降低，分别在培养的20天、30天和40天消失。此类大量和微量营养含量的降低和消失使人参不定根培养在20天左右即处于营养饥饿状态，因此，此时给予及时的营养补充能很大程度地促进人参不定根的生长及人参皂苷的累积^[63]。

2.5 其他因素对人参属药用植物生长和次生代谢的影响

2.5.1 培养容器和接种浓度与人参皂苷产生和累积的关系

为了寻找更为有效的人参不定根大规模生产方法，能在短时间内获取大量优质的人参原药材，

Tomáš Vaněk, L. LANGHANSOVÁ, C. S. Jeong, Zhan-Ying Zhang 等采取诸如自制临时浸泡装置、标准生物发酵罐和锥形瓶等生物反应器对人参不定根进行发酵培养。结果发现，在自制临时浸泡装置中人参不定根的皂苷种类与栽培人参相似，但在该条件下人参不定根的生物量和总皂苷含量较低，不宜采用此种方法进行扩大培养。综合考虑不定根的生长率、皂苷种类和总皂苷含量等因素，在标准的临时浸泡生物反应器（RITA-TIS）中对人参不定根扩大培养，是目前规模化生产人参原药材的最佳方法，因为该方法能在生物量快速增长的同时，保持着人参不定根中原人参二醇和原人参三醇中的多种人参皂苷的高含量^[67-68]。此外，接种量的多少也影响着人参悬浮物的生长和皂苷的产生与累积，接种量与培养液的比例在5 g/L时，悬浮培养中人参不定根的生长和皂苷的产生增长稳定^[69]；在三七的悬浮培养中，提高细胞的接种量也是提高三七皂苷含量的有效手段^[70]。

2.5.2 光照和温度对人参皂苷参数的影响

在植物生长代谢过程中，物理因素与化学因素一样起着同等重要的作用，温度和光照对悬浮培养中植物的生长和次生代谢物的产生至关重要^[71-72]。昼夜温度为20℃和13℃时有利于人参不定根生物量的生长，其生长速率为46.8%，而最有利于人参皂苷积累的温度则是白天和夜晚都保持在25℃，过高或过低的温度都会降低其生长速度和人参皂苷的累积速度^[73]。

光质差异不同程度地影响着植物的生长发育和代谢，也同样影响着人参不定根生长。研究表明，荧光、金属光、蓝光和红蓝光与黑暗相比都不同程度地限制人参不定根的生长，红光的效果则与之相反；金属光、蓝光、红蓝光和红光降低人参不定根中人参皂苷的含量，荧光则有促进的效果，这是植物对相应不同光质的光激发出不同的信号转导途径。例如蓝光促进草莓（*Fragaria ananassa*）细胞中花青素的合成而红光则不起作用，白光对其生长的促进作用远比蓝光强^[74]。基于此研究结果，研究者认为人参悬浮培养可分为两个步骤，即前期采用黑暗培养以增加其生物量，后期采用荧光照射培养以提高其人参皂苷的含量^[73]。

3 人参属植物的悬浮培养未来的研究方向

3.1 扩大人参属多种植物的悬浮培养研究

目前，人参属药用植物的悬浮培养及药效成分

含量影响因子的系统研究主要集中于人参,关于三七、珠子参和西洋参的研究很少且不系统和深入。人参以外的同属药用植物不定根悬浮培养的研究较少,关于其不定根培养条件的优化和有效成分产生积累调控的研究未见报道。由于植物在不断繁衍和进化过程中形成其特定的生理机能和代谢机制,同属植物但不同种间仍存在较大的差异,有必要对该属内其他有较高培育价值的药用植物进行深入系统的研究,以充分发挥悬浮培养在药用植物资源培育中的作用。

3.2 提高培养物中生物活性成分(人参皂苷)含量的研究

悬浮培养中提高有效成分含量的措施很多,如:优化悬浮培养的容器,在培养过程中及时补给其生长所需要的碳、氮及各种金属和非金属营养,调整悬浮培养中通入培养液的气体组成,采用不同光质和波长的光对不定根进行照射,在培养液中加入茉莉酸及其衍生物和采用铜、有机锗等金属元素诱导研究手段,但每种方法都各有利弊。有的虽然能提高生物量,但有效成分含量会降低;有的虽能提高人参皂苷的含量,可又会抑制生物量的生长。基于单项因子的调整,未考虑因子间的交互作用,缺乏系统性。因此,有必要采用正交试验和相关性分析等试验方法开展系统的优化培养研究,综合评价各种培养因子在悬浮培养中的作用,找出相对优化的组合措施,以最大限度地提高产量。这可能是全面提高人参属药用植物悬浮培养技术的关键所在。

