

云南大学“211工程”重点学科建设项目资助

药用植物

组织培养技术



许继宏 马玉芳 著
陈锐平 宋 敏

中国农业科学技术出版社

云南大学“211工程”重点学科建设项目资助

药用植物组织培养技术

许继宏 马玉芳 著
陈锐平 宋 敏

中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

药用植物组织培养技术/许继宏等著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2003.5

ISBN 7-80167-506-1

I. 药… II. 许… III. 药用植物-组织培养
IV. S567.035.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 017974 号

责任编辑

责任校对

出版发行

经 销

印 刷

开 本

印 数

版 次

定 价

鲁卫泉

马丽萍

中国农业科学技术出版社

(北京市中关村南大街 12 号 邮编:100081 电话:62189012)

新华书店北京发行所

北京鑫海达印刷厂

850mm×1168mm 1/32 印张:11.75

1~1 300 册 字数:380 千字

2003 年 5 月第 1 版

38.00

前 言

药用植物组织培养是在中药现代化要求下发展起来的实用生物技术。将组织培养技术应用于药用植物的种苗繁殖，是更好实现中药 GAP 栽培的重要措施。

中药是祖国医药传统文化的组成部分，它不仅要为祖国人民医疗事业服务，还应对世界医学做出贡献，根据我国制药工业的发展，不少企业试图打入国际医药主流市场，不少外国制药企业也要求供应标准化的中药原料。这些都要求中药生产必须规范化与规模化，即按照 GAP 生产药材。我国是资源大国，药物资源丰富多样，且具有悠久的医药文化历史，我们应在传统药物的研究与开发，特别是中药现代化方面，建立完整的标准化体系，为国际传统药物树立典范。中药标准化是中药现代化和国际化的基础和先决条件。中药标准化包括药材标准化、饮片标准化和中成药标准化。其中中药材标准化是基础，没有中药材的标准化就不可能有饮片及中成药的标准化。而中药材的标准化有赖于中药材生产的规范化，我们知道不同栽培技术以及采收、加工等方法都会影响中药材的产量和质量。而更重要的是药用植物的不同种质可以影响所有的生产环节和药材质量，如：延龄草科的重楼属 *Paris* 就有许多种，种的不同在有效成分含量上和栽培管理上就有很大的差异，通过野生挖采、人工驯化、栽培、繁殖，不仅不能实现大规模栽培，更谈不上 GAP，也是对药用植物资源的一种破坏，药用植物灯盏花和许多药用植物都存在同样的问题。所以要实现中药现代化，促进中药更广泛地走向世界。中药材的栽培生产是中药药品研制、生产、开发和应用整个过程的第一车间，而栽培中只有首先抓住种苗的种质才算管住了源头，才能从根本上解决中药的质量问题和中

药标准化和现代化问题。

实施《中药材生产质量管理规范》(GAP),使中药材按 GAP 生产,走向产业化,不仅仅是制药企业和医疗保健事业的需要,也是农民致富的一条道路。为了开发、保护药用植物资源,利用组织培养技术生产优质药材种苗,真正实现 GAP 栽培,我们编写了该书,药用植物组织培养将是中药资源可持续利用的基本对策。

该书是介绍药用植物组织培养的实用性专著,著者主要依据各自的研究成果,或亲自实践过的方法,并广泛参阅组培文献资料,编著了本书。内容侧重试管苗的快速繁殖应用,力图通过大量的具体实例,阐明药用植物组织培养的基本理论、基本技术和基本方法。希望该书对中药材的 GAP 栽培和规模化生产有所助益。

限于水平,加之仓促写作,错漏之处在所难免,敬请读者不吝赐教,给予批评指正。

许继宏
2003 年 1 月

目 录

绪 论	(1)
1 凤尾蕨科	(19)
1.1 蜈蚣草(19)	
2 鳞毛蕨科	(20)
2.1 镰羽贯众(20)	
3 红豆杉科	(21)
3.1 云南红豆杉(21)	
4 麻黄科	(24)
4.1 草麻黄(24)	4.2 中麻黄(25)
5 番荔枝科	(27)
5.1 刺果番荔枝(27)	
6 樟科	(28)
6.1 山姜子(28)	
7 三白草科	(29)
7.1 鱼腥草(29)	
8 小檗科	(30)
8.1 黄连(30)	8.2 铁棒锤(32) 8.3 乌头(33)
9 金缕梅科	(34)
9.1 枫香(34)	
10 杜仲科	(36)
10.1 杜仲(36)	
11 桑科	(37)
11.1 桑树(37)	11.2 啤酒花(38) 11.3 无花果(40)
12 荨麻科	(41)
12.1 粗齿冷水花(41)	
13 商陆科	(43)

