

工业大麻组织培养的研究进展

闵 丽, 王明明, 景尚友, 王 磊

黑龙江省农垦科学院经济作物研究所, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年11月13日; 录用日期: 2022年12月12日; 发布日期: 2022年12月22日

摘 要

大麻是一种常见的纤维、油料和粮食作物。随着人们对自然环境的重视, 世界各国对环保和健康问题的关注程度越来越高, 人们逐渐开始对工业大麻进行研究, 由于基因工程的快速发展, 工业大麻的组织培养技术也不断地被广泛开展研究。本文阐述了工业大麻组织培养的研究进展, 以期建立高效的工业大麻再生体系, 为转基因及基因编辑技术进行品种改良奠定科学依据和研究基础。

关键词

工业大麻, 组织培养, 再生体系

Research Advance of the Tissue Culture of *Cannabis sativa* L.

Li Min, Mingming Wang, Shangyou Jing, Lei Wang

Institute of Economic Crops, Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Harbin Heilongjiang

Received: Nov. 13th, 2022; accepted: Dec. 12th, 2022; published: Dec. 22nd, 2022

Abstract

Cannabis sativa L. is an important crop of fiber, oil and food in world. In recent years, people pay attention to the environmental protection and healthy concept with they return to the nature, they have an insight into the characteristics and development of hemp. With the rapid development of genetic engineering, tissue culture of hemp has also been widely applied to the breeding of hemp. The research advances of industrial hemp tissue culture technology were reviewed, which will lay a foundation for cultivating new varieties and genetic transformation of hemp.

Keywords

Cannabis sativa L., Tissue Culture, Regeneration System

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

大麻是一种常见的纤维、油料和粮食作物，常见的大麻主要有工业大麻和毒品大麻两种。工业大麻中的四氢大麻酚含量控制在 0.3% 以下，在我国人们习惯将工业大麻称之为汉麻。工业大麻的应用价值较高，常见的应用范围有农业种植、纺织业、造纸业、建材以及保健食品等领域。近些年工业大麻的育种主要是为了提高大麻的产量和品质，但是大麻属于雌雄不同株的异花作物，使得传统的繁殖方法耗时、昂贵且费力。随着各地工业大麻商业种植的合法化，对现代基因改良技术的需求正在稳步增加。现在，转基因和基因编辑技术是改善植物品质，提高植物抗性和产量的重要生物育种方法，并且也已经取得了许多成果。但是，由于大麻毒性成分和含量受到限制，国内对工业大麻开展研究较晚。尽管现在已有研究记录了工业大麻的直接器官再生途径，但目前有关建立统一、高效、可靠的、适用于工业大麻的再生体系的报道还很少。因此，本文搜集整理了近些年国内外相关的文献，从工业大麻组织培养技术的角度展开阐述，为工业大麻遗传转化提供了更多的参考意见。

2. 工业大麻的由来

工业大麻属于桑科的草本植物，一年只能长一季，我国习惯将工业大麻称之为汉麻。大麻本是野生植物，并且属于雌雄异株，是从亚洲中部传来的品种，人类最早开始种植的植物其中就包括大麻，现在我们常见的大麻有野生和人工种植两种。大麻外部的韧皮中含有丰富的纤维，是纺织业上好的原材料，大麻的种子可以用来榨油，如今工业大麻已经成为全球多个国家的经济作物。

大麻的植株中含有一种叫做四氢大麻酚的化学成分，如果人体吸食后会产生幻觉，对人体的精神和身体会造成严重伤害，所以很多人谈及大麻都会心生恐惧。工业大麻虽然也含有四氢大麻酚成分，但是整体含量<0.3%，即便误食也不会产生致幻效果，并且对人体也不会产生毒害作用，所以工业大麻在很多领域得到广泛应用[1]。

近些年，大麻在工业领域的应用率逐渐增加，1988 年联合国制定的《禁止非法犯晕麻醉药品和精神药物公约》中也明确提出，工业大麻中的四氢大麻酚含量低于 0.3%，已经不能从中提取有毒物质，没有任何毒品吸食价值，所以这种大麻种植以后能够应用于工业领域的发展，各个国家也开始提倡规模性的种植，并将其实现工业化利用。联合国的禁毒工业中明确规定工业大麻不具备致幻的作用，也就意味着工业大麻已经进入了全新的发展时期，所以全球多个国家增加了工业大麻的种植量，并且也在不断研究全新的工业大麻品种，并取得了一定的研究成果。