3.3 采用生物转化技术手段提高悬浮培养物中某些单体化合物含量的研究

人参和三七中的达玛烷型皂苷中主要包括原人参二醇型的三七皂苷 R1、人参皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc 和 Rd,原人参三醇型的人参皂苷 Re、Rg1、Rg2、三七皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc。人体摄入此类化合物后,经肠道微生物和蜗牛酶的生物转化作用生成抗肿瘤活性极强的另一类具取代基的达玛烷型皂苷^[75-77]。有研究报道,采用人参栽培根周围土壤中的镰刀菌属(*Fusarium*)真菌对三七液提取物进行生物转化能够获得上述抗癌活性强的化合物,人体直接摄入此类药物能减少或避免病人肠道菌群失调而导致的疗效减弱^[78]。人参和三七不定根中普遍存在着达玛烷型皂苷,如果直接对此类皂苷进行生物转化的微生物与不定根、毛状根或悬浮细胞共同培养或者将此类微生物的功能基因克

隆到该类培养物中,将有可能开展专用化合物不定根或其他组织、细胞的产业化生产,最终促进我国医药行业的发展。

3.4 进一步开展提高悬浮培养物安全性的研究

人参属药用植物不定根和悬浮细胞的诱导和培养都离不开植物生长调节剂。为了提高培养物的生物量和有效成分含量,研究者和生产者通常采用添加诸如茉莉酸及其衍生物、NAA、IBA 和 2,4-D 等植物生长调节物质或铜、锗等重金属元素来达到生产的目的。但如果培养物长期在含有此类物质的培养基中培养,其体内必然保持较高含量的植物生长调节剂或重金属元素,这些物质一旦被人体过度吸收,将对人类的健康产生严重影响,如植物 2,4-D 会引起人类基因突变,造成畸胎;铜和锗会影响人类的骨骼发育。为提高悬浮培养物的安全性,有必要对悬浮培养后期(收获期)悬浮细胞或不定根中激素残留或重金属残留进行严格控制,以保证悬浮培养产品安全可靠。

3.5 工厂化悬浮培养技术的推广应用研究

目前,人参属药用植物工厂化生产的种类仅限于人参悬浮细胞的工业化生产,由于人参属药用植物中间存在着主要成分的差异(如人参和三七的皂苷成分主要是达玛烷型四环三萜类皂苷,同属的珠子参则以齐墩果烷型五环三萜类皂苷为主),为得到大量不同类型的具有生物活性的次生代谢产物,有必要将人参的工厂化悬浮培养技术在其他药用植物中推广。此外,细胞生长和代谢的不稳定性常导致工业化生产中次生代谢物产生的不稳定,严重影响工业化生产效率和产品质量。不定根是与胚根最为接近的器官,其在生理和功能上都与胚根相似,在生物合成和代谢等方面较为稳定^[79-81]。如果将不定根悬浮培养推广到工厂化生产,这将有可能在很大程度上解决由于细胞代谢的不稳定带来的障碍。采用培养基的循环装置实现各种营养元素的重复利用,将能大大降低悬浮培养的成本。此外,在液体培养基的循环装置中加入能够吸附某些代谢物质的填料,根据水分代谢化学势差的原理将有可能提高某些代谢物质的代谢速率,从而获得更多的人参属药用植物活性成分,最终实现该类植物资源的可持续利用。

参考文献:

[1] 杨崇仁,周俊,田中治. 人参属植物的化学分类

和资源利用[J]. 云南植物研究, 1988(增刊1):47-62.

[2] Wang, C. Z., McEntee, E., Wicks, S. Phytochemical and analytical studies of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen[J]. J. Nat. Med., 2006, 60:97.

[3] 张颖. 关于竹节三七中皂苷成分的分析[J]. 国外医学, 中医中药分册, 1997, 19(1):46-46.

[4] 窦德强, 勒玲, 陈英杰. 人参的化学成分及药理活性的研究进展与展望[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 16(2):151-156.

[5] 包建才, 刘刚, 丛登立, 等. 三七的化学成分研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(2):246-252.

[6] 左锐, 袁丁. 竹节参化学成分和药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9):838-841.

