

大量营养素对青钱柳悬浮细胞生长及多糖质量分数的影响

上官新晨, 任民红, 蒋艳, 陈继光, 吴少福

(江西农业大学 食品科学与工程学院/江西省天然产物与功能食品重点实验室, 江西 南昌 330045)

摘要: 为解决青钱柳资源稀缺问题以及为采用生物反应器规模化生产青钱柳多糖, 采用单因素和正交试验研究了几种大量营养素对青钱柳悬浮细胞生长及多糖质量分数的影响。单因素试验结果表明: 添加 40 g/L 蔗糖有利于悬浮细胞的生长, 而 50 g/L 蔗糖时多糖质量分数最高; $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ 为 50 : 10、总氮 30 mmol/L、磷酸盐 1.25 mmol/L、 Mg^{2+} 2 mmol/L 时细胞干重和多糖质量分数均最高; 4 mmol/L Ca^{2+} 适合细胞的生长, 但 2 mmol/L Ca^{2+} 更有利于多糖的合成。正交试验结果表明: 利于细胞生长的大量营养素组合为 40 g/L 蔗糖+30 mmol/L 总氮+2 mmol/L Mg^{2+} +4 mmol/L Ca^{2+} ; 而适于细胞多糖含量提高的组合为 40 g/L 的蔗糖+30 mmol/L 总氮+3 mmol/L Mg^{2+} +3 mmol/L Ca^{2+} 。

关键词: 青钱柳; 悬浮培养; 多糖; 大量营养素

中图分类号: Q 942.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2012)07-0687-07

Effect of Macronutrient on Growth and Polysaccharide Content of *Cyclocarya paliurus* Suspension Cells

SHANGGUAN Xin-chen, REN Min-hong, JIANG Yan, CHEN Ji-guang, WU Shao-fu

(College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Jiangxi Key Laboratory of Natural Product and Functional Food, Nanchang 330045, China)

Abstract: In order to provide reference for production of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide on a large scale in bioreactor, and solve the problem of *Cyclocarya paliurus* resources scarcity, the effects of nutrition conditions on the growth and polysaccharide content of *C. paliurus* suspension culture cells were studied in this manuscript. The single factor experiment and orthogonal test were applied to optimize the nutrition conditions and the result were listed as follows: for cell growth: 40 g/L sucrose+30 mmol/L total nitrogen+2 mmol/L Mg^{2+} +4 mmol/L Ca^{2+} . for polysaccharide production: 40 g/L sucrose+30 mmol/L total nitrogen+3 mmol/L Mg^{2+} +3 mmol/L Ca^{2+} .

Key words: *Cyclocarya paliurus*, suspension culture, polysaccharides, macronutrient

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljin-skaja] 系胡桃科青钱柳属植物, 是我国重点保护的

濒危植物之一^[1]。民间将其叶制成保健茶饮已有 200 余年历史, 是良好的保健食品资源。近代药理

收稿日期: 2011-10-24

基金项目: 江西省主要学科科学技术带头人项目 (2009DD00900); 江西省科技支撑计划项目 (2007BG09700)。

作者简介: 上官新晨 (1962-), 男, 江西余干人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事功能性食品开发研究。

E-mail: shangguanxc_818@sina.com

学研究表明,青钱柳多糖具有降血糖、降血压、降血脂、增强免疫、抗肿瘤、抗氧化、抑菌等多种生物功能^[2-7]。青钱柳属极难生根树种,其种子具有深度休眠性,自然萌发率仅为 0.1%~0.2%,目前国内外尚未建立有效的青钱柳组培快繁体系^[8],现有的青钱柳资源又非常少,这严重影响了青钱柳的开发利用。植物细胞悬浮培养具有细胞分散性好、生长迅速、易于控制等诸多优点,通过青钱柳细胞悬浮培养大规模生产其活性成分是对青钱柳资源的保护与利用具有重要意义。作者考察了培养基中几种大量营养成分对青钱柳悬浮细胞生长及多糖合成的影响,为通过细胞大量培养技术生产多糖提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

