

• 专论 •

生物工程技术与药用植物资源保护

高文远¹, 肖培根^{2*}

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

摘要:随着我国中医药产业的快速发展及世界范围内天然药物的不断发展,国内外对中药资源的需求迅速增加,使我国中药资源的消耗加大,给濒危的药用植物资源带来毁灭性的危险。中药材栽培和野生抚育等手段不能完全解决资源的压力问题,生物工程技术可以在解决中药资源紧缺的问题上发挥作用。采用生物技术中的快速繁殖技术,可以达到快速生产优质种苗的目的。一种方法是通过愈伤组织诱导出种苗的地上部分和根,形成许多小的植物株;另一种方法是利用体细胞胚的途径,由体细胞胚再形成大量的小植株,形成的这些植物株可以用于栽培和野生抚育增加种群数量。利用生物工程技术,在反应器中培养药用植物的细胞、组织或者器官,可以直接快速地获得药用植物的活性成分,节约对原料药材的使用;同时在大规模培养条件下,生产成本可以大大降低。生物工程技术在药用植物资源上的应用,特别是对濒危药用植物资源保护方面的应用,对中国有着特殊的意义,一方面中药资源是整个中医药的基础,另一方面中国是世界上使用和出口药用植物原料最多的国家。

关键词:药用植物;濒危资源;生物工程;快速繁殖;组织培养

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)07-0961-04

Application of bioengineering technology to protection of endangered medicinal plant resources

GAO Wen-yuan¹, XIAO Pei-gen²

(1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

Abstract: Along with the progress of Chinese pharmaceutical industry, as well as the development of natural products in the world, the need of medicinal plant resources is increasing, which results in the ruinous destruction of endangered medicinal plants. The field cultivation and wild tending cultivation could not solve all the resource problems and the help with bioengineering technology will be needed in this field. Micropropagation could quickly supply the shoots with good quality medicinal plants by two ways, the shoot and root induction through callus or the other is shoot development by somatic embryos. The regenerated shoots could be transferred into the field for the base of field cultivation or tending cultivation. In addition, the active compounds could be produced by the cultivated medicinal plant cells, tissues, or organs in bioreactor, which could decrease the cost at industrial level. In China, the bioengineering technology should be developed and applied to the medicinal plants development, because the most resources to support the whole traditional Chinese medicine will be utilized, moreover, in China the most amount of extracts from medicinal plants are used and exported all over the world.

Key words: medicinal plant; endangered resources; bioengineering; micropropagation; tissue culture

古人云:“巧妇难为无米之炊”,再好的中医开出的处方,如果没有好的药材,也不能医治病人的疾患;再好的制药厂,如果没有优质的原料药材,也不

能生产出安全有效的中成药。“药材好,药才好”已经是中药界广大同仁的共识。随着我国经济的迅猛发展,特别是中医药产业的快速发展,国内对中药资源

收稿日期:2008-01-09

基金项目:国家科技支持计划项目(2006BAI06A16-02)

作者简介:高文远,男,博士,教授,博士生导师,天津大学药物科学与技术学院天然药物学系主任,1994年6月毕业于中国协和医科大学,获博士学位,在韩国忠北大学从事博士后研究工作,并以优秀人才身份受聘于香港生物技术研究有限公司,致力于生物工程技术应用于中药资源保护和可持续利用的研究。 Tel/Fax:(022)87401895 E-mail:pharmagao@tju.edu.cn

的需求在迅速增加;此外,国际上对我国中药资源的需求也在不断增加,日本、韩国等有着中医药历史渊源的国家每年从我国进口大量的中药材,我国每年也有大量来源于药用植物的提取物出口到全世界。这些都加速着我国中药资源的消耗,给濒危的药用植物资源带来毁灭性的危害^[1]。为了应对目前严峻的资源压力,我国采取了中药材栽培和野生抚育等多种手段,但这些不能完全解决中药资源紧缺问题。中药生物工程技术具有许多的优点,可以协助中药栽培和野生抚育,在解决中药资源问题上发挥重要的作用。