[7] Chan P., Thomas G. N., Tomlinson B. Protective effects of trillinolein extracted from *Panax notoginseng* against cardiovascular disease [J]. Acta Pharmacol Sin., 2002, 23:1157.

[8] Yoshikawa M., Morikawa, T., Yashiro, K., et al. Bioactive saponins and glycosides. XIX. *Notoginseng* (3): immunological adjuvant activity of notoginsenosides and related saponins: structures of notoginsenosides - L, - M and - N from the root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen[J]. Chem. Pharm. Bull., 2001, 49:1452.

[9] Lee J. Y., Shin J. W., Chun K. S., et al. Antitumor promotional effects of a novel intestinal bacterial metabolite (IH-901) derived from the protopanaxadiol-type ginsenosides in mouse skin[J]. J. Carcinogenesis., 2005, 26:359.

[10] 简在友, 王文全, 孟丽, 等. 人参属药用植物连作障碍研究进展[J]. 中国现代中药, 2008, 10(6):3-5.

[11] 赵仁, 赵毅, 李东明, 等. 珠子参研究进展[J]. 中国现代中药, 2008, 20(7):3-6.

[12] 陈文源, 李一婷. 药用植物细胞悬浮培养与新药研发进展[J]. 亚热带植物科学, 2009, 38(4):85-88.

[13] 李冬杰, 魏景芳, 刘淑清, 等. 药用植物细胞悬浮培养研究进展[J]. 河北林业科技, 2003(4):22-23.

[14] 郑光植, 王世林. 三七愈伤组织的培养[J]. 云南植物研究, 1989, 11(3):256-262.

[15] 周立刚, 贺震旦, 王君键, 等. 珠子参愈伤组织培养与花色甙的形成[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1):34-36.

[16] 陆文梁, 夏小娣. 人参组织与细胞培养研究的进展[J]. 植物学通报, 1991, 8(1):14-21.

[17] 闫静辉, 张小兵, 李亚璞, 等. 西洋参悬浮细胞系的建立及其生长特性的研究[J]. 河北省科学院学报, 2005, 22(4):23-26, 36.

[18] Claire Kevers, Thomas Gaspar & Jacques Dommes. The beneficial role of different auxins and polyamines at successive stages of somatic embryo formation and development of *Pa-*

nax ginseng in vitro[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 70:181-188.

[19] Claire Kevers, Nathalie Le Gal, Marta Monteiro, et al. Somatic embryogenesis of *Panax ginseng* in liquid cultures: a role for polyamines and their metabolic pathways [J]. Plant growth regulation, 2000, 31:209-214.

[20] Y. shoyama. X. X. Zhu, et al. Micropropagation of *Panax notoginseng* by somatic embryogenesis and RAPD analysis of regenerated plantlets[J]. Plant Cell Reports, 1997, 16:450-453.

[21] 甘烦远, 周立刚, 郑光植, 等. 三七愈伤组织分化的研究[J]. 云南植物研究, 1993, 15(1):61-65.

[22] 高先富, 徐朝晖, 刘佳健, 等. 三七不定根的离体诱导与培养[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18):1485-1487.

[23] Cheol-Seung Jeong, Debasis Chakrabarty, Eun-Joo Hahn, et al. Effects of oxygen, carbon dioxide and ethylene on growth and bioactive compound production in bioreactor culture of ginseng adventitious roots[J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 27:252-263.

[24] Mohammad Babar Ali, Nguyen trung Thanh, Kee-won Yu, et al. Induction in the antioxidative systems and lipid peroxidation in suspension culture roots of *Panax ginseng* induced by oxygen in bioreactors[J]. Plant Science, 2005, 169:833-841.

[25] Gwi-Taek Jeong, Don-Hee Park. Comparative evaluation of modified bioreactors for enhancement of growth and secondary metabolite biosynthesis using *Panax ginseng* hairy root [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2005, 10:528-534.

[26] M. B. LU, H. L. Wong, W. L. Teng. Effects of elicitation on the production of saponin in cell culture of *Panax ginseng* [J]. Plant Cell Report, 2001, 20:674-677.

[27] Kee-Won Yu, Wenyuan Gao, Eun-Joo Hahn, et al. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. Biochemical Engineering Journal, 2002, 11:211-215.

