

黄芪属(*Astragalus* Linn)植物生物学特性 及组织培养技术研究进展

樊锐锋, 梁冰, 李海燕, 胡宝忠*

(东北农业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 文章从药用黄芪属植物营养体、生殖等生物学特性及组织培养技术方面, 对近年来的研究进行了综述。

关键词: 黄芪属; 生物学特性; 组织培养

中图分类号: Q949.751.9; Q943.1 **文献标识码:** A

黄芪属(*Astragalus* Linn)系豆科(Leguminosae)蝶形花亚科(Papilionoideae)多年生草本植物。对该属植物药性的记载首见于《神农本草经》名戴椹, 并将其列为上品。《名医别录》中将其称为戴椹。至《本草纲目》始称黄芪(芪又同者)。黄芪属植物是国内市场用量较大且紧缺的珍贵药材, 经济价值较高, 因此近年来对药用黄芪属植物的研究不断深入, 特别在生物学特性及组织培养技术两方面的研究取得很大进展, 现将近年的研究情况综述如下。

1 生物学特性

1.1 药用黄芪属植物种类及分布

黄芪属是豆科植物中的一个属, 约2000多种, 其中黄芪亚属在我国有61种、1个亚种、13个变种。药用黄芪属植物主要集中在黄芪亚属, 常见的药用黄芪除膜荚黄芪(*A. membranaceus* (fisch.) Bunge.)和蒙古黄芪(*A. mongholicus* Bge.)外, 还有多花黄芪(*A. floridus* Benth)、云南黄芪(*A. yunnanensis* Franch)、金翼黄芪(*A. chrysopterus* Bunge.)、茂汶黄芪(*A. maowensis* Hsiao, mss.)、藏黄芪(*A. tibetanus* Bunge ex benth)、弯齿黄芪(*A. camptodotus* Franch)、阿克苏黄芪(*A. aksuensis*

Bunge)、绵毛黄芪(*A. sieversianus* Pall)、华黄芪(*A. chinensis* L.)、紫花斜茎黄芪(*A. adsurgens* Bunge)等。在我国, 药用黄芪属植物普遍生长于东北的东部山区(长白山、小兴安岭、完达山脉和辽宁东部山区)及大兴安岭, 在部分平原地区亦可见到。赵明等^[1-3]对全国黄芪属植物资源调查中表明, 蒙古黄芪主要分布在黑龙江、内蒙古、河北、山西; 膜荚黄芪主要分布在东北、华北及西北; 金翼黄芪产于河北、山西、陕西、甘肃、青海、四川等省; 多花黄芪分布于甘肃南部、四川南部及西藏地区; 茂汶黄芪产于四川茂汶县; 云南黄芪分布于云南、西藏等地; 藏黄芪产于西藏; 弯齿黄芪产于云南; 阿克苏黄芪及绵毛黄芪产于新疆; 华黄芪产于东北三省、内蒙、河北及山西。王宝琴^[4]对黄芪的主产区山西、内蒙、黑龙江、河北、甘肃、四川、西藏、云南等地的药用黄芪资源进行了调查, 见表1。由于黄芪种类及分布的差异, 很多地区多以地方品种作为药用, 即便在同一省份, 药用黄芪的品种也有很大差异。如甘肃省约有20种黄芪属植物, 其中大部分都被当地居民药用^[5]。

1.2 营养体生物学

1.2.1 根系

以根入药的黄芪, 对根系的形态解剖学及其生长相关性因素的研究很重要。刘鸣远等^[6]对蒙古黄芪根的初生和次生内部构造进行观察, 发现蒙古黄芪一年生苗为直根系, 其初生根由胚根发育形成, 表皮细胞—列, 矩形, 排列紧密, 细胞壁薄; 皮层

收稿日期: 2004-11-10

基金项目: 黑龙江省“十五”重大科技攻关项目(CA02B701-06)

