

# 药用植物组培快繁现状及存在问题和对策

李红艳 孙亚楠

(河南质量工程职业学院, 河南平顶山, 467000)

药用植物的遗传育种是中药材研究和生产中十分重要的部分。植物组织培养是根据植物细胞全能性的理论,利用药用植物的离体细胞、组织或器官在适宜的光照、温度等条件下进行无菌培养,从而诱导出愈伤组织、不定芽、不定根等器官,最后分化、生长形成完整植株的过程。利用植物组织培养方法对药用植物进行快速繁殖,不仅可以在短期内培养出大量试管苗,而且生产不受季节和环境条件的限制,能够克服常规方法的缺点,具有繁殖速度快、繁殖系数高,可周年大规模工厂化生产,经济效益高,生长快,周期短,重复性强等优越性。同时组织培养获得的大量种苗,对于因病虫害而影响产量和质量的药用植物、靠种子有性繁殖的药用植物、无性繁殖系数低的药用植物以及需要引种驯化的濒危药用植物都具有很大的科研和生产意义。

## 1 药用植物组培快繁现状

我国药用植物的组织培养,开始于20世纪50年代,罗士伟教授第一次成功地研究出了人参的组织培养。中国关于药用植物组织培养的首届研讨会于1983年召开,当时药用植物的组织培养已有了较多的文献报道,培养材料和种类也较为广泛。其中广西药用植物园已成功建立了罗汉果的快速繁殖体系,山东的怀地黄去病毒研究以及中国药科大学对人参工业化生产的研究也都取得了成功。经过几十年的发展,已有几百种药用植物能够成功进行组织培养和工厂化生产。1986年,我国科学工作者编写了《药用植物组织培养》一书,标志着我国药用植物组织培养的技术已进入成熟阶段。由最初的对草本和藤本植物的根、茎、叶等组织或器官进行初始离体培养研究,逐渐发展到诱导愈伤组织、毛状根培养和细胞悬浮培养以及次生代谢产物研究还有深层大罐发酵等。近年来,利用植物基因工程技术,通过农杆菌介导转化获得基因药用植物的研究也取得了很大的进展并逐渐应用到医学领域中。最近人们通过放射免疫测定法、荧光显微镜术和高效液相色谱法等相应的技术,利用诱导剂、稀土元素和体外胁迫等对植物组织培养过程中产生的药物成份进行了研究,从而筛选到高产细胞株。植物的组织培养发展到今天已成为一门精细的实验技术。从外植体的选择、消毒灭菌、离体培养、诱导增殖、筛选、扩大繁殖、继代保存到分离鉴定等方面已经建立了一整套完备的技术路线和方法。

药用植物组织培养在中药领域中具有很重要的应用。有些药用植物没有种子或种子发芽率不高,此时通过离体培养的方法可显著提高繁殖效率。工厂化育苗能够有效解决药用植物资源不足的问题,已发展成一种新兴的产业。目前通过组培方法以对人参皂甙和紫草宁以及红豆杉、铁皮石斛、芦荟等进行大规模快速无性繁殖并实现了工业化生产规模。同时,可对具有优良性状的药用植株进行组织培养,储备足够的种质资源,建立基因库,以解决将来品质退化和变种等问题。药用植物在自然环境中生长,容易感染病毒,通过世代遗传,会影响到药材的产量和质量,甚至引起品种灭绝。通过茎尖脱毒等方法可以重新得到优良植株,使药材提纯复壮,促进良种栽培。利用花药培养育种法,可获得单倍体植株,或者利用组织培养方法和化学诱变育种方法相结合得到多倍体植株,从而获得新的药用

植物品种。

组织培养得到的药用植物其药效成分与自然植株是否相同决定了离体培养的意义。如果组培苗的药用成分等于或高于对照植株的药用成分,则组培苗具有很大的价值;反之,如果组培苗的药用成分低于自然植株的药效成分甚至药性改变,则离体培养得到的组培苗没有价值。

## 2 存在问题及对策

虽然药用植物的组织培养已发展成一门成熟的技术,但是依然存在一些限制其大规模推广应用的问题,这些问题主要包括材料污染现象、褐化现象以及试管苗玻璃化等。

无菌材料的获得是组织培养成功的关键一步。取材时的季节和取材的部位与无菌材料建立有很大的关系,一般而言,在干燥和天气好的时候以及选取幼嫩的植株部位做为外植体可以减少材料的污染,反之,如果在霉雨天气或较老部位取材则材料容易感染细菌,难以获得无菌植株。同时,消毒剂的选择和灭菌时间也很关键,应摸索出能同时满足低污染率和高存活率的消毒剂和时间的理想组合。对于有内生菌的材料可以采用往培养基中添加抗生素的办法解决污染问题。

试管苗在培养过程中会产生多酚类物质,空气氧化后变成褐色的醌类物质,这就是材料褐变现象。褐变的影响因素非常复杂,并随植物种类、基因型、外植体的取材部位和生理状况等的异同而有不同的危害程度。许多植物在组培中都会发生褐变现象,木本植物的褐化现象尤其严重。对于容易褐变的材料,可以在培养前对外植体进行适当的预处理,并选择合适其生长的培养基,在黑暗或光强较弱的环境中培养。有研究表明,在培养基中添加活性炭可以有效减少材料的褐化,同时经常更换培养基使细胞在褐变之前得到转移也能显著减少或避免试管苗发生褐变。

玻璃化指在组织培养过程中,有些植物发生生长异常,变现为嫩茎、叶片呈水晶透明或半透明状,水浸状,整株矮小肿胀,叶片卷曲失绿的现象,又称过度水化。玻璃苗的组织畸形,器官分化能力降低,难以继续继代培养和扩大繁殖,生根困难,移栽后难存活。因此,试管苗玻璃化现象对植物的组织培养危害很大。研究表明,培养基中的琼脂和蔗糖浓度与试管苗的玻璃化成负相关,但是过高的琼脂浓度会使培养基变硬,影响植株对营养物质和激素的吸收利用,过高的糖浓度则影响培养基的衬质势,从而影响到苗的长势。目前防止和克服玻璃苗的措施主要有:利用固体培养,适当提高琼脂浓度和纯度;用棉塞或通气好的封口膜,改善氧气的供应状况和通气条件;适当提高培养基中的蔗糖含量或加入渗透剂,降低培养基中的渗透势,减少可利用水分和容器内的相对湿度;避免使用过高浓度的细胞分裂素和赤霉素;控制培养温度,避免高温,使用昼夜变温交替培养;增加自然光照;增加培养基中钙、镁、钾等元素的含量,降低铵态氮浓度和提高硝态氮的含量等。