青钱柳悬浮细胞系:取 2 g 继代 30 次后的青钱柳愈伤组织(由作者所在实验室诱导保存)接种于装有 40 mL 培养基的 100 mL 三角瓶中,置于转速为 115 r/min 的摇床上,25℃ 黑暗条件下进行振荡培养,每 5~7 d 继代一次,继代方法为:在上一代细胞培养液中以 1:2 的比例加入新鲜培养基。培养基为 MS^[9] + KT 1 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L + 3% 蔗糖。继代 20 次后得到分散度高、传代较为稳定的青钱柳悬浮细胞系。

1.2 青钱柳悬浮细胞生长及多糖合成曲线的绘制

取生长良好的青钱柳悬浮细胞接种于装有 40 mL MS 液体培养基的 100 mL 三角瓶中,接种量为 8%(以鲜质量计)。置于转速为 115 r/min 的摇床上,(25±1)℃ 弱光条件下进行振荡培养。MS 培养基中含蔗糖 30g、KT 1 mg/L,2,4-D 0.5 mg/L、NAA 0.3 mg/L,pH 为 5.8。每隔两天随机取 3 瓶培养物测定细胞生物量及多糖含量。

1.3 不同蔗糖、氮源、磷酸盐、Ca²⁺、Mg²⁺ 浓度及 NO₃⁻:NH₄⁺ 比例对细胞生长及多糖质量分数的影响

在探讨蔗糖质量浓度对悬浮细胞生长和多糖含量影响时,将悬浮细胞接入蔗糖质量浓度分别为 10、20、30、40、50、60、70 g/L 的培养基中进行悬浮培养;探讨 NO₃⁻:NH₄⁺ 比例对悬浮细胞生长和多糖含量影响时,保持总氮浓度为 MS 培养基的氮

浓度 60 mmol/L,设置 NO₃⁻:NH₄⁺ 比例分别为 0:60、10:50、20:40、30:30、40:20、50:10、60:0;探讨总氮源浓度对细胞生长及多糖含量的影响时,在最佳的 NO₃⁻:NH₄⁺ 条件下设置所用的培养基总氮源浓度分别为 MS 培养基中总源浓度的 0、1/4、1/2、1、3/2、2 倍(即分别为 0、15、30、60、90、120 mmol/L);探讨磷酸盐浓度对细胞生长及多糖含量的影响时,所用的磷酸盐浓度分别为 MS 培养基的其浓度的 0、1/4、1/2、1、3/2、2、3 倍(即分别为 0、0.31、0.63、1.25、1.88、2.50、3.75 mmol/L);探讨 Ca²⁺ 浓度对细胞生长及多糖含量的影响时,所用的 Ca²⁺ 浓度分别为 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mmol/L;探讨 Mg²⁺ 浓度对细胞生长及多糖含量的影响时,所用的 Mg²⁺ 浓度分别为 0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mmol/L。所采用的培养条件均与上述 1.2 相同,培养 10 d 后收获细胞进行测定。

1.4 几种大量营养素的优化试验

综合单因素试验的结果,选取蔗糖、总氮源、Mg²⁺、Ca²⁺ 浓度 4 个影响较大的因子,分别记为 A、B、C、D,采用 L₉(3⁴) 正交试验设计研究其对悬浮细胞生长及多糖合成的影响,按照正交设计方案将生长良好的青钱柳悬浮细胞接种于不同的培养基中,培养 10 d 后收获细胞,测定细胞干重及多糖含量。各因素和水平见表 1。

表 1 因素水平表

Tab. 1 Factors and levels

水平	因素			
	A 蔗糖质量 浓度/(g/L)	B 总氮浓度/ (mmol/L)	C Mg ²⁺ 浓度/ (mmol/L)	D Ca ²⁺ 浓度/ (mmol/L)
1	30	15	1	2
2	40	30	2	3
3	50	45	3	4

1.5 细胞生长量的测定

将培养一定天数的悬浮细胞液用布氏漏斗真空抽滤,得到的细胞用蒸馏水充分洗涤,抽干后的细胞于 55℃ 烘箱中烘至恒重后称其干重 DW。细胞生长量以每升培养液中细胞的干质量净增长量表示,即:净增干质量=收获细胞的干质量-接种细胞干质量。