作者简介: 樊锐锋(1980-), 男, 黑龙江人, 硕士研究生, 研究方向为植物生殖生物学及植物分子生物学。

* 通讯作者

表1 各省份药用黄芪属植物主要种类

Table 1 The officinal *Astragalus* Linn's plant in some provinces

地区 Area	品种 Breed
山西 Shanxi	蒙古黄芪、膜荚黄芪、多花黄芪、金翼黄芪、华黄芪
内蒙 Neimeng	蒙古黄芪、膜荚黄芪、华黄芪
黑龙江 Heilongjiang	蒙古黄芪、膜荚黄芪、华黄芪
河北 Hebei	蒙古黄芪、膜荚黄芪、金翼黄芪、华黄芪
甘肃 Gansu	多花黄芪、单蕊黄芪、甘肃黄芪、金翼黄芪
四川 Sichuan	多花黄芪、云南黄芪、梭果黄芪、单蕊黄芪、金翼黄芪
西藏 Xizang	多花黄芪、云南黄芪、梭果黄芪、藏黄芪
云南 Yunnan	云南黄芪、梭果黄芪、弯齿黄芪

由6~8层薄壁细胞组成,细胞近圆形,较大,有胞间隙。内皮层细胞多角形,较扁,大小不一,其上可见凯氏点;维管柱由中柱鞘及维管系统组成,中柱鞘细胞为一列,形状同内皮层细胞,但较小;初生木质部三原型,呈辐射状,外始式发育,主要由导管组成,导管排列紧密,单行或2~3列,初生韧皮部三束,与木质部相间排列,主要由筛管和伴胞组成;初生根中心有未分化完全的薄壁细胞。第一枚真叶尚未完全展开时,形成层开始活动进行次生长,形成层初为三角形,后呈环形,向内产生次生木质部,向外产生次生韧皮部,使根加粗。由于根的不断加粗,外部的表皮层遭到破坏,而根中中柱鞘细胞恢复分裂能力,形成木栓形成层,向外分生木栓层,向内分生栓内层,形成周皮代替表皮有保护功能。二年生根继续进行次生长,使根不断增粗。

张杰等^[7-8]对栽培黄芪和野生黄芪根部的形态学特征进行了观察,发现栽培黄芪一年生根呈圆柱形,表面淡黄色,有纵皱纹及横向皮孔,质硬,折断处呈纤维性,粉色,根头部的断面,膜荚黄芪皮部白色,木部黄色,而蒙古黄芪皮部黄白色,木部略呈黄色,界面不明显,根中下部断面,两者皮部均呈白色,木部黄色,菊花心明显。一年

生根分枝较少,蒙古黄芪尤如此,二年生黄芪根头部膨大,表面灰褐色,纵皱纹加深,木质部所占比例加大,质地更加坚硬,根下部分枝逐渐增多,膜荚黄芪分枝更为严重。野生黄芪,根头部异常膨大,布满数年积累的茎部残基,根呈棕褐色,根头下锈斑明显,纵皱纹较宽且深,质地松,富韧性,断面粉性强,皮部裂隙较大,中心有空腔。

除上述对根的形态解剖学研究之外,还有很多对提高栽培黄芪产量和改善栽培其根质量的研究。李昌爱等^[9]研究了黄芪采叶对根质量的影响,运用正交设计,发现采叶强度和采叶时间对黄芪根粗和产量均有显著影响。采叶强度是影响根产量的最重要因素。随着采叶强度加大,采叶时间推迟,根粗和产量都明显下降,不采叶产量最高。采叶强度1/3,采叶时间6月15日左右,对产量影响较小。在此期间可采叶用作加工保健品等。刘娟等^[10]人对黄芪性状特征与物种及土壤条件相关性进行了研究,结果表明,黄芪根系形态与物种、土壤类型有密切关系,从根的解剖学上论证了黄芪根的绵性与韧皮纤维,柴性与木纤维数量有直接关系,为优质黄芪栽培技术提供了理论依据。

1.2.2 地上部分

地上部分营养生长对根中有效物质的积累很重要,近年有研究证明,黄芪的地上部分叶含有许多有效物质。王瑞明等^[11]采用高效液相色谱法对黄芪地上部分的氨基酸进行了分析,发现了18种氨基酸,其中以天门冬氨酸含量最高,其次为脯氨酸、赖氨酸和精氨酸。杜哲等^[12]运用薄层层析法对黄芪地上部分的化学成分进行了分析,发现许多种氨基酸类、皂甙类、黄酮类和糖类物质。目前对黄芪资源的开发已扩展到对地上部分的利用,用黄芪地上部分加工成的保健品,如黄芪茶等,已在市场上试销。

1.3 生殖生物学

黄芪属植物均为腋生总状花序,小花为典型的蝶形花,两侧对称。二体雄蕊,9个联合,1个离生;花药四裂,丁字着生;每个花丝具主脉1条。子房上位,具长柄,被包围在合蕊鞘中,1室;边缘胎座,弯生胚珠。近年来很多学者对蒙古黄芪和膜荚黄芪的生殖生物学进行了研究。