1 中药材的栽培

我国有着悠久的中药栽培历史,最早主要是对名贵中药材的栽培,如人参的栽培,后来开始对大宗中药材进行栽培,如贝母、黄芪、甘草等。进入20世纪80年代,随着中药现代化的不断发展和对药材需求量的不断增加,栽培的药材越来越多。2000年左右,我国逐步实施了中药材标准化栽培工作,即GAP工作。目前,我国许多地方都建立了药材种植基地,如山药、地黄、山茱萸、平贝母、泽泻、黄芪、川芎、当归等,部分药材基地已经获得了国家食品药品监督管理局的认证证书。从目前基地的情况来看,下面几种基地值得推广。第1种是大型中药企业建立的基地,如天士力集团建立的丹参中药材基地,这种基地的特点是企业有雄厚的经济实力来进行基地的建设,因此,基地有良好完备的硬件设施;基地生产的优质药材可以在企业自身进行消耗,因此,不存在优质药材不优价的问题;此外,大型中药企业在GMP认证过程中积累了丰富的经验,因此,基地的SOP往往很规范,软件比较完善和全面。第2种是有着悠久药材栽培历史的基地,如宛西制药集团建立的山药、牛膝和山茱萸基地。这几种中药材在河南为道地药材,在当地有着上千年的栽培历史,当地的药农有着丰富的栽培经验,品种比较成熟,把这些经验用现代的科学技术加以整理,很容易达到规范化的栽培目的。第3种基地是农场化种植的栽培基地,比较典型的是东北黑龙江伊春红星林业局建立的平贝母栽培基地。这种基地往往面积很大,农场工人可以统一管理,有利于SOP的标准化实施,基地生产出的药材很容易做到整齐一致。从以上药材栽培基地的情况分析,中药材基地最好由有经济实力的大型中药企业在药材的道地产区来建设,管理采用农场化管理。此外,还有更为重要的一条是必须有科研单位的协助。药材的种植离不开科学技术,无论是品种

的选育、种质资源的评价,还是药材的栽培以及产地的初加工,都离不开专家教授的智慧,这些已经被现有的基地建设所证实^[2,3]。

纵观我国中药材种植基地建设,存在最主要的问题是优良品种的选育和培育工作,值得下大力气去做好。由于所使用的中药材多是多年生的药材,常规的育种手段往往很慢,生物技术的介入可以对此有所帮助,收到事半功倍的效果。

药用植物的栽培除用于直接生产中药材外,还有助于中药材的野生抚育工作。野生抚育即是在药材植物的原产地在不破坏其他植被等生态环境的情况下,有目的地增加所需要的药用植物物种的数量,从而增加该野生药材的产量。野生抚育的目的有两种,一是针对目前栽培技术还不成熟的品种,如冬虫夏草、川贝母等,采用原产地抚育的办法是相对比较有效、合理的办法;二是目前栽培生产的药材综合性状不及野生的药材,如石柱山参、多伦赤药、甘草等,采用原产地抚育的方法往往会获得更大的经济效益。此外,野生抚育中药材,还可以不破坏整体的生态环境,有利于大资源的保护和可持续利用。

在搞好中药材的标准化栽培和原产地野生抚育的同时,还应当注重先进科学技术的应用,生物工程技术在中药材的栽培、野生抚育和直接生产中药材活性成分等方面都有其重要的应用价值。

2 生物工程技术生产药用植物的优质种苗

无论是中药材的栽培还是中药材的野生抚育,都需要优质的药用植物种苗,采用常规的栽培技术有时很难达到大量快速培育优质种苗的目的。药用植物的栽培与农作物的栽培相比,其品种的性状往往不稳定,容易造成所生产药材品种的不均一性。如目前甘草的栽培,种子种苗的性状很不一致,造成了栽培甘草的质量不稳定。栽培的甘草质量不及野生的甘草,导致了野生甘草药材的不断被采挖和环境的破坏。在快速生产优质药用植物种苗方面,生物工程技术可以发挥其重要的作用。

采用生物技术中的快速繁殖技术,可以达到快速生产优质种苗的目的^[4~7]。一种方法是利用药用植物的外植体诱导出愈伤组织,通过愈伤组织进一步诱导出种苗的地上部分和根,形成许多小的植株;另一种方法是利用体细胞胚的途径,即首先诱导出愈伤组织,然后诱导出大量的体细胞胚,由体细胞胚再形成大量的小植株。在这些培养过程中,要注意几个关键的技术环节:一是外植体的选择,要选择生长旺盛、有效成分量高的外植体进行愈伤组织的诱导;

二是选择适宜的培育条件进行种苗地上部分和根的诱导,或者进行体细胞胚的诱导,这些条件包括培养基、碳源、氮源、植物生长调节剂以及培养的温度和光照等,摸索这些培养条件往往需要很长的时间;三是培育出的种苗向田间的过渡转移问题,也是整个生物工程技术生产种苗的最关键环节。这个过程也可以称为炼苗,炼苗常在温室内进行,选择适宜的培育基质和炼苗时间很重要,还有就是适当的浇水和施肥。

