

组织培养在药用植物育种上的应用

张智慧, 张金渝, 金 航*

(云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650223)

摘 要: 组织培养是植物育种的重要辅助手段之一, 对组织培养在药用植物育种上的应用进行了总结。

关键词: 组织培养; 药用植物; 育种

The appliace of tissue culture in medicinal plant breeding

ZHANG Zhi-hui, ZHANG Jin-yu, JIN Hang*

(Institute of Medicinal Plant, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650223, China)

Abstract: Tissue culture was one of important supplementary means of plant breeding. This paper summarized an application of tissue culture in medicinal plant breeding.

Key words: tissue culture; medicinal plant; breeding

中国中药材总计为 12 807 种, 其中大部分是植物药, 有 11 146 种, 约占中国中药材总量的 87%, 药用植物是中药材的重要来源之一, 具有重要价值。在中国, 越来越多的药用植物正在或已经进行了规范化种植的研究, 药用植物资源的收集和育种有着重要作用。药用植物的育种工作对提高植物药的产量和质量起着关键作用, 是十分重要的基础研究, 但药用植物的育种起步较晚, 与各种农作物相比差距很大, 由于遗传育种基础性研究的缺乏, 因此大部分药用植物的育种工作还停留在比较初级的阶段。近年来, 组织培养技术在药用植物研究中的应用越来越广泛, 组培技术在研究植物遗传育种方面具有独特作用。组织培养技术作为一种辅助手段, 在药用植物育种中的应用, 极大地推动了药用植物育种的发展。组织培养技术在药用植物育种上主要有以下几个方面的应用。

1 优良无性系快速繁殖

通过组织培养手段快速繁殖, 可以提供足够的

植株用于品种比较试验和不同生态条件的区域试验, 从而缩短新品种育成年限, 提高育种效率。通过组织培养, 快速繁殖不受季节和气候限制, 占用空间较小, 繁殖系数高, 材料无病虫害, 但费用较高, 试管苗不易成活。组织培养快繁技术已经在许多药用植物上获得成功, 见表 1。

2 种质资源保存

种质资源在中药材优良品质形成过程中起着关键性作用, 是培育优良品种的遗传物质基础。随着市场需求的增长, 过度挖掘, 以及环境污染, 许多野生药用植物面临灭绝, 种质资源的保存显得尤为重要。利用组织培养结合低温、超低温冷冻储藏可用来保存种质资源, 可在较小空间里有效地保存大量种质, 而且能很快恢复繁殖, 免遭病虫害危害, 有利于种质交换和转移, 特别对于珍稀濒危药用植物的保护和利用具有重要的应用价值和意义, 是一条十分有效的保存途径。郑光植等^[17]对三分三愈伤组织及其悬浮培养细胞冰冻贮藏后发现没有改变细胞形态和生长潜力, 保存了生物合成莨菪碱和东莨菪碱的能力, 冰冻贮藏后细胞的存活率在 90% 以上。苏新等^[18]对浙贝母愈伤组织的超低温保存进行了研究, 发现培养 30~35 d 的浙贝母愈伤组织只适于低温保存, 较好的冰冻保

收稿日期: 2006-05-18

作者简介: 张智慧 (1980-), 女, 云南玉溪人, 硕士, 主要从事药用植物的育种工作。

* 为通讯作者。

存试剂是 10%DMSO+5%甘油, 较佳的冰冻程序是以 1~5℃/min 的降温速度, 从 0℃降至-18℃, 保留 1 h, 再降至-40℃, 停留 2 h, 然后投入液氮中贮存。解冻时以 40℃水浴迅速化冻效果较好, 解冻后的愈伤组织成功地得到增殖及再生植株。