徐昭玺等^[13]对蒙古黄芪的开花习性及其花粉柱头成熟期进行了研究,发现蒙古黄芪的花期,从5

月上旬到6月下旬,持续近2个月。当花冠大于花萼或等于花萼时,花蕾柱头和花粉都已成熟。蒙古黄芪为虫媒的异花授粉植物,不易自交得到纯的品系。王小燕等^[14]对膜荚黄芪胚胎学进行了研究,并进行了花药壁的发育及其花粉母细胞染色体转移的细胞学观察,发现其花粉发育起源于多孢原细胞。按 Davis 的标准,花药壁基本按单子叶型发育;花粉母细胞染色体转移运动普遍存在于减数分裂的各个时期,其随时都可进行这种运动,没有时间性与连续性;花粉第一次有丝分裂形成一个较小的半球形生殖细胞和一个较大的营养细胞;生殖细胞发育过程中存在暂短的细胞壁,生殖细胞壁并未显示出纤维素或胼胝质性质的壁;在电镜下,花粉内外壁明显,表面有三孔沟;雌配子体发育起源于株心组织亚表皮下的孢

原细胞,其中一个孢原直接发育成为蓼型胚囊。田国伟等^[15]对蒙古黄芪的胚胎学进行了研究,发现雄性孢原为花药表皮下单列细胞,小孢子四分体为四面体型,孢质分离为同时型;单子叶型花药壁,分泌型绒毡层,其细胞核始终一个;二细胞型花粉;单室子房,多胚珠,弯生,双珠被,厚珠心,蓼型胚囊;双受精属于有丝分裂前配子融合类型,胚的发育为柳叶菜型,核型胚乳。Buss 等在研究中发现,蒙古黄芪和很多蝶形花亚科植物一样,在绒毡层细胞里含有草酸钙晶体。而晶体在绒毡层细胞中存在的确切位置、晶体形状的多样性以及晶体只存在绒毡层这一短命的结构中,还有待于进一步的研究。史荣刚^[16]也对膜荚黄芪的胚胎学进行研究,并与蒙古黄芪进行了比较,结果见表2。

表2 蒙古黄芪和膜荚黄芪胚胎学特征比较

Table 2 The comparison of embryology between *A. membranaceus* (fisch.) Beg and *A. mongholicus* Bge

项目 Item	蒙古黄芪 <i>A. mongholicus</i> Bge.	膜荚黄芪 <i>A. membranaceus</i> (fisch.) Bunge.
花药壁的发育 The wall of anther's development	单子叶型	单子叶型
绒毡层的发育 The tapetal's development	分泌	腺质
绒毡层细胞核数 The number of tapetal's nucleolus	1个	1个
小孢子发生类型 The microspore's development	同时型	同时型
小孢子四分体排列 The microspore's tetrads	四面体型	四面体型
雌孢原数量 Trigamous archesporial cell's number	2~3个	2~3个
大孢子母细胞 Megasporeocyte	1个	1~2个
大孢子四分体排列 The megaspore's tetrads	直线型	直线型
功能大孢子来源 Functional megaspore	四大孢子	合点端1、2个大孢子
胚囊发育类型 The type of embryo sac	蓼型	蓼型
受精作用 Fertilization	有丝分裂前配子融合	有丝分裂前配子融合
胚乳类型 The type of endosperm	核型	核型
胚乳细胞化时期 The ear of the endosperm's cell	球型胚后期	球型胚早期
胚的发育 The embryo's development	柳叶菜型	柳叶菜型
胚柄 Suspensor	细胞数目多,发达	细胞数目少,相对不发达

表2可见, 两种黄芪在胚胎学特征上很相似, 但也存在一定差异, 蒙古黄芪为分泌绒毡层, 而膜荚黄芪为腺质绒毡层; 蒙古黄芪的功能大孢子来源为4个大孢子, 而膜荚黄芪为合点端1、2个大孢子; 蒙古黄芪的胚乳细胞化时期为球型胚后期, 膜荚黄芪为球型胚早期; 蒙古黄芪的胚柄细胞数目多且发达, 膜荚黄芪的胚柄细胞数目少且相对不发达。