3. 工业大麻组织培养的研究进展

(一) 组织培养技术

植物组织培养是在无菌和人工控制的环境下，利用人工培养基，对植物胚胎、组织、器官等进行精细操作和培养，使其生长再发育成完整的植株。植物组织培养及其发展理论基础是植物细胞全能性和植

物生长调节剂的应用[2]。同时,建立高效稳定的再生体系是很多遗传转化的前提和基础,也是获得转基因植株的关键[3]。

(二) 工业大麻的基因型研究

工业大麻的组织培养是否能够取得阶段性的成功,与基因型的选择有直接关系,不同物种的基因存在较大差异,即便同一个物种的基因型也不见得完全相同,所以物种的基因形态所产生的作用也会各不相同。但是在这里值得强调的一点是,从遗传学的角度进行分析,基因型越相近的物种,对基因形态发生条件的要求相似度越高。国外工业大麻组织培养的研究学者 Feeney 等人以农杆菌作为介导,对工业大麻不同基因型的品种进行组织培养和遗传转化的研究[4]。Slusarkiewicz 等人对 5 个工业大麻品种作为试验的基础材料,对工业大麻进行组织培养,在对工业大麻的分化率进行研究时发现, Fibrimon-24 型号的大麻品种分化率最高为 61.92% [5]。Galán-Ávila 等人对 6 种大麻品种进行再生体系建立的研究中发现,选取下胚轴和子叶节作为外植体诱导均可再生出新芽,分化率为 53% 和 18%,其中 26% 下胚轴再生芽可以诱导生根。不同基因型的再生率也不相同,其中 Fedora17 高达 76%, Finola 仅为 36% [6]。

(三) 工业大麻种子的消毒研究

研究人员在对工业大麻种子进行消毒时,消毒剂的种类和消毒所用的时间与工业大麻的组织培养有直接关系,刘以福等人在研究的过程中利用稀释浓度 0.1% 的升汞对种子进行消毒,消毒时间控制在 30 分钟,然后再将种子放入琼脂培养基上,最终培育出了工业大麻的无菌苗[7]。张利国等人在研究过程中利用稀释浓度 10% 的次氯酸钠对种子进行浸泡消毒,消毒次数一共为三次,每次的消毒时间从 18 分钟到 24 分钟不等,经研究发现,利用稀释浓度 10% 的次氯酸钠进行消毒,消毒时间控制在 18 分钟,工业大麻种植的发芽率最高并且也没有出现任何污染情况[8]。

(四) 工业大麻外植体的选择研究

建立良好的再生体系是工业大麻遗传转化的重要环节,而外植体的选择直接影响到转基因后的细胞能否再生出植株等问题。目前,工业大麻在组织培育中,科研工作者已经可以将植株的子叶[9]、子叶节[10]、下胚轴[8] [11]、茎尖[12]和叶片[13]等作为外植体诱导并再生植株。张利国等人在研究的过程中,将工业大麻的龙大麻 1 号的下胚轴作为外植体进行组织培育[8]。

工业大麻外植体的取材时间也是影响大麻组织培育的重要因素,合理的控制取材时间才能保证工业大麻幼苗的生长能力和再生能力得到保障。刘以福等人在研究过程中,主要是将大麻杂交一代品种的幼苗真叶长出两对左右时,就将中上部的叶茎作为组织培育的外植体[7]。而尹品训等人在研究过程中则是等幼苗长至 10 厘米左右时,将幼苗的茎尖作为外植体[12]。Zhang 等以云麻 7 号进行研究时发现,未成熟种子的胚性下胚轴的再生能力明显高于真叶和子叶等外植体[11]。

(五) 工业大麻的培养基和激素的选择

培养基是工业大麻外植体非常重要的生长环境,能够为外植体提供丰富的营养元素,培养基中所包含的成分不同,或者激素的添加比例不同都会对外植体的生长造成不同程度的影响。另外,培养基中的酸碱值如果发生变化,同样也会影响到外植体的生长。

研究者发现不同的激素组合能诱导工业大麻的不同外植体产生愈伤组织,细胞分裂素和生长素的比例是影响再生的关键。ZT [9]、6-BA、TDZ [14]、IAA, NAA 都能诱导大麻产生愈伤组织。张利国研究发现,在 MS 培养基中添加 ZT 和 IAA 均能诱导大麻下胚轴产生愈伤继而分化出不定芽,且最佳激素组合为 ZT 1.1 mg/L + IAA 1.1 mg/L [8]。