目前这项技术已经在一些药用植物上得到了很好的应用。降香是一种重要的南方中药材,由于过渡采伐和其他因素,我国的降香资源已经十分紧缺,已经不能满足市场的需要,目前我国的降香原料主要靠进口。海南洋浦生物工程公司利用生物技术在降香种苗的快速繁殖方面取得了可喜的成绩。首先通过组织培养的方法,大量地繁殖出整齐一致的降香小苗,然后在温室中成功地对其进行炼苗并使其生长到一定的高度,然后移栽到森林中进行野生抚育,该项技术已经成功。在目前红豆杉资源很紧缺的情况下,降香的成功经验值得借鉴。该公司还成功地开展了石斛的生物工程繁殖工作,首先研制出石斛生长所需要的密环菌并对其进行繁殖,然后在培育瓶中大量繁殖出优质的石斛种苗,将种苗和密环菌在温室中进行炼苗培养,等石斛生长到一定高度时转移到林下进行栽培。利用海南岛特有的热带自然环境,有些石斛被绑到乔木上进行栽培,取得了很好的效果。此外,该公司还成功地利用生物工程技术进行了金线莲的繁殖。

生物工程技术快速繁殖药用植物的优良种苗,对于处于濒危状态的药用植物很重要,对于虽然不是濒危状态但已经大田栽培的药用植物也同样重要。因为利用生物工程技术可以快速繁殖出整齐一致的大量优质种苗,这已经在农业生产上的甘蔗、香蕉以及花卉的生产上大量应用,在药用植物大田栽培上也有很大的应用潜力。目前,某些药用植物的栽培已经开始尝试此项技术,如丹参、地黄等优质种苗的培育。这方面的工作,可以大量借鉴马铃薯脱毒的生物技术。在我国目前的情况下,通过生物工程技术结合无土培养技术快速繁殖优良的种苗用于大宗中药材的栽培,是当前应抓紧完成的工作。

3 生物工程技术生产中药的活性成分

野生或者栽培的中药材,一部分以整体入药的形式制成中药饮片,被中医大夫用来开方抓药。但大部分的中药材是进入了药厂进行提取分离制成中成

药。这些年来,我国出口了大量的中药提取物,消耗了大量的中药材资源。利用生物工程的技术,在反应器中培养药用植物的细胞、组织或者器官,可以直接快速地获得药用植物的活性成分,节约对原料药材的使用,同时在大规模培养条件下,生产成本可以大大降低。

采用生物工程技术生产药用植物的活性成分,要注意以下几个关键的技术环节^[7]。第1是外植体的选择,除了选择有效成分高、生长旺盛的外植体,还要注意外植体的生长时间和部位。一般说来,使用有效成分高的药用植物种子,先诱导无菌苗,利用无菌苗诱导愈伤组织,然后再进行下一步的工作,往往成功率比较高。第2个关键的环节是在愈伤组织诱导成功后,决定是进行细胞的悬浮培养还是进行不定根或者其他器官的培养。有的植物适宜于细胞培养,如紫草细胞培养生产紫草素;有的植物适宜于器官的培养,如人参不定根的培养。所以,要根据具体培养的药用植物决定最终要大规模培养的是细胞或者器官。第3个关键环节是在摇瓶培养阶段,系统地优化培养条件。与药用植物的快速繁殖相似,这些条件包括培养基、碳源、氮源、植物生长调节剂以及培养的温度和光照等,决定着放大培养的成败。除了上述条件外,还要注意有效成分诱导子的应用,诱导子可以是有机成分,也可以是无机成分。如在人参的不定根培养过程中,采用了茉莉花酸甲酯作为诱导子,使人参皂苷Rb₁的量大大提高。值得注意的是,往往有利于培养材料生物量积累的因素,不利于有效成分的量提高。针对这种情况,就要采用两步培养的技术,首先采用一种条件,命名培养材料的生物量达到快速地积累,然后采用另一种条件使其有效成分的量提高。第4个关键的环节是培养物的放大培养,从摇瓶转到反应器中进行培养,从小的反应器到比较大的反应器。目前使用的反应器,基本都是用来培养微生物的发酵罐,这种发酵罐用来培养药用真菌类比较适宜,如灵芝菌或者虫草菌的培养,但用来培养植物的细胞和器官有很多地方需要加以修改。主要是用来搅拌的桨和供气问题,植物细胞的细胞壁容易结团,也是要注意的问题。此外,有的药用植物培养材料需要光照培养,这与活性成分的合成有关,这样在反应器中就要有光头系统。第5个关键环节是反应器培养物不同批次产物的质量稳定问题,也就是所含有效成分的量是否稳定问题。目的产物往往是次生代谢产物,现在对许多活性成分的次生代谢途径和基因表达还不清楚,这给确定培养条