表 1 快繁技术已获得成功的部分药用植物

Table 1 To get the some medicinal plants by the tissue culture technology

植物名	拉丁名	文献
白芨	<i>Bletilla striata</i> (Thunb.) Reichb. f.	[1]
白首乌	<i>Cynanchum auriculatum</i> Royle ex wight	[2]
半夏	<i>Pinellia ternata</i> (Thunb) Breit.	[3]
大蒜	<i>Allium sativum</i> L.	[4]
丹参	<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	[5]
灯盏花	<i>Erigeron breviscapus</i> (Vant) Hand. - Mazz	[6]
东北红豆杉	<i>Taxus cuspidata</i> sieb. et Zucc	[7]
宁夏枸杞	<i>Lycium barbarum</i> L.	[8]
黄芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	[9]
丽江山慈姑	<i>Iphigenia indica</i> Kunth	[10]
人参	<i>Panax ginseng</i>	[11]
三七	<i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F. H. Chen	[12]
铁皮石斛	<i>Dendrobium candidum</i>	[13]
金钗石斛	<i>Dendrobium nobide</i> Lindl	[14]
西洋参	<i>Panax quinquefolium</i> L.	[15]
乌头	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	[16]

3 单倍体育种

通过花粉或花药培养获得单倍体植株, 然后利用单倍体植株经过染色体加倍来选择和培养新品种, 这就是不同于常规杂交育种的花培育种。单倍体植株虽然高度不育, 通常矮小, 生长衰弱, 本身无大的价值, 但是通过加倍后可获得纯合二倍体, 在育种上有独特的用途。一般认为花培育种主要具有以下优点: 能克服杂种分离, 缩短育种年限, 获得纯系。常规杂交育种由于杂交后代不断分离, 要获得一个优良性状的植株常需要 8~10 年时间, 而单倍体育种培育 1~2 代即可得到可利用的植株。提高选择和诱变育种的效率。诱导单倍体植株突变后, 无论是显性突变还是隐性突变, 在诱导的当代就可看到变异类型, 选出优良突变体, 加倍后立即纯合, 可迅速获得正常的优良突变植株。能克服远缘杂种的不孕性。远缘杂交由于两亲本亲缘关系太远, 染色体组差异过大,

在减数分裂时不能进行正常的配对, 致使杂种可孕性极低, 即使个别有生活能力的花粉出现, 但因卵细胞同样存在严重不孕性, 使有生活力花粉与有生活力的卵细胞结合的机会就更少了, 用培育远缘杂种花粉的方法, 能使个别有生活力的花粉培育成单倍体植株, 经加倍后, 可创造植物新类型。快速建立异花授粉植物的自交系。在具有高度杂合性的异花授粉植物中, 用传统方法固定特定的性状需要 7~8 年, 若用 F_1 代植株花药培养方法, 只要一个世代就可达到目的。花培的这些显著优点引起了世界各国育种学者的浓厚兴趣。花培已与常规杂交育种、远缘杂交育种、诱变育种等育种方法相结合, 在实现某些育种目标时起到了不可替代的作用。对于某些生长周期长的药用植物, 运用花培技术可以大大地缩短育种年限。

宁夏枸杞^[19]、人参^[20]、平贝母^[21]等的花药培养已成功获得了再生植株。

4 多倍体育种

多倍体植株通常具有形态特征的巨型性, 抗逆性强, 及药用活性成分含量高等特性, 这是中药材的优质、高产育种所期望达到的目的。因此药用植物的多倍体育种具有较高的应用价值和增产潜力。而利用组织培养技术诱导多倍体是近几年发展起来的一种诱导多倍体的方法, 具有广阔的应用前景。在组织培养过程中, 用秋水仙碱等诱变剂处理培养的愈伤组织胚状体或丛生芽, 获得多倍体植株, 是诱发产生多倍体的较好方法。此方法操作简便, 实验条件容易控制, 重复性好, 诱导效率高, 嵌合体少, 易于大批量处理和筛选, 筛选出的优质株系可以应用组织培养技术在短期内大量繁殖, 大大地缩短了育种周期。陈素萍等^[22]将党参种子置于含有秋水仙碱培养基中培养, 使种子在发芽中逐渐诱变加倍, 得到了四倍体变异植株, 然后通过组织培养的方法获得大批量的再生植株。四倍体表现为茎粗、叶深绿、花大、叶大、花期长及抗逆性强等特点。陈柏君等^[23]应用组织培养技术对黄芩进行同源四倍体诱导, 先将诱导出的愈伤组织转到分化培养基上诱导芽, 长出绿色芽点时, 将带芽点的愈伤组织置于含有秋水仙素的培养基上培养, 或放入秋水仙素水溶液中浸泡一定时间后再进行培养, 均可诱发黄芩多倍体的产生, 但以后者效果较好, 诱导率可达 400%。艾建国等在 MS 培养基上添加秋水仙碱成功地诱导获