1.6 多糖质量分数测定

准确称取 0.2 g 干燥后的细胞,加 5 mL 蒸馏水

90 ℃水浴提取 3 h 后 4 000 g 离心 15 min,取 1 mL 上清液加 4 mL 体积分数 95% 乙醇醇沉过夜,4 000 g 离心 20 min,挥干乙醇后加蒸馏水溶解沉淀物得多糖溶液。多糖含量采用苯酚—硫酸法测定:取 1 mL 稀释至适当倍数的多糖溶液,加蒸馏水至 2 mL,然后加入苯酚溶液(体积分数 5%)1 mL,再加入 5 mL 浓硫酸、振荡、室温下静置 30 min,然后用紫外可见分光光度计在 490 nm 处测定其吸光值。以葡萄糖为标准品制作标准曲线,将烘干至恒重的分析纯葡萄糖配成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,准确移取 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 标准溶液于各试管中,用蒸馏水补足到 2 mL,各试管加入 1 mL 体积分数 5% 苯酚溶液,混匀后快速加入 5.0 mL 浓硫酸,振荡混匀后室温静置 30 min,在 490 nm 处测其吸光度。以葡萄糖浓度作横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得回归曲线方程为: $y = 0.0161x - 0.0038$, $R^2 = 0.9998$,浓度在 0~60 $\mu\text{g/mL}$ 之间呈现良好的线性关系。多糖含量可通过标准方程计算而得。

1.7 数据统计与分析

每次实验重复两次以上,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 DPS6.55 统计软件进行方差分析,并用 Duncan 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 青钱柳悬浮细胞生长及多糖合成曲线

由图 1 可以看出,青钱柳悬浮细胞的生长曲线基本呈 S 型,其中 0~6 d 为生长延滞期,而 6~10 d 细胞生物量急速增长,为细胞生长的指数增长期,培养 12 d 时生物量达到最大值,约为 18 g/L,约比接种时的细胞生物量增长了近 5 倍;但随后细胞生物量有所下降,培养至 18 d 开始出现褐化。与生物量相比,多糖的合成则在延滞期呈缓慢增长状态,在生长指数期内快速增加,培养至 10 d 时多糖含量达到最高,约为 30 mg/g;之后多糖含量急剧下降。因此,为了获得最高的多糖产量,宜在培养 10 d 收获细胞进行多糖的提取和制备。

2.2 蔗糖质量浓度对青钱柳细胞生长及多糖质量分数的影响

蔗糖作为碳源不仅为细胞生长提供了能源和碳骨架,而且其质量浓度对植物悬浮细胞的影响还

体现在其通过调节渗透压而对植物细胞的生长状态起到一定的作用^[10]。由表 2 可知,在蔗糖质量浓度低于 40 g/L 时,随着蔗糖质量浓度的升高对细胞生长起促进作用;当蔗糖质量浓度为 40 g/L 时,最有利于悬浮细胞的生长,其净增干重达到 15.49 g;而当质量浓度超过 40 g/L 时,细胞生长受到抑制。当蔗糖质量浓度为 10 g/L 时净增干重只有 3.16 g,而蔗糖质量浓度为 70 g/L 时为 6.83 g,可见过低或过高的蔗糖质量浓度都会严重抑制悬浮细胞的生长。而蔗糖质量浓度对多糖含量的影响也与其对细胞生长的作用一致,其含量也随着蔗糖质量浓度的提高呈先升高后下降的变化,在 50 g/L 蔗糖培养时,细胞的多糖含量最高;但结合生物量和多糖产率水平,为了获得最高的多糖产量,应选择蔗糖质量浓度 40 g/L 进行细胞悬浮培养。

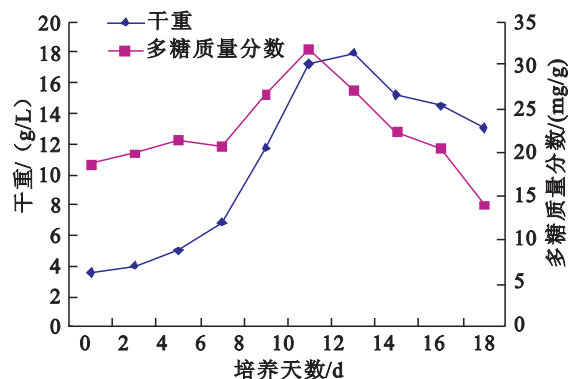


图 1 青钱柳细胞悬浮培养过程中生长及多糖合成变化曲线
Fig. 1 The time-course of the growth and polysaccharide content in *C. paliurus* suspension culture