[28] Yun-Soo Kim, Eun-Joo Hahn, Hosakatte Niranjana Murthy, et al. Adventitious root growth and ginsenoside accumulation in *Panax ginseng* cultures as affected by methyl jasmonate [J]. Biotechnology Letters, 2004, 26:1619-1622.

[29] H. Gundlach, M. Miller, T. M. Kutchan, et al. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1992, 89:2389-2393.

[30] R. E. B. Ketchum, D. M. Gibson, R. B. Croteau, et al. The kinetics of taxoid accumulation in cell suspension cultures of *Taxus* following elicitation with methyl jasmonate [J]. Biotechnol. Bioeng., 1999, 62:97-105.

- [31] KEE-Won Yu, WEN-Yuan Gao, SUNG-Ho Son, *et al.* Improvement of ginsenoside production by jasmonic acid and some other elicitors in hairy root culture of *ginseng* (*Panax ginseng* C. A. Meyer) [J]. Society for in Vitro Biology, 2000, 36: 424-428.
- [32] N. T. Thanh, H. N. Murthy, K. W. Yu, E. J. Hahn, *et al.* Methyl jasmonate elicitation enhanced synthesis of ginsenoside by cell suspension cultures of *Panax ginseng* in 5-1 balloon type bubble bioreactors [J]. Biotechnological products and process engineering, 2005, 67: 197-201.
- [33] Feng-Xian Hu, Jian-Jiang Zhong. Role of Jasmonic Acid in Alteration of Ginsenoside Heterogeneity in Elicited Cell Cultures of *Panax notoginseng* [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2007, 104(6): 513-516.
- [34] Mohammad Babar Ali, Eun-Joo Hahn, Kee-Yoep Paek. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures [J]. Molecules, 2007, 12: 607-621.
- [35] T. Kushiro, Y. Ohno, M. Shibuya, Y. Ebizuka. In vitro conversion of 2,3-Oxid- α -squalene into dammarendiol by *Panax ginseng* microsomes [J]. Biol. Pharm. Bull., 1997, 20: 292-294.
- [36] Yun-Soo Kim, Eun-Joo Hahn, Edward C. Yeung, *et al.* Lateral root development and saponin accumulation as affected by IBM or NAA in adventitious root cultures of *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. In Vitro Cell. Dev. Biol., 2003, 39: 245-249.
- [37] C. S. Jeong, H. N. Murthy, E. J. Hahn, *et al.* Inoculum size and auxin concentration influence the growth of adventitious roots and accumulation of ginsenosides in suspension cultures of *ginseng* (*Panax ginseng* C. A. Meyer) [J]. Acta Physiol. Plant, 2009, 31: 219-222.
- [38] Sung Jin Hwang, Kwang, Soo Kim, Byoung Sik Pyo. Saponin Production by Hairy Root Cultures of *Panax ginseng* C. A. Meyer: Influence of PGR and Polyamines Biotechnol [J]. Bioprocess Eng., 1999, 4: 309-312.
- [39] Mercedes Bonfill, Rosa M. Cusid' o, Javier Palaz', *et al.* Influence of auxins on organogenesis and ginsenoside production in *Panax ginseng* calluses [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 68: 73-78.
- [40] Wei-Wei HU, Jian-Jiang ZHONG. Effect of Bottom Clearance on Performance of Airlift Bioreactor in High-Density Culture of *Panax notoginseng* Cells [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2001, 92(4): 389-392.