2 组织培养技术

组织培养具有周期短、原料成本低等优点, 很多学者对药用黄芪属植物进行了组织培养, 从中提取有效次生代谢产物。

许桂芳等^[7]在对华黄芪叶片的离体培养过程中, 讨论了不同光质对愈伤组织诱导、增殖及根、芽分化的影响效应。发现黄光、蓝光和红光对愈伤组织的诱导有促进作用, 蓝光明显促进愈伤组织增殖, 而黄光则有抑制作用。黄光、蓝光对根、芽的分化具有较明显促进作用, 而绿光则表现出抑制作用。植物生长调节物质对外植体外部形态的影响也非常重要。周吉源等以华黄芪为材料, MS为基本培养基, 设计不同浓度的NAA、2, 4-D、6-BA、KT等单因子试验和不同比值的细胞分裂素与生长素组合试验, 探讨植物生长调节物质对华黄芪愈伤组织形成及器官发生的效应。结果表明, 在愈伤组织形成过程中, 单因子试验以 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2, 4-D、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT诱导效果较好, 诱导频率可达100%; 组合比单因子试验能更有效地诱导愈伤组织形成; 在器官发生过程中, 单独使用生长素促不定根形成, NAA效果较好, 2, 4-D次之; 单独使用细胞分裂素有不定芽的形成, 6-BA效果较好, KT次之。组合试验中, 细胞分裂素与生长素比值大有利于不定芽的形成, 反之则有利于不定根的形成。

除华黄芪外, 近年来对其他药用黄芪植物组织培养的研究也很多, 如张爱娟等进行了蒙古黄芪组织培养的研究, 并探讨了有机锗对其影响, 从蒙古黄芪茎段、叶片中诱导出愈伤组织, 并测定黄芪皂甙的含量。试验证明, 茎、叶两种材料, 在不同激素组合的MS培养基上, 均能诱导出愈伤组织, 而且诱导频率较高。在茎诱导的愈伤组织中黄芪皂甙含量高于叶诱导的愈伤组织。在培养

基中加入有机锗, 不仅可以提高愈伤组织的诱导频率, 而且黄芪皂甙含量也普遍高。包英华等对蒙古黄芪无菌苗的不同外植体(叶片、子叶、下胚轴)进行组织培养研究。结果表明, 3种外植体分别在 $\text{MS} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 、 $\text{IS} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 、 $\text{MS} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 培养基上的愈伤组织诱导率最高; 在这3种外植体中, 子叶和下胚轴所诱导的愈伤组织在继代培养基上能分化出芽; 试管苗在 $1/2\text{MS} + 5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 培养基上生根效果好。李湘串等以膜荚黄芪结果成熟期幼嫩的叶片、叶柄、未成熟种子及其未成熟子叶为外植体, 在MS基本培养基上加 $\text{BA} 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和不同浓度的NAA, 发现NAA浓度由 $0.1 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 愈伤组织的诱导率均高达100%; 未成熟种子、叶柄的愈伤组织不经转换培养基均可分化出芽, 其中以未成熟种子在 $\text{MS} + \text{BA} 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的愈伤组织分化率最高。李青对紫花斜茎黄芪进行组织培养研究, 筛选外植体、培养基和培养条件, 发现腋芽和茎尖为最佳外植体, 最佳诱导培养基为 $\text{MS} + 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$, 最佳分化培养基为 $\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$, 最佳生根培养基为 $\text{MS} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 。

近年来药用植物毛状根的诱导和培养发展迅速。毛状根是发根农杆菌感染双子叶植物后, 其Ri质粒上的T-DNA片段整合进植物细胞核基因组中诱导产生的一种新的培养系统。自1997年Ackermann首先成功地用发根农杆菌转化高等植物以来, 在甘草、人参、龙胆、红豆杉等中草药植物中取得很大突破。郑志仁等对黄芪毛状根进行大规模诱导和培养, 产量可达 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。黄芪毛状根与干燥根化学成分比较, 粗皂甙和可溶性多糖含量较高, 黄芪甲甙含量相当, 而6种异黄酮、总多糖和酸性多糖含量均较少, 证明两种来源的黄芪根质量相似。从免疫功能低下的小鼠免疫功能恢复的实验结果也证实了这一点。胡之壁等建立了由发根农杆菌感染膜荚黄芪叶片形成的毛状根培养系统, 并研究了外界因子对其生长的影响, 其研究表明MS基本培养基(无激素)适合于黄芪毛状根的生长, 由于 NH_4NO_3 具有抑制作用, 在培养基中不加入; 3%的蔗糖和pH6的培养基适宜毛状根生长, 光抑制毛状根生长。目前许多研究显示,