(六) 结语与展望

综上所述,工业大麻的植物细胞具备全能性特征,所以植物体的任何部分都可以成为出苗的基体。但是大量的研究结果显示,植株的再生是受许多因素影响,如外植体的选择、培养基的类型、植物激素

的种类和浓度, 即使在同一个物种内, 每个品种基因型的诱导能力和分化能力也会存在一定的差异[15]。所以, 相关的人员在对工业大麻进行组织培养时, 必须要采用科学的消毒方法和合理控制种子的消毒时间, 这样既能保证种子的除菌效果, 又能减少污染的概率, 从而确保工业大麻种子的健康生长。同时, 科学选择合适的外植体、培养基和激素组和配比进行组织培养, 不断摸索和改良再生植株的驯化移栽方法, 才能建立高效稳定的再生体系, 为工业大麻组织培养和遗传转化的成功奠定基础。

组织培养技术已日趋成熟, 其发挥的作用也越来越大。研究人员通过对大麻组织培养的研究并利用转基因技术来培育作物新品种, 能有效提高作物的产量和品质, 并且能大大缩短传统育种的周期, 加快育种进程, 提高育种改良的效率。

参考文献

- [1] 薛红芬, 刘胜贵, 孔令羽, 蒋永昌. 影响工业大麻产量的主要因素研究进展[J]. 现代农业科技, 2021(24): 34-39.
- [2] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2018.
- [3] Niazian, M. (2019) Application of Genetics and Biotechnology for Improving Medicinal Plants. *Planta*, **249**, 953-973. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03099-1>
- [4] Feeney, M. and Punja, Z.K. (2003) Tissue Culture and Agrobacterium-Mediated Transformation of Hemp (*Cannabis sativa* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology—Plant*, **39**, 578-585. <https://doi.org/10.1079/IVP2003454>
- [5] Slusarkiewicz-Jarzina, A., Ponitka, A. and Kaczmarek, Z. (2005) Influence of Cultivar, Explant Source and Plant Growth Regulator on Callus Induction and Plant Regeneration of *Cannabis sativa* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, **47**, 145-151.
- [6] Galán-Ávila, A., Gramazio, P., Ron, M., et al. (2021) A Novel and Rapid Method for Agrobacterium-Mediated Production of Stably Transformed *Cannabis sativa* L. Plants. *Industrial Crops and Products*, **170**, Article ID: 113691. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113691>
- [7] 刘以福. 大麻组织培养首次获得绿苗[J]. 中国麻作, 1984(2): 29.
- [8] 张利国, 宋宪友, 房郁妍, 等. 大麻新品种龙大麻一号再生体系初探[J]. 中国麻业科学, 2012, 34(3): 112-114.
- [9] Cheng, C.H., et al. (2016) A Rapid Shoot Regeneration Protocol from the Cotyledons of Hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, **83**, 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.035>
- [10] Galán-Ávila, A., García-Forte, E., Prohens, J. and Herraiz, F.J. (2020) Development of a Direct *in Vitro* Plant Regeneration Protocol from *Cannabis sativa* L. Seedling Explants: Developmental Morphology of Shoot Regeneration and Ploidy Level of Regenerated Plants. *Frontiers in Plant Science*, **11**, 645. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00645>
- [11] Zhang, X.Y., Xu, G.C., Cheng, C.H., et al. (2021) Establishment of an Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation and CRISPER/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis in Hemp (*Canabis sativa* L.). *Plant Biotechnology Journal*, **19**, 1979-1987. <https://doi.org/10.1111/pbi.13611>
- [12] 尹品训, 杨明, 郭鸿彦, 等. 大麻组织培养中玻璃化苗研究初报[J]. 云南农业科技, 2004(4): 12.
- [13] Lata, H., Chandra, S., Khan, I. and El Sohly, M.A. (2009) Thidiazuron-Induced High-Frequency Direct Shoot Organogenesis of *Cannabis sativa* L. *In Vitro Cellular & Developmental Biology—Plant*, **45**, 12-19. <https://doi.org/10.1007/s11627-008-9167-5>
- [14] Movahedi, M., Ghasemi-Omran, V. and Torabi, S. (2015) The Effect of Different Concentrations of TDZ and BA on *in Vitro* Regeneration of Iranian Cannabis (*Cannabis sativa*) Using Cotyledon and Epicotyl Explants. *Journal of Plant Molecular Breeding*, **3**, 20-27.
- [15] Bidabadi, S.S. and Jain, S.M. (2020) Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of *in Vitro* Plant Regeneration. *Plants*, **9**, Article No. 702. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>