- [41] Nguyen Trung Thanh, Hosakatte Niranjan Murthya, Kee-Won Yu, *et al.* Effect of oxygen supply on cell growth and saponin production in bioreactor cultures of *Panax ginseng* [J]. Journal of Plant Physiology, 2006, 163: 1337-1341.
- [42] R. R. Leathers, M. A. L. Smith, A. J. Christie, *et al.* Automation of the bioreactor process for mass propagation and secondary metabolism, in: J. A. Christie, T. Kozai, M. L. Smith (Eds.), Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture [M]. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, 1995: 123-145.
- [43] L. Sajc, D. Grunisc, G. V. Novakovic. Bioreactors for plant engineering: an outlook for further research [J]. J. Biochem. Eng., 2000, 4: 88-89.
- [44] S. Amino, M. Tazawa. Uptake and utilization of agars in cultured rice cell [J]. Plant Physiol., 1998, 29: 483-487.
- [45] M. L. Lian, D. Chakrabarty, K. Y. Paed. Growth and uptake of sucrose and metal ions by bulblets of *Lilium oriental* Hybrid Casablanca during bioreactor culture [J]. J. Hort. Sci. Biotechnol., 2002, 77: 253-257.
- [46] P. Morard, C. Fulcheri, M. Henry. Kinetics of mineral nutrient uptake by *Saponaria officinalis* L. suspension cell cultures in different media [J]. Plant Cell Report, 1998, 18: 260-265.
- [47] J. Han, J. J. Zhong. Effects of oxygen partial pressure on cell growth and ginsenoside and polysaccharide production in high density cell cultures of *P. notoginseng* [J]. Enzyme Microb. Technol., 2003, 32: 498-503.
- [48] Y. H. Zhang, J. J. Zhong. Hyperproduction of ginseng saponin and polysaccharide by high density cultivation of *Panax notoginseng* cells [J]. Enzyme Microb. Technol., 1997, 21: 59-63.
- [49] W. Wang, J. J. Zhong. Manipulation of ginsenoside heterogeneity in cell culture of *P. notoginseng* by addition of jasmonates [J]. J. Biosci. Bioeng., 2002, 93: 48-53.
- [50] N. Mirjalili, J. C. Linden. Gas phase composition effects on suspension cultures of *Taxus cuspidate* [J]. Biotechnol. Bioeng., 1995, 48: 173-187.
- [51] N. T. Thanh, H. N. Murthy, D. M. Pandey, *et al.* Effect of carbon dioxide on cell growth and saponin production in suspension cultures of *Panax ginseng* [J]. Biologia. plantarum, 2006, 50(4): 752-754.
- [52] K. L. Songstad, J. Giles, D. Park, *et al.* Effect of ethylene on sanguinarine production from *Papaver somniferum* cell cultures [J]. Plant Cell Report, 1989, 8: 463.
- [53] J. E. Schlatmann, P. R. H. Moreno, J. L. Vinke, *et al.* Effect of oxygen and nutrient limitation on ajmalicine production and related enzyme activities in high density cultures of *Catharanthus roseus* [J]. Biotechnol. Bioeng., 1994, 44: 461-468.
- [54] S. Y. Huang, C. J. Chou. Effect of gaseous composition on cell growth and secondary metabolite production in suspension culture of *Stizolobium hassjoo* cells [J]. Bioprocess. Eng., 2000, 23: 585-593.