- 13.1 美洲商陆(43)
- 14 番杏科** (44)
- 14.1 番杏(44)
- 15 粟米草科** (45)
- 15.1 粟米草(45)
- 16 石竹科** (47)
- 16.1 太子参(47) 16.2 旱麦瓶草(48) 16.3 金铁锁(49)
- 17 蓝雪科** (50)
- 17.1 二色补血草(50)
- 18 蓼科** (51)
- 18.1 竹节蓼(51) 18.3 虎杖(54) 18.4 金荞麦(55)
- 18.2 何首乌(52)
- 19 芍药科** (57)
- 19.1 牡丹(57)
- 20 藤黄科** (60)
- 20.1 贯叶连翘(60) 20.3 金丝桃(61) 20.4 元宝草(62)
- 21 番木瓜科** (64)
- 21.1 番木瓜(64)
- 22 葫芦科** (65)
- 22.1 王瓜(65) 22.2 土贝母(67) 22.3 栝楼(68)
- 23 十字花科** (70)
- 23.1 菘蓝(70) 23.2 播娘蒿(72)
- 24 景天科** (73)
- 24.1 景天(73) 24.2 凹叶景天(75)
- 25 蔷薇科** (76)
- 25.1 龙芽草(76) 25.5 皱皮木瓜(81) 25.9 粉花绣线菊(86)
- 25.2 月季花(77) 25.6 山杏(82) 25.10 甜茶(87)
- 25.3 楤桤(78) 25.7 刺梨(84)
- 25.4 扁桃(79) 25.8 刺玫蔷薇(85)
- 26 锦葵科** (88)
- 26.1 苘麻(88)

27	大戟科	(90)
27.1	变叶木(90)	27.3 乌桕木(92)
27.2	麻疯树(91)	27.4 红雀珊瑚(93)
28	猕猴桃科	(94)
28.1	中华猕猴桃(94)	
29	山茶科	(96)
29.1	山茶花(96)	
30	蝶形花科	(97)
30.1	山槐(97)	30.5 三裂叶野葛(102)
30.2	草木樨状黄芪(98)	30.6 槐树(103)
30.3	内蒙古黄芪(100)	30.7 苦参(104)
30.4	补骨脂(101)	30.8 甘草(105)
30.9	刺槐(106)	30.10 黎豆(107)
31	胡颓子科	(109)
31.1	沙枣(109)	31.2 牛奶子(111)
31.3	沙棘(113)	
32	桃金娘科	(114)
32.1	互叶白千层(114)	
33	石榴科	(115)
33.1	石榴(115)	
34	柳叶菜科	(116)
34.1	月苋草(116)	
35	野牡丹科	(117)
35.1	野牡丹(117)	
36	远志科	(118)
36.1	远志(118)	
37	卫矛科	(120)
37.1	大叶黄杨(120)	37.2 美登木(121)
38	瑞香科	(122)
38.1	瑞香(122)	38.2 结香(123)
39	凤仙花科	(124)
39.1	凤仙花(124)	
40	冬青科	(125)