大规模培养生产的毛状根可能成为黄芪及其他中药药用成分的一种新来源。

3 前景展望

随着野生资源的不断破坏,现在大部分黄芪主要靠栽培种供应,因此在增加对不同地区黄芪栽培方式研究的同时,广泛开展对黄芪及其他中药材生物学特性的研究,为提高和改善其栽培质量和产量提供理论基础。

另外,植物组织和细胞培养手段来生产次生代谢物技术的迅速发展,为野生药用植物资源的开发和利用带来了新途径。然而,目前对于黄芪等药用植物的组织培养研究中,还存在很多问题,例如有些药用植物在大批量或连续培养中,培养周期长,影响次生代谢产物的大量积累,也增加了大规模化生产次生代谢产物的成本,次生代谢产物的产生机理及其影响因素缺乏了解等,都是生产工厂化中遇到的难题。随着现代生物技术手段的不断发展与完善,这些问题必将得到彻底的解决,使药用黄芪属植物次生代谢产物的大规模生产成为现实,为农业和医学的发展做出贡献。

[参 考 文 献]

[1] 赵明, 黄文哲. 中国黄芪属药用植物资源现状及分析 [J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(6): 5-9.
 [2] 赵书原. 内蒙古西部岩黄芪属饲用灌木调查研究 [J]. 中国草原, 1986(2): 22-23.
 [3] 萨仁. 蒙古高原岩黄芪属植物的分类学研究 [J]. 内蒙古大学学报, 1996, 27(5): 675-681.

[4] 王宝琴. 常用中药材品种整理和质量研究(第二册) [M]. 福州: 福建科技出版社, 1997.
 [5] 花立民. 甘肃黄芪属黄芪亚属植物研究 [J]. 草业科学, 1999, 16(5): 15-20.
 [6] 刘鸣远, 王栋, 都小伟. 根类药材植物生物学 [M]. 北京: 中国农业科学出版社, 1995: 171-172.
 [7] 苗国乾. 黄芪及其几种常见伪品的鉴别 [J]. 中医研究, 2002, 15(4): 54-55.
 [8] 张杰. 黄芪与地区用药及伪品的鉴别 [J]. 广东药学, 2002, 12(6): 26-27.
 [9] 李昌爱, 张秀英, 郑仙蓉, 等. 黄芪采叶对根产量的影响 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(11): 653-654.
 [10] 刘娟, 王良信, 王凌诗, 等. 黄芪性状特征与物种及土壤条件相关性研究 [J]. 中国野生植物资源, 1996(4): 1-4.
 [11] 王瑞明, 苏强, 李先荣. 黄芪地上部分(茎叶)氨基酸分析 [J]. 中草药, 1999, 29(2): 38.
 [12] 杜哲, 王素云, 杜广衫, 等. 黄芪地上部分和北芪茶中黄芪化学成分的比较 [J]. 中国林副特产, 1997(2): 23-25.
 [13] 徐昭玺, 王丽华. 黄芪开花习性及其花粉柱头成熟期的研究 [J]. 生物与特产, 1986(5): 25-27.
 [14] 王晓燕, 申家恒. 黄芪花药壁的发育及其花粉母细胞染色体转移的细胞学观察 [J]. 西北植物学报, 1988, 8(4): 207-211.
 [15] 田国伟, 殷华, 王好友, 等. 蒙古黄芪大孢子发生期间细胞壁胼胝体的观察 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1996, 12(2): 77-80.
 [16] 史荣刚. 膜荚黄芪的胚胎学研究 [J]. 淮北煤师院学报, 2003, (1): 27-34.
 [17] 许桂芳, 董诚明, 周吉源, 等. 不同光质对华黄芪愈伤组织诱导、增殖及器官分化的效应 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 1994, 28(4): 533-537.

Research advances on characteristic of biology and tissues culture on the officinal *Astragalus* Linn's plant

FAN Ruifeng, LIANG Bing, LI Haiyan, HU Baozhong

(College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin Heilongjiang 150030, PRC)

Abstract: The article sumd up the research progression of the root and procreation's characteristic of biology and tissues culture on the officinal *Astragalus* Linn's plant.

Key words: *Astragalus* Linn; characteristic of biology; tissues culture