- [55] Mohammad Babar Ali, Eun - Joo Hahn, Kee - Yoeup Paed. Copper - induced changes in the growth, oxidative metabolism, and saponin production in suspension culture roots of *Panax ginseng* in bioreactors [J]. Plant Cell Report, 2006, 25: 1122-1132.
- [56] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. Trends. Plant Sci., 2002, 9: 405-410.
- [57] Montillet JL, Cacas JL, Garnier L, et al. The upstream ocyliplin profile of *Arabidopsis thaliana*: a tool to scan for oxidative stresses [J]. Plant, 2004, 40: 439-451.
- [58] Konno H, Nakato T, Akashima S, et al. *Lygodium japonicum* fern accumulates copper in the cell wall pectin [J]. Exp. Bo., 2005, 56: 1923-1931.
- [59] Kim J. H., Kim S., Yoon I. S., et al. Protective effects of ginseng saponins on 3 - nitropropionic acid-induced striatal degeneration in rats [J]. Neuropharmacology, 2005, 48: 743-756.
- [60] Kwon TO, Namkoong SB, Park BW. Effect of germanium treatment in culture medium on germanium absorption by callus induced from brown rice [J]. Kor. J. Crop. Sci., 1996, 41: 729-735.
- [61] Yu K. W., H. N. Murthy, Jeong C. S., et al. Organic germanium stimulates the growth of ginseng adventitious roots and ginsenoside production [J]. Process Biochemistry, 2005, 40: 2959-2961.
- [62] Yi - Heng Zhang, Jian - Jiang Zhong and Jun - Tang Yu. Effect of Nitrogen Source on Cell Growth and Production of Ginseng Saponin and Polysaccharide in Suspension Cultures of *Panax notoginseng* [J]. Biotechnol., 1996, 12: 567-571.
- [63] Cheol - Seung Jeong, Hosakatte Niranjana Murthy, Eun - Joo Hahn, et al. Improved production of ginsenosides in suspension cultures of *ginseng* by medium replenishment strategy [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 105(3): 288-291.
- [64] Wang H. Q., Yu J. T., Zhong J. J. Significant improvement of taxane production suspension cultures of *Taxus chinensis* by sucrose feeding strategy [J]. Process Biochemn, 1999, 35: 479-483.
- [65] Srinivsan V., Ryu D. D. Improvement of shikomin productivity in *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures by atering carbon and nitrogen feeding strategy [J]. Biotechnol. Bioeng., 1993, 42: 793-799.
- [66] Wu C. H., Murthy H. N., Hahn E. J., et al. Improved production of caffeic acid derivatives in suspension cultures of *Echinacea purpurea* by medium replenishment strategy [J]. Arch Pharm. Rec., 2007, 30: 945-949.
- [67] Tomáš Vaněk, Lenka Langhansově, Petr Mrš ík. Cultivation of root cultures of *Panax ginseng* in different bioreactors and in temporary immersion - Comparison of growth and saponin production. A. K Hvoslef - Eide and W. Preil (eds) [J]. Liquid Culture systems for in vitro Plant Propagation, 2005, 6: 539-546.
- [68] L. LANGHANSOVÁ, P. MARŠÍK and T. VANĚK. Production of saponins from *Panax ginseng* suspension and adventitious root cultures [J]. Biologia Plantarum, 2005, 49(3): 463-465.
- [69] C. S. Jeong, H. N. Murthy, E. J. Hahn, et al. Inoculum size and auxin concentration influence the growth of adventitious roots and accumulation of ginsenosides in suspension cultures of *ginseng* (*Panax ginseng* C. A. Meyer) [J]. Acta Physiol. Plant, 2009, 31: 219-222.
- [70] Zhan - Ying Zhang and Jian - Jiang Zhong. Scale - Up of Centrifugal Impeller Bioreactor for Hyperproduction of Ginseng Saponin and Polysaccharide by High-Density Cultivation of *Panax notoginseng* Cells [J]. Biotechnol. Prog., 2004, 20: 1076-1081.
- [71] H. J. G. Hoopen, J. L. Vinke, P. R. H. Moreno, et al. Influence of temperature on growth and ajmalicine production by *Catharanthus roseus* suspension cultures [J]. Enzyme Microb. Technol., 2002, 30: 56-65.
- [72] J. J. Zhong, T. Seki, S. Kinoshita, T. Yoshida, Effect of light irradiation on anthocyanin production by suspended cultures of *Perilla frutescens* [J]. Biotechnol. Bioeng., 1991, 38: 653-658.
- [73] Kee-Wo Yu, Hosakatte Niranjana Murthy, Eun - Joo Hahn, et al. Ginsenoside production by hairy root cultures of *Panax ginseng*: influence of temperature and light quality [J]. Chemical Engineering Journal, 2005, 23: 53-56.
- [74] H. Kurata, A. Mochizuki, N. Okuda, et al. Intermittent light irradiation with second or hour scale periods controls anthocyanin production by *strawberry* cells [J]. Enzyme Microb. Technol., 2000, 26: 621-629.
- [75] Hasegawa H., Sung J. H., Matsumiya S.. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria [J]. Planta. Med., 1996, 62: 453-457.
- [76] Hasegawa H., Sung J. H., Benno Y.. Role of human intestinal *Prevotella oris* in hydrolyzing *Ginseng* saponins [J]. Planta. Med., 1997, 63, 436-440.
- [77] Akao T., Kida H., Kanaoka M.. Intestinal bacterial hydrolysis required for the appearance of compound K in rat plasma after oral administration of ginsenoside Rb1 from *Panax ginseng* [J]. J. Pharm. Pharmacol., 1998, 50: 1155-1160.
- [78] Ying Han, Baoshan Sun, Xiaomin Hu, et al. Transformation of bioactive compounds by fusarium sacchari fungus isolated from the soil-cultivated *ginseng* [J]. Agric Food Chem., 2007, 55: 9373-9379.
- [79] T. Murashige, F. Skoog. A revised medium for rapid

growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. *Plant Physiol.*, 1962, 15:473-493.

[80] E. B. Carvalho, W. R. Curtis. Characterization of fluid flow resistance in root cultures with a convective flow tubular bioreactor[J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 1998, 60:375-384.

[81] J. H. Seon, K. W. Yu, Y. Y. Cui, *et al.* Application of bioreactor for the production of saponin by adventitious roots cultures in *Panax ginseng*, in: A. Altman (Ed.), *Plant biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century* [M]. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1999, 3:29-332.

(责任编辑 胡光辉)