件带来一定的困难。如在人参的细胞培养过程中,其皂苷的量在不同批次之间往往有差异,有时高有时低,这个环节也是工业化培养能否成功的关键所在。

采用生物工程技术生产药用植物的活性成分,最成功的例子是紫草细胞培养生产紫草素,节约了大量的土地和资源。日本和香港在高丽参的细胞培养方面也已经成功地实现了工业化,特别是日本反应器的规模比较大。韩国在高丽参的不定根培养方面探索出了一条很好的工业化道路,而且用培养出的高丽参开发出了一系列的产品。韩国在高丽参不定根方面的成功有两个因素:一是培养不定根,二是研制了适宜于不定根培养的反应器。我国天津等地在虫草菌大规模培养方面也开展得很成功,发酵罐的规模已经达到了30 t,此外,在黄芪、三七、红豆杉、雪莲、丹参和甘草等细胞的培养方面也不断地向工业化迈进^[8~12]。

采用组织培养方法生产的愈伤组织或者细胞,其小分子有效成分的量往往不如大田生产的原料药材,但从产品研究的角度来看,比较适宜于化妆品的开发,可能是其木质部成分的量比较少的缘故。因此,建议通过安全性评价的方法来规定这些培养物的应用范围,比如在保健品和化妆品中的应用等。

4 结语

生物工程技术在药用植物资源上的应用,特别是对濒危药用植物资源保护方面的应用,对中国有着特殊的意义,一方面是中药资源是整个中医药的基础,另一方面是中国是世界上使用和出口药用植物原料最多的国家。

生物工程技术在药用植物资源上的应用,可以从两个方面进行,一方面通过生物工程方法快速培育优质的种苗,与野生抚育和大田栽培相结合,达到增加种群数量的目的;另一方面通过工业化组织和

器官培养的方法,直接生产药用植物的活性成分,以解决工业药用植物的原料问题,达到节约资源的目的。在当前情况下,这两方面的工作是药用植物生物技术最需要开展的工作。随着工作的不断深入,应当进一步在基因工程育种、与活性成分相关的功能基因、活性成分的次生代谢途径等方面开展研究。

参考文献:

- [1] 陈士林,肖培根. 中药资源可持续利用导论 [M]. 北京: 中国医药科学出版社, 2006.
- [2] Gao W Y, Jia W, Gao X F, et al. In Vitro culture and cultivation of Chinese medicinal plants for industrial utilization and genetic resource conservation [J]. *Plant Genetic Resour: Character Utiliz*, 2005, 3(2): 116-126.
- [3] Gao W Y, Jia W, Duan H Q, et al. Good agriculture practice (GAP) and sustainable resource utilization of Chinese materia medica [J]. *J Plant Biotechnol*, 2002, 4(3): 103-107.
- [4] Peter H C, Howard T, Edzard E. Bring medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology [J]. *Trends Biotechnol*, 2005, 23(4): 180-185.
- [5] Guo X H, Cao W Y, Xiao P G. Factors affecting root growth and metabolite production in *Salvia miltiorrhiza* adventitious root cultures [J]. *Minerva Biotechnol*, 2005, 17: 133-139.
- [6] 高文远, 贾伟. 药用植物大规模组织培养 [M]. 北京: 化工出版社, 2005.
- [7] Chaturvedi H C, Jain M, Kidwai N R. Cloning of medicinal plants through tissue culture-a review [J]. *Indian J Exp Biol*, 2007, 45: 937-948.
- [8] 郭肖红, 高文远, 陈海霞, 等. 药用植物培养高产细胞系的选育 [J]. 世界科学技术-中药现代化, 2005, 7(1): 60-66.
- [9] 郭肖红, 高文远, 李克峰. 丹参不定根组织培养的研究(I) 培养基种类、盐强度和有机组分对丹参不定根培养的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 429-432.
- [10] 陈巍, 郭肖红, 高文远, 等. 丹参不定根离体培养的研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(17): 1409-1412.
- [11] 郭肖红, 高文远, 李克峰. 丹参不定根组织培养的研究(II) 碳源、氮源和磷源对丹参不定根培养的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(6): 907-911.
- [12] 何康, 樊正球, 李丽, 等. 南方红豆杉组织培养研究进展 [J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(5): 215-218.

《中草药》杂志2008年增刊征文启事

随着经济和文化全球化趋势的推进,中药走出国门,为世界、为人类服务的呼声越来越高。中药现代化、标准化、国际化势在必行。为了推动中药材种植标准化,中药饮片可控性以及中药化学、中药药理和中药制剂的现代研究,《中草药》杂志编辑部拟于2008年10月编辑出版《中草药》杂志2008年增刊(有正式刊号,与正刊统一编号)。凡未公开发表的研究论文和综述文章均属征集范围。截稿日期为2008年7月底。论文寄至天津市鞍山西道308号《中草药》杂志编辑部,邮编300193,并在信封注明“征文”字样。论文经专家评审录用后,入编《中草药》杂志2008年增刊。