得了丹参四倍体株系^[24]。

中国已对桔梗^[25]、枸杞^[26]、白术^[27]和黄花蒿^[28]等药用植物进行了组织培养多倍体育种技术的研究。

5 原生质体融合

植物原生质体是没有细胞壁的裸露细胞, 裸露的原生质体彼此可以融合, 因此原生质体为细胞的遗传改良提供了新的可能性: 通过 2 种不同原生质体 (可以是种间、属间、科间) 融合成为杂种细胞, 可部分克服有性远缘杂交不亲和性, 从而获得体细胞杂种, 创造新种或育成优良品种, 这是利用组织培养技术进行药用植物育种最诱人的一个方面。迄今从原生质体培养成完整植株已近 100 种植物, 其中药用植物有石刁柏、石龙苗、南洋金花、颠茄等 10 余种。目前已从原来不能杂交的植物烟草和龙葵、曼陀罗和颠茄、胡萝卜和明党参等获得种间杂种和种内杂种植株^[29]。

6 胚乳培养

胚乳是被子植物双受精的产物, 由精细胞和 2 个极核融合而产生的, 是三倍性细胞, 通过胚乳培养在适宜的条件下能形成三倍体植株。由于三倍体的一些特性如生长或产量的优势、无籽等, 在育种上受到重视。通过四倍体和二倍体杂交, 也可产生三倍体, 但选育时间长, 而且由于四倍体往往育性很低, 因此难度较大。采用胚乳培养技术可一步成苗, 因此是一种值得注意的育种技术。此外, 三倍体植株往往表现出无籽, 这对某些药用植物是十分有益的性状, 例如山茱萸、枸杞等。胚乳培养已在枸杞^[30]、杜仲^[31]上获得成功。

7 诱变育种

在组织培养中, 植物体细胞经愈伤组织分化为再生植株过程中, 由于细胞经历了无数次有丝分裂, 因而在染色体水平上发生变异的几率大大增加。在离体条件下, 细胞容易发生核融合或核内复制, 同时, 容易受培养条件 (如培养基中的生长调节物质, 特别是 2, 4-D 能诱发染色体倍性变化) 和外界压力 (如射线) 的影响而发生变异, 这类体细胞无性系变异为育种提供了丰富的选择基础, 育种中可通过筛选突变体获得新的变异类型。组织培养应用于诱变育种, 可以提高突变率, 增加选择机会, 变异分离纯合速度快, 育种周期短, 效果好。在药用植物细胞培养中, 筛选次生代谢

产物高的体细胞突变系, 进而培养成高产细胞株是提高细胞培养产物的有效途径, 具有较大的潜力。

中国高产细胞株系的筛选工作已在少数药用植物中有报道, 用钴 60γ 射线照射诱变获得了三分三的愈伤组织变异体, 生长速率比亲本高 3 倍, 东莨菪碱含量高 30%^[17]。

8 基因工程育种

基因工程育种中要以组织培养为辅助手段。利用离体培养的植物组织、细胞及原生质体作为受体, 通过某种途径和技术将抗病、抗虫、抗除草剂等外源基因导入植物细胞, 并使其在受体细胞或再生植株中稳定保留和表达, 最后通过有性或无性繁殖传递给后代, 使转基因植物既保留原有的优良性状, 又增加一个新目的基因控制的性状。这对于只利用某一种次生代谢物的某些药用植物 (如灯盏花、黄花蒿), 只要提取工艺较好, 对产物鉴定无误, 就可消除人们对以转基因药用植物为原料药品的顾虑。

组织培养技术在药用植物育种研究领域的应用, 常与常规杂交育种、远缘杂交育种、诱变育种等育种方法相结合, 在各种抗性突变体的获得、优良恢复系的选育、育种周期的缩短以及在良种快繁、转基因药用植物的获得等方面产生了巨大的经济效益, 极大地提高育种效率。

参考文献:

- [1] 彭丽丽, 刘祥东, 刘华, 等. 白芨的组培快繁 (简报) [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5): 65.
- [2] 陈秀慧, 符文英. 白首乌离体快速繁殖的研究 [J]. 海南大学学报 (自然科学版), 1995, 13(2): 134~137.
- [3] 朱鹏飞, 毛文岳, 王殿久, 等. 三叶半夏组织培养获得再生植株 [J]. 植物生理学通讯, 1985(3): 28.
- [4] 石河子农学院蔬菜组. 大蒜组织培养研究初报 [J]. 新疆农业科技, 1981(5): 25~30.
- [5] 解晓红, 李江辉, 冯文龙, 等. 丹参组培快繁技术研究 [J]. 中药材, 2004, 27(7): 474~475.
- [6] 林春, 刘鸿高, 苏友波, 等. 灯盏花快速繁殖研究简报 [J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(3): 323~326.
- [7] 浩仁塔本, 赵颖. 东北红豆杉的组织培养技术研究 [J]. 内蒙古林业科技, 2004(3): 11~13.
- [8] 曹有龙, 陈放, 罗青, 等. 枸杞髓组织离体培养及高频率植株再生的研究 [J]. 广西植物, 1999, 19(3): 239~242.

- [9] 高山林,陈柏君.黄芩组织培养快速繁殖技术的优化[J].中草药,2004,35(3):312~315.
- [10] 马玉芳,许继宏.丽江山慈姑的组织培养及育种技术研究[J].中草药,2003,34(5):463~465.
- [11] 苗淑侠,杨继祥.人参组织培养成苗[J].植物生理学通讯,1987(1):30~31.
- [12] 刘瑞驹,蒙爱东,李春霞,等.三七胚状体发生和植株再生[J].植物生理学通讯,1991,27(3):210.
- [13] 陈薇,寸守铤.铁皮石斛茎段离体快繁[J].植物生理学通讯,2002,38(2):145.
- [14] 孙廷,杨玉珍,胡如善.金钗石斛的组织培养和快繁技术[J].河南科技大学学报(农学版),2004,24(3):35~41.
- [15] 阳建国.西洋参的组织培养及其应用前景[J].湖南农业科学,1999(1):31~32.
- [16] 林静,何毅.乌头组培快繁的技术探讨[J].贵州科学,1998,16(2):120~123.
- [17] 郑光植,何静波,王世林.药用植物组织培养的研究 V.生产速率和东莨菪碱含量皆高而稳定的变异系[J].植物生理学报,1983,9(2):23~28.
- [18] 苏新,方坚.浙贝母愈伤组织超低温保存的研究[J].中药材,1990,13(12):3~5.
- [19] 曹有龙,贾勇炯,陈放,等.枸杞花药愈伤组织细胞悬浮培养与植株再生[J].云南植物研究,1999,21(3):346~350.
- [20] 杜令阁,侯艳华,吕永兴,等.人参花药培养中再生植株的诱导[J].植物生理学通讯,1983(6):39~40.
- [21] 杜令阁,侯艳华,常维春,等.平贝母花粉植株的诱导及无性系的建立[J].遗传学报,1986,13(4):22~25.
- [22] 陈素萍,王莉,宋秀清.党参多倍体育种的研究[J].中草药,1991,22(5):224~227.
- [23] 陈柏君,高山林,卞云云.黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J].植物资源与环境学报,2000,9(1):9~11.
- [24] 艾建国,高山林.丹参同源四倍体的诱导、鉴定及有效成分的含量测定[J].药物生物技术,2003,10(6):372~376.
- [25] 高山林,舒雯.桔梗同源四倍体的诱导与鉴定[J].中药材,2002(7):4~5.
- [26] 秦金山,王莉,陈素萍,等.枸杞同源四倍体新物种类型的建立[J].遗传学报,1985(3):40~43.
- [27] 陈心旻,高山林,卞云云.白术同源四倍体的诱导和鉴定及其与二倍体过氧化物酶的比较[J].植物资源与环境学报,2003(1):17~21.
- [28] 寻晓红,蒋泰文,彭晓英,等.黄花蒿试管苗再生途径及多倍体诱发的研究[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2003(2):30~34.
- [29] 高山林.药用植物遗传育种的现状与展望[J].中药现代化,2001,3(6):58~62.
- [30] 王莉,陈素萍,秦金山.枸杞胚乳培养得到完整植株[J].植物生理学通讯,1984(2):35.
- [31] 朱登云,蒋金火,裴德清,等.由杜仲成熟干种子胚乳培养再生完整植株[J].科学通报,1997,42(5):559~560.