

药用植物组织和细胞培养 的研究及开发利用

邓锡青 刘瑞驹

(广西区药用植物园)(广西药科学校)

生物工程是国际上一门新兴的高技术学科。运用生物工程进行药用植物组织培养,将改变传统的生产方式,解决过去用常规生产方法所不能解决的问题,对中药的生产、科研、经营将会引起突破性的变革,前景十分广阔。

植物组织培养经过半个多世纪的历程,特别是五十年代后期“细胞全能性”被证实以后,有了突飞猛进的发展,这一新技术已渗透到植物学的各个分支学科之中。植物组织和细胞培养是既通向生产又通向分子生物学间的一座桥梁。如同基因工程和发酵技术一样,组织培养在生物工程中占有重要地位。

自1976年第一次国际药用植物会议在西德慕尼黑召开以来,在国际上掀起了一个研究药用植物组织培养的高潮。国际植物组织培养联合会每四年召开一次国际组织培养会议,迄今已开过五届。1978年8月在加拿大Calgary大学召开了第四届会议,有来自39个国家的540位科学家参加。1982年7月在日本东京举行的第五届国际植物组织培养会议,有来自57个国家和地区的660位科学家参加,可见植物组织培养在国际上已受到广泛的重视,在理论研究和实际应用方面都取得了一定的成绩,是生物科学中相当活跃的领域之一。

无性系快速繁殖和想用植物组织培养方法生产天然药物的研究是国内外植物组织培养应用研究的两大主流。

一、无性系快速繁殖

组织培养技术在促进花卉生产和农作物去病毒方面已取得了异乎寻常的成功。从1960年Morel运用组织培养方法再生兰花至今,在世界范围内的兰花工业迅猛发展,已形成了完整的兰花工业体系,使兰花栽培发生了根本性的变化,对人们的生活和世界经济带来重大影响。兰花工业主要是建立在植物组织培养研究成果的基础之上,无性快速繁殖技术是其最重要的手段,它开创了组织培养技术实用化的先例。

通常的作法是将植物的茎、芽、叶等外植体放在人工合成培养基上进行无菌培养,通过原球茎、器官发生或胚状体途径可以再生形成完整植株。到目前为止,我国药用植物获得试管苗的有:人参、罗汉果、川芎、当归、青蒿、紫背天葵、白芨、党参、延胡索、番红花、

毛唇芋兰、铁皮石斛、霍山石斛等100多种,其中近年来通过各级技术鉴定会的成果有,广西植物所罗汉果组织培养,吉林农大特产系人参花丝植株培养,安徽农学院等霍山石斛组织培养。

试管苗具有繁殖系数高,不受季节的限制等优点。当然,并不是每一种植物都必须经过试管苗的方式进行繁殖。但对于那些珍贵稀有的、濒于灭绝的、医疗效果好的、市场需要量大而又一直供不应求的药用植物种类来说,该方法显示出巨大的优越性。如罗汉果的优良品种长滩果,果形好,果大,为出口创汇的主要品种,若采用常规的压条繁殖方法是难以提供充足的种苗的,而采用试管苗方法就可以提供大量高质量的种苗;濒危珍贵药用植物铁皮石斛,由野生变栽培,首先就遇到种苗问题,也只有通过胚培养、茎节培养的方法才能得到大量种苗,如果采用普通在土壤中播种育苗的方法,是解决不了种苗问题的。

试管繁殖之前,先进行茎尖培养和热处理得以去除病毒,从而获得去病毒植株。这样的种苗,长得壮、产量高、质量好。我国山东大学和菏泽地区医药公司参照防止马铃薯退化措施,通过茎尖培养、快速繁殖和病毒检定,解决了地黄退化病毒和地黄黄斑病毒。怀地黄去病毒后,块茎产量显著提高,块茎整齐、粗壮,呈纺锤形,单株重210克。而对照组块茎不整齐、细长形、纤弱,单株仅重67克。在药用植物栽培中所谓品种退化产量下降的现象比较普遍,去病毒植株的培养技术具有一定的实际应用价值。当然,去除了病毒的植株并不能阻止病毒的重新感染,为此还必须建立相应的生产去病毒植物的基地,药用植物试管苗工厂化商品化生产的要求,不仅是迅速、大量、品种一致地为生产提供高质量的种苗,而且也应该是去病毒的种苗。