- 40.1 苦丁茶冬青(125)
- 41 鼠李科 (127)
- 41.1 酸枣(127) 41.2 枣(129) 41.3 北枳椇(132)
- 42 葡萄科 (133)
- 42.1 乌敛梅(133)
- 43 无患子科 (134)
- 43.1 龙眼(134) 43.2 文冠果(138)
- 44 苦木科 (139)
- 44.1 臭椿(139)
- 45 楝科 (140)
- 45.1 楝(140) 45.2 香椿(141)
- 46 芸香科 (143)
- 46.1 裸芸香(143) 46.3 秃叶黄皮树(146) 46.5 花椒(149)
- 46.2 黄柏(144) 46.4 青椒(147) 46.6 枳壳(150)
- 47 牻牛儿苗科 (151)
- 47.1 香叶天竺葵(151)
- 48 旱金莲科 (153)
- 48.1 金莲花(153)
- 49 五加科 (154)
- 49.1 人参(154) 49.3 三七(158) 49.5 辽东楸木(161)
- 49.2 竹节参(157) 49.4 西洋参(160) 49.6 刺楸(162)
- 50 伞形科 (163)
- 50.1 狭叶当归(163) 50.3 明党参(166) 50.5 川芎(168)
- 50.2 白芷(164) 50.4 防风(167)
- 51 柿树科 (171)
- 51.1 柿树(171)
- 52 龙胆科 (173)
- 52.1 粗茎秦艽(173) 52.2 白花假龙胆(175) 52.3 黄花川西獐牙菜(177)
- 53 马钱科 (178)
- 53.1 驳骨丹(178) 53.2 蓝花大叶醉鱼草 (179)

- 54 报春花科** (181)
54.1 黄莲花(181)
- 55 夹竹桃科** (182)
55.1 长春花(182) 55.2 大叶白麻(183) 55.3 罗布麻(184)
- 56 茜草科** (186)
56.1 大花栀子(186) 56.4 玉叶金花(191) 56.6 白花蛇舌草(195)
56.2 六月雪(187) 56.5 红芽大戟(192) 56.7 巴戟天(197)
56.3 茜草(188)
- 57 木樨科** (198)
57.1 粗壮女贞(198) 57.2 桂花(200) 57.3 连翘(200)
- 58 萝藦科** (201)
58.1 徐长卿(201)
- 59 茄科** (203)
59.1 漏斗泡囊草(203) 59.3 宁夏枸杞(205) 59.4 枸杞(209)
59.2 珊瑚樱(204)
- 60 紫草科** (211)
60.1 新疆紫草(211) 60.2 黄花紫草 (213)
- 61 马鞭草科** (214)
61.1 蔓荆(214)
- 62 唇形科** (215)
62.1 猫须草(215) 62.4 黄芩(218) 62.7 鞘蕊花(223)
62.2 丹参(216) 62.5 广藿香(220) 62.8 丁香罗勒(224)
62.3 溪黄草(217) 62.6 地椒(222) 62.9 红根草(225)
- 63 车前科** (226)
63.1 车前(226)
- 64 玄参科** (229)
64.1 玄参(229) 64.2 地黄(230) 64.3 金鱼草(231)
- 65 桔梗科** (232)
65.1 党参(232) 65.2 桔梗(234)
- 66 忍冬科** (236)
66.1 金银花(236) 66.2 接骨木(238)

- 67 爵床科** (240)
67.1 穿心莲(240)
- 68 败酱科** (241)
68.1 败酱(241) 68.2 阔叶缬草(242)
- 69 菊科** (244)
69.1 珍珠菜(244) 69.7 大吴风草(251) 69.13 雪莲花(259)
69.2 蜂斗菜(245) 69.8 魁蒿(253) 69.14 茅苍术(260)
69.3 红花(246) 69.9 黄花蒿(254) 69.15 菊三七(262)
69.4 山萸苣(247) 69.10 白术(256) 69.16 菊芋(263)
69.5 菊苣(248) 69.11 紫菀(257) 69.17 灯盏花(264)
69.6 甜叶菊(249) 69.12 西藏绵头雪莲(258) 69.18 菊花(266)
- 70 姜科** (269)
70.1 阳春砂仁(269) 70.3 山奈(271) 70.4 生姜(272)
70.2 郁金(270)
- 71 天南星科** (275)
71.1 芋(275) 71.4 白魔芋(278) 71.6 半夏(280)
71.2 滴水珠(277) 71.5 魔芋(279) 71.7 掌叶半夏(282)
71.3 花叶万年青(278)
- 72 鸭跖草科** (283)
72.1 珍珠露水草(283)
- 73 泽泻科** (284)
73.1 华夏慈姑(284)
- 74 百部科** (286)
74.1 百部(286)
- 75 禾本科** (287)
75.1 白茅(287) 75.2 薏苡(290)
- 76 百合科** (291)
76.1 石刁柏(291) 76.6 浙贝母(296) 76.11 百合(303)
76.2 嘉兰(293) 76.7 平贝母(297) 76.12 羊齿天门冬(304)
76.3 山丹(294) 76.8 华西贝母(299) 76.13 虎眼万年青(305)
76.4 川贝母(295) 76.9 知母(300) 76.14 沿阶草(307)
76.5 皖贝母(296) 76.10 野百合(301) 76.15 丽江山慈姑(308)