表 2 不同蔗糖质量浓度下细胞生物量和多糖质量分数

Tab. 2 Effect of sucrose concentration on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

蔗糖质量浓度/ (g/L)	净增干重/g	多糖质量分数/ (mg/g)
10	3.16±0.27eE	8.00±1.30dC
20	8.91±0.44cC	15.60±1.57cdBC
30	14.74±0.56aAB	18.69±2.52bcABC
40	15.49±0.33aA	28.09±1.37abAB
50	13.27±0.05bB	30.95±0.77aA
60	9.77±0.66cC	27.35±2.70abAB
70	6.83±0.48dD	7.62±0.32dC

注:不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著;不同大写字母表示在 0.01 水平差异极显著;下同。

2.3 不同氮源浓度及 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 比例对细胞生长及多糖质量分数的影响

当氮源只有铵态氮时,细胞基本无法生长,随着 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 比值升高,细胞生长受到明显促进作用,当 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 为 50 : 10 时,细胞生物量达到最高。 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 对多糖积累的作用与对细胞生长的作用一致,也是呈先促进后抑制的效应,在 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 为 50 : 10 时多糖质量分数最高。表 4 为不同总氮浓度对悬浮细胞生长和多糖质量分数的影响。当培养基中未添加任何形式的氮源时,细胞的生长受到较为严重的抑制,净增干重仅为 6.84 g。在所研究的浓度范围内,细胞生物量随着总氮源浓度的升高呈先增大后减小的趋势,且不同处理间存在极显著差异,适合细胞生物量增长的氮源浓度是 1/2 倍的 MS 氮源浓度,即 30 mmol/L 的氮源浓度。不同氮源浓度对多糖积累的影响与细胞生长的影响一致,适合多糖积累氮源浓度也是 1/2 倍的 MS 氮源浓度,且与其他处理间存在极显著差异。

表 3 不同 $c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$ 条件下悬浮细胞生物量和多糖质量分数

Tab.3 Effect of the ratio of NO_3^- to NH_4^+ on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

$c(\text{NO}_3^-) : c(\text{NH}_4^+)$	净增干重/g	多糖质量分数/(mg/g)
0 : 60	0.27±0.34eD	10.74±1.25gF
10 : 50	1.06±0.33eD	12.84±0.96fF
20 : 40	3.22±0.65dC	15.46±0.29eE
30 : 30	6.89±0.18cB	20.61±0.21dD
40 : 20	13.07±0.53bA	26.83±0.22bB
50 : 10	14.57±0.57aA	30.81±0.55aA
60 : 0	13.92±0.11abA	23.70±0.31cC

表 4 不同总氮浓度下细胞生物量和多糖质量分数

Tab.4 Effect of total nitrogen concentration on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

氮源浓度/(mmol/L)	净增干重/g	多糖质量分数/(mg/g)
0	6.84±0.28fF	2.53±0.02bB
15	12.81±0.09bB	2.50±0.14bcB

续表 4

氮源浓度/(mmol/L)	净增干重/g	多糖质量分数/(mg/g)
30	14.67±0.27aA	3.97±0.10aA
60	11.81±0.15cC	2.37±0.04bcB
90	10.36±0.13dD	2.28±0.29bcB
120	8.37±0.23eE	2.14±0.05cB

2.4 磷酸盐浓度对细胞生长及多糖质量分数的影响

磷是构成核酸、磷脂、ATP 的主要成分,在代谢产物合成和能量代谢中对细胞生长具有调节作用,特别是在糖代谢中具有重要作用^[11]。由表 5 可见,缺磷时,细胞的生长受到严重抑制,培养 10 d 时其生物量仅为 4.91 g,随着磷酸盐浓度的升高,细胞的生长及多糖的质量分数均呈先增大后减小的趋势,且基本保持同步的增加性。当磷酸盐浓度为 MS 标准磷酸盐浓度 1.25 mmol/L 时,净增干重和多糖质量分数均达到最大值,分别为 17.10 g、30.22 mg/g。

表 5 不同磷酸盐浓度下细胞生物量和多糖质量分数

Tab.5 Effect of phosphate concentration on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