二、植物次生代谢产物的研究

1. 国外研究概况及发展趋势

在研究对象上,现多侧重于抗癌药用植物(如长春花、三尖杉等)、价值昂贵的药用植物(人参、罂粟、洋地黄)和有近期应用价值的植物(黄连、紫草、金鸡纳),这些都是为了工业生产应用进行的研究。

在利用组织培养技术生产天然药物的研究上,大致包括三个方面:(1)植物组织和细胞培养可用于产生次生代谢产物,即利用细胞悬浮培养某些药用植物细胞,进行工业生产提取药物。人参细胞粗皂甙含量可达干重的21%,远高于人参根4.1%的含量,紫草细胞紫草色素含量为重的12%,而原植物根中只含1.5%。现在,人参、紫草素、黄连素等已实现工业生产。(2)用植物细胞培养可进行某些化合物的转化,使它们转变为更有用的药物。这种过程称为生物转化作用,它被认为是植物组织培养在生物工程方面最有希望的领域。西德Reinhard用毛花洋地黄细胞将洋地黄毒甙几乎全部转化为地戈辛,现已进行工业生产。(3)植物细胞培养还可能是新的活性物质的一个来源,通过对各种植物的细胞培养,进行药理筛选,有可能发现作为药用的新物质。

在基础工作和培养技术上,针对植物细胞生长速度慢、培养细胞中的有效成分含量比原植物低和细胞株系不稳定,重视基础工作和培养技术的改进。(1)反复筛选,建立高产细胞株。通过平板培养进行细胞株系的筛选,并应用放射免疫测定法可以有效地帮助筛选细胞。

如：在5000毛花洋地黄细胞株中，含有异羟基毛地黄毒甙配基糖甙的高产细胞，在频率分布上仅占群体的很小部分（<1%）；Fukui等报告，经过反复筛选得到稳定和高产的黄连细胞株，小蘗碱产量达10%；Tabata得到的紫草高产细胞株，含紫草素为12%。（2）诱变处理选择优良细胞株，增加前体物质提高产量。Watanabe用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线处理薰衣草细胞培养物分离出一细胞株，其含游离生物素比亲本植物完整叶片中的含量高6倍。Constabel通过诱变选得长春花细胞株，使其中三种生物碱的含量从1.3%提高到6.3%。Kaul等在三角叶薯蓣细胞培养中，在培养液中加入适量的胆固醇，薯蓣皂甙元的含量可由1.5%提高到2.5%。（3）两步培养法的建立。Fujita用两步培养法生产紫草素，第一步把经过筛选的细胞培养在适应于细胞增殖的LS培养基中，在培养物达到一定生物学产量后，第二步转入White培养基，细胞增殖减慢，但能合成较多的紫草素及其衍生物，产量高达13%，而单级培养则不产生紫草素。

2. 我国的现状及进展

我国在这方面的研究仅处于起步阶段，全国只有为数不多的单位进行人参、西洋参、三分三、毛花洋地黄、地不容等重要药用植物的组织培养研究。

早在60年代初，罗士韦教授就已进行过人参和曼陀罗的愈伤组织培养的研究，可惜后来因故中断了。1978年起，朱蔚华等和丁家宜等相继报道了他们各自的人参组织培养及其有效成分的研究工作。朱蔚华等测定人参愈伤组织中人参皂甙含量为4.06%。丁家宜报道了固体培养的皂甙含量达22%（干重），是原药材人参的五倍左右。