76.16	玉竹(309)		
77	芦荟科		(311)
77.1	中国芦荟(311)	77.2	木立芦荟(312)
78	石蒜科(315)		
78.1	小花龙血树(315)	78.3	石蒜(317)
		78.4	韭莲(317)
78.2	中国水仙(316)		
79	鸢尾科		(319)
79.1	射干(319)	79.2	唐菖蒲(320)
		79.3	鸢尾(321)
80	龙舌兰科		(322)
80.1	铁树(322)		
81	蒟蒻薯科		(323)
81.1	蒟蒻薯(323)		
82	薯蓣科		(325)
82.1	薯蓣(325)	82.2	盾叶薯蓣(328)
		82.3	菊叶薯蓣(329)
83	芭蕉科		(330)
83.1	地涌金莲(330)		
84	兰科		(332)
84.1	天麻(332)	84.4	霍山石斛(337)
		84.7	金线莲(343)
84.2	白芨(335)	84.5	铁皮石斛(339)
		84.8	台湾金线莲(345)
84.3	毛唇芋兰(336)	84.6	曲茎石斛(341)
附 录			(347)
主要参考文献			(357)

绪 论

0.1 概 述

我国是药用植物资源最丰富的国家之一。据记载,我国可供药用的植物有 5000 多种,其中较常用的有 500 多种,且需要量大,主要依靠人工栽培的有 250 多种。我国劳动人民在长期同疾病作斗争的过程中,对多种植物的药用功效均有许多研究,并印刷出版了一批宝贵的中草药专著,如唐代名医陈藏器的《本草拾遗》,明代著名药学家李时珍的《本草纲目》,清代名医赵学敏的《本草纲目拾遗》等等。然而,由于长期以来盲目采挖,再加上自然环境的破坏以及繁殖和栽培技术未及时跟上等方面的原因,有许多重要的药用植物的天然生产量极少,故供应已十分困难,例如天麻、杜仲、贝母等。据不完全统计,奇缺的中药有 100 多种,其中有些甚至被国家列为濒危、稀有植物,如海南大枫子、海南粗榧、药用野稻、见血封喉等等。在药用植物资源日趋减少的情况下,如果试图用化学合成手段来生产植物性药物,往往因技术、成本、劳保及临床应用上的抗药性(如喜树碱、氯喹啉)等问题而受到种种限制。因此,人们只好将注意力转向人工栽培药用植物,或者通过组织或细胞培养手段来生产药物。但是,在人工栽培的药用植物中,有不少名贵药用植物,如人参、黄连等,生产周期很长,如果常规方法育种或育苗,则需要花费很长时间。另有一些药用植物则繁殖系数小,耗种量大,严重影响了发展速度并增加了生产成本,例如贝母和番红花的情况就是如此。还有一些药用植物,如地黄、太子参等等,由于病毒为害而退化,严重影响产量和品质。特别是有一些价格昂贵的药用植物资源极少,生长缓慢,如黑节草等等;一些进口南药因种苗奇缺而影响扩大生产,如乳香等。植物组织培养是 20 世纪发展起来的一门新技术。特别是近二三十年来由于组织培养基础理论研究的深入,发展更为迅速,应用范围也越来越大,

发表的文献浩如烟海，几乎以植物为研究对象的各个分支学科都在广泛地进行组织培养。它所牵涉的学科有细胞学、细胞生物学、分子生物学、遗传学、育种学、生理学、生物化学、药理学以及农业、园艺、森林等等。植物组织培养可以说是掀开了细胞生物学的新的一章。

药用植物组织培养是在中药现代化要求下发展起来的。中药现代化是指将传统中药的特色和优势与现代科学技术相结合，全面推进实施药材 GAP《中药材生产质量管理规范》工程，生产出符合国际标准的药材，适应当今社会发展需求。中药现代化是中药国际化的必要基础，中药国际化是中药现代化的重要目标。符合并达到国际主流市场对产品的标准和要求，可以在国际上广泛流通。