磷酸盐浓度/(mmol/L)	净增干重/g	多糖质量分数/(mg/g)
0	4.91±0.45eD	18.86±0.53dD
0.31	7.75±0.36dC	22.89±0.26cC
0.63	14.12±0.43cB	26.53±0.99bB
1.25	17.10±0.07aA	30.22±0.96aA
1.88	15.88±0.65bAB	28.97±0.12aAB
2.5	15.74±0.81bAB	23.08±1.49cC
3.75	15.72±0.16bAB	22.52±0.68cC

2.5 Ca^{2+} 浓度对细胞生长及多糖质量分数的影响

由表 6 可知,当培养基中不添加钙时,细胞的生长及多糖的合成受到抑制,与其他处理间存在显著差异,而当 Ca^{2+} 浓度处于 1~6 mmol/L 的范围内时,细胞生物量先增大后减小,但各处理间差异不显著, Ca^{2+} 浓度在 4 mmol/L 时,生物量最大,在 2 mmol/L 时,多糖质量分数最大。综合考虑细胞生物量及多糖质量人分数, Ca^{2+} 浓度在 2 mmol/L

L 时多糖产量最大。

表 6 不同 Ca^{2+} 浓度下细胞生物量和多糖质量分数

Tab. 6 Effect of Ca^{2+} concentration on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

Ca^{2+} 浓度/ (mmol/L)	净增干重/g	多糖质量分数/ (mg/g)
0	11.31±0.55cB	14.33±0.49dC
1	13.23±0.83bcAB	20.75±1.80cB
2	13.33±0.93bcAB	30.38±0.57aA
3	13.43±0.52bAB	25.82±1.08bA
4	15.56±1.40aA	25.89±2.10bA
5	13.67±0.75abAB	19.20±1.12cBC
6	13.57±0.54abAB	18.97±0.29cBC

2.6 Mg^{2+} 浓度对细胞生长及多糖合成的影响

由表 7 可见,当 Mg^{2+} 浓度在 1~6 mmol/L 范围内,细胞干重维持在一个较高水平,各个处理间的差异不显著,细胞生物量及多糖含量均随着 Mg^{2+} 浓度的升高呈先增大后减小的趋势,2 mmol/L 时细胞干重和多糖质量分数均达到最大值。此外,试验中发现在未添加 Mg^{2+} 的培养条件下细胞褐化严重,生长也受到一定抑制作用。

表 7 不同 Mg^{2+} 浓度下细胞生物量和多糖质量分数

Tab. 7 Effect of Mg^{2+} concentration on the biomass and polysaccharide content of suspension cells

Mg^{2+} 浓度/ (mmol/L)	净增干重/g	多糖质量分数/ (mg/g)
0	11.46±0.42bB	23.61±1.81dDE
0.5	14.04±0.56aA	27.76±0.39cBC
1.0	14.10±0.20aA	30.18±0.70bAB
2	15.28±1.48aA	33.15±1.10aA
4	14.57±0.22aA	25.90±1.71cCD
6	13.87±0.14aAB	20.41±0.33eE

2.7 营养素的正交优化试验

从表 8 极差分析结果可以看出,4 种大量营养素对悬浮细胞生长影响的主次顺序为 $C>A>D>B$,即: $\text{Mg}^{2+}>\text{蔗糖}>\text{Ca}^{2+}>\text{总氮}$;对多糖含量影响的主次顺序为: $A>B>D>C$,即: $\text{蔗糖}>\text{总氮}>\text{Ca}^{2+}>\text{Mg}^{2+}$ 。根据极差分析结果可知有利于悬浮细胞生长的较佳组合为 $A_2B_2C_2D_3$,由于该组合在处理中没有出现,对其进行 3 次重复的验证试验,

得到悬浮细胞净增干重分别为:20.98、21.85、21.52 g,均要高于正交表中所有试验结果,因此在 40 g/L 的蔗糖、30 mmol/L 总氮、2 mmol/L Mg^{2+} 和 4 mmol/L Ca^{2+} 的条件下悬浮细胞生长最佳;而有利于提高多糖含量的最佳组合为: $A_2B_2C_3D_2$,该组合也未在处理中出现,做 3 次重复验证试验,测得多糖含量为:36.86、37.95、37.03 mg/g,均要高于其他处理的结果,因此在 40 g/L 的蔗糖、30 mmol/L 总氮、3 mmol/L Mg^{2+} 和 3 mmol/L Ca^{2+} 的条件下有利于细胞多糖积累。