我国在高产细胞株的筛选方面工作开展不多。丁家宜首次用平板培养对人参细胞株进行选择，并用对人无毒无副作用的生长刺激剂取代2,4-D，筛选出长势快的781-2细胞株，其结果证明对细胞产量无不良影响，而产品粗皂甙含量则大幅度地提高。因此，完全可以取代2,4-D，消除人们对其毒害的后顾之忧，关于细胞悬浮培养中若干条件对细胞产量和培养物中粗皂甙含量的影响，做了系统深入的研究，为探索工业化生产试验研究提供了依据。丁家宜在人参细胞悬浮培养研究工作中所取得的进展，是我国近年药用植物次生代谢产物研究领域第一个通过鉴定的成果，并选定为1984年第二次中日天然药物学术讨论会上中方的对外交流论文报告。它标志着我国药用植物人参组织培养已达到国际同行水平。

郑光植在三分三、蓼莪木、三七组织培养研究中做了许多工作。张荫麟对人参、西洋参、延胡索、泡囊草等组织培养进行了探讨，在培养技术上，设计了一种新的培养容器，用塑料泡沫作支持进行液体静置培养，获得较好的效果。这种方法能满足较大量供样要求。

充分利用我国丰富的中草药资源，通过组培技术生产有用的药物，这是一个具有相当潜力的研究领域。

三、对我区药用植物组织培养的设想和建议

我区植物组织培养研究工作起步较晚，由于党的重视和科技工作者的努力，短短几年就取得了可喜的进展，如甘蔗、桉树、油茶、罗汉果、苕麻、菠萝和观赏植物已建立无性繁殖系。这些成果有的已应用于生产，有的项目在国内处于领先地位。但总的来看，我们的工作尚不能适应形势发展的需要，与国际先进水平比，还有很大差距。但是，我区已积累了不少

经验,工作是有基础的,只要规划和安排得当,通过各个方面的密切配合和努力,完全可以为振兴广西经济,进一步赶超国内外先进水平做出更大贡献。设想在“七五”期间到本世纪末应达到以下要求:

1. 药用植物组织培养应以应用研究为主,根据我区的特点和条件,重点放在濒危、珍贵药用植物的无性系快速繁殖上。对已取得初步成果的,要抓紧解决试管苗移栽和配套栽培技术问题。

2. 药用植物去病毒植株的培养。针对中药材上普遍存在的产量降低,质量下降的种类,开展这方面的工作,以便为中药供不应求,品种混乱,质量低劣等问题的解决做贡献。

3. 应用现代生物技术,研究药用植物组织和细胞培养,寻找开发新药。我国中草药植物资源有5000余种,是世界上发掘和利用植物药材最多的国家。广西地处热带,亚热带,药用植物资源十分丰富,广西产的药用种类就有3623种,这是我区很大的资源优势。由于合成药品在医疗上的副作用,近年来,国外医药学界对我国传统中医、中药和药用植物资源产生极大兴趣,很希望与我国合作开发。因此,应用组培技术开发和生产天然药物的前景是广阔的。

建议:

1. 人才的培训和专业队伍建设。我区过去主要以研究无性快速繁殖为主,而从事细胞培养的科技人员寥寥无几,人才缺乏,水平有限。当务之急,一是要稳定队伍,对现有科技人员,通过学习或培训,知识更新,进一步提高业务水平和专业技能;二是要对专业不对口的专业人员尽快进行调整;三是引进培养新的人才。

2. 对现有实验设备要配套、要改造。如在试管苗的应用上,虽有成就,但对生产所起的作用,有的还不够大,不够多,诸如培养室与苗床网房不成比例;我们培养室的条件差,而澳大利亚的培养室所采用二级过滤超净设备,所以采用大瓶堆叠培养污染能得以控制。为降低试管苗的生产成本,节约能源,利用日光能或光导纤维,培养室的改造,特别是新建的,应注意到这个问题。

3. 为了迅速缩小与国际先进水平的差距,应选派中青年科技人员到日本、西德学习,迅速掌握先进的研究技术和测试手段。

4. 要加强学科之间的协同攻关。药用植物组织培养这一研究,涉及到植物生理学、遗传学、栽培学、药物化学以及有机化学、发酵工艺等多个学科,应该在科委的组织和领导下,各学科协同攻关,并加强情况交流,为早日将我区药用植物组织培养出成果做出贡献。