生物多样性保护已成为国际社会瞩目的重大环境问题之一，同时亦是事关中药生存与发展的大事。药用植物组织培养将是中药资源可持续利用的基本对策。

0.2 药用植物组织培养的优点

(1) 快速繁殖，短期满足大量需求 组织培养的最大优点在于短期内能用较少的材料繁殖大量优质种苗，具有用材少、周期短、速度快等特点。由于可人为控制培养条件，根据不同植物不同离体部位的不同要求而提供不同的培养条件，因此生长很快，往往 10~40 天即为一生长周期。所以，虽然药用植物组织培养需一定的设备及能源消耗，但由于植物材料能按几何级数大量繁殖生产，故还是成本低廉，利于工厂化生产，能及时提供规格整齐一致的优质、无病毒的药用植物种苗。

(2) 单株培养，无性系遗传性状一致 利用高产单株进行药用植物的组织培养，可避免由于遗传原因造成的含量不稳定，质量难控制等问题。

(3) 获得无病植株 一些药用植物，如天麻、百合等，用常规无性繁殖，易导致病毒累积，使品种退化，影响药材质量，用组织培养技术可获得无病毒植株。

(4) 集约化生产，利于自动化控制 药用植物组织培养是在一定

的环境条件下,人为提供一定的温度、光照、湿度、营养、激素等条件,进行高度集约化的生产,实现了药用植物的工厂化生产,使生产微型化、精密化,节约空间,节省人力物力,管理方便,大大提高了经济效率,利于进行自动化控制生产。

(5) 科学生产,条件可控误差小 药用植物组织培养是高密度科学培养生产,用培养基代替了土壤,各种营养成分、环境条件等完全可控,试验处理易于安排调配,处理间误差很小;而且进行无菌生产,摆脱了微生物的侵染及各种化学物质残留,生产的中药材是真正无公害药材。

(6) 周年生产,不受季节限制 药用植物的组织培养是在人为提供的培养基质及小气候环境条件下进行生长的,摆脱了大自然中四季、昼夜变化及灾害性气候的影响,温度、光照等完全可控,条件均一,对植物生长有利,便于稳定地进行周年培养生产,不受时间、季节限制。

(7) 种质资源的保存 很多无性繁殖的药用植物因没有种子供长期保存,其种质资源传统上只能在田间种植保存,耗费人力物力,且资源易受人为因素和环境因素而丢失。而用组织培养方法,可大大节省人力、物力,大大延长保存期。

0.3 药用植物组织培养中常见的问题及解决的方法

(1) 玻璃化现象 玻璃化是试管苗的一种生理失调症状。当植物材料进行离体繁殖时,有些培养物的嫩茎、叶片往往会出现半透明状和水渍状,这种现象即称为玻璃化(Vitrification)。在形态解剖特征上玻璃化苗表现为茎叶半透明状,整株矮小肿胀、失绿;茎叶片皱缩成纵向卷曲,脆弱易碎;叶表缺少角质层蜡质,没有功能性气孔,不具有栅栏组织,仅有海绵组织,尖顶端分生细胞较小,结构简单缺少维管束原组织,茎叶细胞体积膨大,液泡化程度高,胞质稀薄,细胞核变小,细胞无明显长轴等现象;在生理生化特征上,玻璃苗的细胞过度含水,还原糖、蔗糖、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 含量明显高于正常水平,而木质素、叶绿素、蛋白质、肌醇、 Fe^{3+} 和 Cu^{2+} 的含量则明显低于正常水平。出现玻璃化的茎,叶表面完全无蜡质,而酯和极性化合物较

高，导致细胞丧失持水能力，细胞内水分大量外渗，增加了植株水分的散失和蒸腾，极易引起植株死亡，且不能移栽成活。玻璃化现象在菊花、石斛等药用植物的组织培养中均有发生。