3 结 语

在悬浮培养条件下,培养液的营养成分对细胞的生长影响较大。不同培养基中所含的营养元素的种类和含量不相同,对不同的植物细胞的作用是不相同的,对植物细胞的生物合成的作用也是不一致的。

植物组织培养中广泛使用的碳源主要有蔗糖和葡萄糖等。前人在青钱柳的组织培养中,大多以 3%蔗糖作为碳源^[8,12],作者发现青钱柳细胞悬浮培养时添加 40 g/L 的蔗糖更利于细胞生长,而添加 50 g/L 蔗糖时细胞多糖含量最高,但此时细胞生长受到抑制,综合考虑细胞生物量及多糖含量,以 40 g/L 蔗糖多糖产量最高。

氮源的浓度和硝铵比对细胞生长和代谢产物的形成有着重要影响^[13]。作者研究表明适当提高硝铵比有利于青钱柳悬浮细胞生长及多糖合成;而降低 MS 培养基总氮源浓度至原浓度的 1/2 时,既有利于细胞的生长又有利于多糖的积累,可能是氮浓度越高时,氮越旺盛,所需碳骨架量愈大,多糖的合成将会减小^[14]。

MS 培养基中的 Mg^{2+} 浓度大约为 1.5 mmol/L, Ca^{2+} 浓度大约为 3 mmol/L,作者发现 2 mmol/L 的 Mg^{2+} 利于青钱柳悬浮细胞的生长,3 mmol/L Mg^{2+} 利于多糖含量提高,而 4 mmol/L Ca^{2+} 利于细胞的生长,由此可知,适当的提高 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的浓度可以促进青钱柳悬浮细胞的生长及多糖积累。总之,不同植物细胞对碳源、氮源、磷酸盐及钙、镁等营养元素的需求量是不同的,通过对培养基中某些成分的优化对细胞生物量的增加及目的产物含量的提高具有重要意义。

表 8 正交试验结果及极差分析

Tab. 8 Results and range analysis of orthogonal test

处理号	A	B	C	D	净增干重/g		多糖质量分数/ (mg/g)	
1	1	1	1	1	5.21	4.99	15.16	17.06
2	1	2	2	2	16.44	15.97	28.75	27.19
3	1	3	3	3	15.72	15.55	20.39	23.25
4	2	1	2	3	19.96	20.50	27.46	32.76
5	2	2	3	1	18.88	15.18	36.98	33.04
6	2	3	1	2	14.05	16.30	29.84	30.25
7	3	1	3	2	13.04	14.51	29.16	34.60
8	3	2	1	3	13.08	11.64	32.63	29.23
9	3	3	2	1	11.72	12.01	24.74	26.03
均值	A	B	C	D	A	B	C	D
K ₁	12.31	13.03	10.88	11.33	21.97	26.03	25.70	25.50
K ₂	17.47	15.20	16.10	15.05	31.73	31.30	27.83	29.97
K ₃	12.67	14.22	15.48	16.07	29.40	25.75	29.57	27.62
极差 R	5.16	2.16	5.22	4.74	9.75	5.55	3.87	4.04

参考文献(References):

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(21 卷)[M]. 北京:科学出版社,1979,18—19.
- [2] Kurihara H,Fukami H,Kusulnoto A. Hypoglycemic action of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in normal and diabetic mice[J]. **BioScience, Biotechnology, and Biochemistry**, 2003, 67(4): 877—880.
- [3] Kurihara H, Asami S, Shibata H, et al. Hypolipemic effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in lipid-loaded mice[J]. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 2003, 26(3): 383—385.
- [4] 施利仙,上官新晨,王文君,等. 青钱柳多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. **营养学报**, 2009, 31(3): 236—266.
SHI Li-xian, SHANG GUAN Xin-chen, WANG Wen-jun, et al. Effect of polysaccharide of *Cyclocarya paliurus* on alloxan-induced diabetic mice[J]. **Acta Nutrimenta Sinica**, 2009, 31(3): 236—266.
- [5] 黄丹菲,聂少平,谢明勇,等. 青钱柳多糖对小鼠骨髓来源树突状细胞表面分子表达的影响[J]. **天然产物研究与开发**, 2009, 21: 771—775.
HUANG Dan-fei, NIE Shao-ping, XIE Ming-yong, et al. Effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) polysaccharides on the surface molecule expression level of dendritic cells[J]. **Natural Product Research and Development**, 2009, 21: 771—775.
- [6] 刘昕,王顺后,谢明勇,等. 青钱柳多糖对人宫颈癌 HeLa 细胞和人脐带内皮细胞生长的影响[J]. **食品科学**, 2007, 28(10): 520—522.
LIU Xin, WANG Shun-q, XIE Ming-yong, et al. Effects of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja on growth of HeLa cells and human umbilical vein endothelial cells[J]. **Food Science**, 2007, 28(10): 520—522.
- [7] 葛霞,陈婷婷,王文君,等. 青钱柳多糖抗氧化活性的研究[J]. **中国食品学报**, 2011, 11(5): 59—64.
GE Xia, CHEN Ting-ting, WANG Wen-jun, et al. Studies on the anti-oxidant activity of polysaccharide from *Cyclocarya Paliurus*(Batal.) Iljinskaja[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2011, 11(5): 59—64.

