

人参组织培养产生天然药物的研究

I、液体培养及粗皂甙含量 (简报)*

丁家宜 张思汉

用组织培养法生产天然药物,是当今植物药的研究中心之一。这一方法对药效显著、资源稀少、栽培困难、价值贵重的药材——人参等来说,意义尤为突出。我国罗士韦(1964)、朱蔚华等(1978)曾先后进行过人参愈伤组织诱发生和固体培养。在这方面有重要发现的应推日本古谷力(1973)的研究工作。他证实了五年生人参叶柄诱发的愈伤组织含有和干药材人参相同的有效成分皂甙和甙元,固体培养物粗皂甙含量最高达21%。但至今未见关于液体培养及其粗皂甙含量(或合成量)的报道。本试验在进行愈伤组织诱发、固体培养的基础上,初步试验了液体培养并测定它的粗皂甙含量。现简报如下。

材 料 和 方 法

愈伤组织诱发:以我院药用植物园标本区栽培的两年生人参 *Panax ginseng* C.A.Meyer (*P. schin-seng* Nees) 幼苗在生长旺盛的4—5月间取叶柄,经灭菌处理后,切成小块组织,接种在改良的MS培养基上。通过16—18天培养,未污染的组织小块,均可完全愈伤组织化。

固体继代培养:每40天左右移植一次。选其幼嫩而生长旺盛的作为种用。在40天内常增殖7—10倍,每周增殖量达1.5—2.0倍。

液体培养:器皿和培养液容积比为5:1。取固体继代培养4代以后的愈伤组织轻轻压碎,接种在培养液中,或用液体培养材料再转入新的培养液中。在室温22—25℃和黑暗条件下振荡(150转/分)培养。

细胞学观察:培养物经PLCCH溶液处理10分钟后直接镜检。

粗皂甙提取:按古谷力方法,分别抽提培养物和浓缩了的培养液自身的粗皂甙,对空白培养液同样提取。液体培养中粗皂甙含量(或合成量)等于前二者之和减去空白处理的提取物。以此再和固体培养物及人参药材的粗皂甙含量比较。

结 果

试验证明,这样的液体培养有明显的增殖效果。一般在3—4周内增殖4—5倍。如在装有100ml培养液的500ml三角瓶中接1.5g(鲜重)愈伤组织,经三周后增长到8.6克,

* 本文承程瑚瑞、濮祖芹两同志修改,于春海同志(山东中药学校来园进修)参加部分工作。

平均每周净增长2.3克。

液体培养的细胞特性也比较稳定。镜检下的悬浮培养物有4个以上数目不等的细胞组成的细胞团，其外围有分生状态的细胞。细胞的分裂方式相似于体细胞的有丝分裂。通常，绝大多数的细胞的细胞核和染色体正常。

对比人参的优劣，常以它的一类有效成分粗皂甙含量为主要指标。我们也实测了这类成分（见下表）。测得对照药材（生晒参、三等品）含粗皂甙4.2%，新鲜固体培养物（包括愈伤组织和其分化的新根，下同）含量2.2%，约为对照药材的50%左右。如按培养物的干重只有其鲜重的1/10计算，那么试验获得固体培养物的粗皂甙则几乎是人参药材的5倍。这一结果和古谷力1973年获得专利的报道相近。

表 组织培养物及人参药材粗皂甙含量比较

材料类型	原材料重 (克)	甲醇提取 物重(克)	皂 甙 重 (克)	粗皂甙含量 (%)	合成量
人参药材	10.0(干)	2.94	0.42	4.2	42mg/g (干重)
固 培 物	22.4(鲜)	1.37	0.50	2.2	22mgg/g (鲜重)
液 培 物	20.3(鲜)	2.24	0.30	1.5	142mg/g (鲜重)
培 养 液	900ml	22.78	2.69	298mg/100ml	

新鲜的液体培养物粗皂甙含量为1.5%，明显低于固培物中的含量。然而在组织培养后的培养液中却有大量的粗皂甙积累，每100毫升培养液中竟含298mg净粗皂甙。可见，在液体培养的培养物不断向培养液中释放皂甙等次生物质。合计液体培养物和培养液内粗皂甙量，每克鲜重培养物则所含142mg粗皂甙，是固体培养的6.4倍。