众多的研究表明，影响玻璃化现象发生的原因有激素水平、培养温度、湿度培养基硬度、光照时间、碳源供应状况、无机盐和离子浓度等方面。

①激素水平。激素包括生长素和细胞分裂素。激素浓度一方面指细胞分裂素的绝对浓度，另一方面是两种以上激素的比例。高浓度的细胞分裂素有利于促进芽的分化，也会使玻璃化的发生比例提高。每种植物发生玻璃化的激素水平都不相同，有的品种在 $6-BA$ $0.5mg/L$ 时就有玻璃化发生；另一些种类在特定阶段可以忍受较高的细胞分裂素浓度，而在另一阶段的培养中，却只需要较低的浓度。细胞分裂素与生长素的比例失调，也会导致玻璃化的发生。

②温度。温度主要影响苗的生长速度。温度升高时，苗的生长速度明显加快，高温达到一定限度后，会对正常的生长和代谢产生不良影响，促进玻璃化的产生；变温培养时温度变化幅度大，忽高忽低的温度变化容易在瓶内壁形成小水滴，会增加瓶内湿度，提高玻璃化发生率。

③湿度。包括瓶内的空气湿度和培养基的含水量。瓶内湿度与通气条件密切相关。使用有透气孔的膜或通气较好的滤纸、牛皮纸封口时，通过气体交换瓶内湿度降低，玻璃化发生率减少。相反，如果用塑料瓶盖、不透气的封口膜、锡箔纸封口时，不利于气体的交换，瓶子内处于不透气的高湿条件下，苗的生长势快，但玻璃化的发生频率也相对较高。一般来说在单位容积内，培养的材料越多，苗的长势越快，玻璃化出现的频率就越高。

④培养基硬度 培养基的硬度由琼脂用量决定。随琼脂浓度的增加，玻璃化的比例明显减少，但过多时培养基太硬，影响养分的吸收，使苗的生长速度减慢。另外，pH 值也影响培养基的硬度，一般培养基的 pH 值都在 $5.4 \sim 6.2$ ，过酸时会造成琼脂不凝固，过碱时会使一些营养成分沉淀。进行液体培养时，需通过摇床来振荡通气，否

则材料被埋在水中，很快就会玻璃化或窒息死亡。对容易发生玻璃化的品种进行接种时，要尽量减少在水中浸泡的时间，做到随洗随灭，漂洗后马上接种。特别对一些草本植物，幼嫩的组织在长时间的灭菌和清洗后很容易水渍状，继而产生玻璃化，这种材料在光照很强的日光下培养几天，可适当得到缓解，细胞组织逐渐充实并逐步转绿。

⑤光照时间。增加光照强度可以促进光合作用，提高碳水化合物的含量，使玻璃化的发生比例降低。光照不足再加上高温，极易引起组织培养苗的过度生长，加速玻璃化发生。多数植物在光照时间10~12小时，强度1500~2000lx时能够正常的生长和分化。光照强度较弱时，可通过延长时间进行补偿。

⑥培养基成分。培养基中的各种矿质营养，对促进培养物的生长和发育有积极的作用，但是，各营养之间存在平衡，若失去平衡，可使玻璃化发生频率增加。一般认为提高培养基中的碳氮比，可以减少玻璃化的比例。

以上玻璃化苗发生的原因，可采取以下方法解决：增加琼脂浓度，提高培养基的硬度，减少水分吸收；增加蔗糖含量及加入渗透剂，降低培养基水势，减少水分吸收；减少培养基中含氮化合物的用量；使用透气性的封口膜，增强容器通风，降低瓶内湿度及乙烯含量，增加培养瓶中CO₂浓度；增强光照，适当降低培养室内温度；正确调配培养基中激素比例，降低培养基中细胞分裂素的用量。

(2) 褐化现象 褐化是指在组织培养过程中，由培养材料向培养基中释放褐色物质，致使培养基逐渐变成褐色，培养材料也随之慢慢变褐死亡的现象。从已有报道来看，组织培养过程中褐化现象的发生是由于建立外植体无菌系时，切口附近的细胞受到伤害，破坏了酚类化合物和多酚氧化酶的分隔状态，使得酚类化合物和多酚氧化酶相遇，被氧化形成褐色的醌类化合物，醌类化合物在酪氨酸酶的作用下，进一步与外植体中的蛋白质发生聚合，引起其他酶系统失活，导致组织代谢活动紊乱，生长受阻，最终逐渐衰老死亡。

影响褐化现象的因素较多，主要有植物种类、基因型、外植体年龄、取材时间、取材部位及大小、外植体消毒方式、培养基成分及培