- [8] 盛丽莉,史文亚,谢寅峰,等. 青钱柳组织培养技术研究进展[J]. 西南林业大学学报, 2011,(2)84—89.
SHENG Li-li,SHI Wen-ya,XIE Yin-feng,et al. Research advances and prospects of tissue culture propagation techniques for *Cyclocarya paliurus*[J]. *Journal of Southwest Forestry University*,2011,(2)84—89.
- [9] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures[J]. *Physiology Plant*,1962,5:473—497.
- [10] Marcia O M, Carlos T S, Anionio F C. Growth of *Bauhinia forficata* Link, *Curcuma Zedoaria Roscoe* and *Phaseolus vulgaris* L. Cell suspension cultures with carbon sources[J]. *Scientia Agricola*,2001,58(3):481—485.
- [11] 李合生. 现代植物生理学(第二版)[M]. 北京:高等教育出版社. 2006,76—77.
- [12] 乔卿梅,程茂高,王新民. 青钱柳离体胚的组织培养研究[J]. 广东农业科学,2009,7,69—71.
QIAO Qing-mei,CHENG Mao-gao,WANG Xin-min. Embryo culture of *Cyclocarya paliurus* Iljinsk in vitro[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2009,7,69—71.
- [13] Iryna Smetanska. Production of secondary metabolites using plant cell cultures[J]. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*,2008, 111: 187—228.
- [14] 查学强,罗建平,姜绍通. 悬浮培养霍山石斛原球茎合成活性多糖的研究[J]. 食品科学,2005,26(4):41—44.
ZHA Xue-qiang,LUO Jiang-ping,JIANG Shao-tong. Studies on the sythesis of active polysaccharide in suspebsion cultures of protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense*[J]. *Food Science*. 2005,26(4):41—44.

会议信息

会议名称(中文): 第十二届全国水产青年学术年会

所属学科: 动植物微生物学,水产学

开始日期: 2012—08—26

结束日期: 2012—08—28

所在国家: 中华人民共和国

所在城市: 辽宁省 大连市

主办单位: 中国水产学会

承办单位: 大连海洋大学

全文截稿日期: 2012—07—20

联系人: 梁殿超

联系电话: 0411—84762670

E-MAIL: liangdianchao@dlou.edu.cn

通讯地址: 大连市沙河口区黑石礁街 52 号(大连海洋大学)

邮政编码: 116023

会议网站: <http://www.csfish.org.cn/csf/showInfo.asp?id=744>

会议背景介绍: 为加强全国水产青年科技工作者之间的交流,促进青年水产科技工作者的成长,我会定于 2012 年 8 月 26~28 日在大连召开第十二届全国水产青年学术年会。请各单位尤其是各分支机构委员认真组织本单位青年科技工作者(45 周岁以下)参会交流。

征文范围及要求: 大会将分四个专题进行学术交流,每个专题将设专题主报告

专题一,包括以下领域:生物技术、遗传育种、生理

专题二,包括以下领域:水产食品、海洋生物活性物质、水产加工、质量安全

专题三,包括以下领域:水产养殖、病害、营养与饲料

专题四,包括以下领域:资源、环境生态、渔机、渔具渔法、渔业经济与信息、渔业管理