

毛状根发展现状研究

刘莉莉, 李昌禹

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘要:通过农杆菌诱导产生的毛状根,具有生长速度快、遗传稳定、本身处于器官化水平、产物产量高等优点,利用毛状根培养生产植物次级代谢产物具有极大的生产潜力。在不同培养条件及在培养基中加入外源激素、诱导子等,能够通过影响信号传导、环境胁迫等,促进或抑制毛状根的生长,提高或者改变毛状根中各成分的含量和比例,在提高植物中有效成分、发现功能基因及蛋白等方面有重要作用。毛状根还能够用作新型药源、疫苗与蛋白工厂、植物生理学研究材料等。通过液体培养及反应器大批量生产毛状根,具有巨大的发展潜力及广阔的发展前景。

关键词:毛状根;农杆菌;培养条件;扩大培养;发展前景

中图分类号:Q 944.54 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)24-0178-05

毛状根(hairy root),又称发状根、发根,自1907年Smith和Townsend发现发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)能诱导植物形成毛状根,到1982年Chilton报道发根农杆菌侵染植物产生发状根的机理,现已获得了300多种植物的毛状根体系。毛状根具有遗传性能稳定、生长速度快、能够合成该植物特征的次生代谢产物等特点,利用生物反应器进行扩大生产,可以解决药用植物野生资源紧缺、人工栽培年限长、药用成分含量低及生长条件不易受控制等问题,已经逐渐成为代替根入药药材的新型材料。

毛状根的生长及次级代谢产物含量与培养条件条件有关,适当外源激素及诱导子等的加入,对毛状根的生长及次级代谢物的积累有促进作用。毛状根处于器官化的分化状态,是许多与根相关研究的理想试验系统,且可以制作人工种子、生产重组蛋白、进行植株再生、分子育种等^[1-3],具有极其广阔的应用前景。

1 毛状根的诱导

将活化的农杆菌(*Agrobacterium*)菌液涂抹于植物外植体切口处,共培养几天后,切口处产生细小的、有多分枝、丛生枝的根,在细小根处长有更细微的毛状物伸出,故称这种根为毛状根。浸染过程中,Ri质粒的T-DNA会整合到植物基因组中,Ri质粒的T_R-DNA片段将上含有编码生长素合成酶的基因*tms-1*和*tms-2*,能够

为毛状根生长提供所必需的植物激素,所以毛状根能在不含外源激素的培养基上生长。

毛状根的诱导状况与农杆菌菌株种类、菌液浓度、外植体来源及大小、诱导条件等有关^[4](表1)。研究发现采用幼嫩生长旺盛的组织、对外植体进行预培养或采用激活剂来活化农杆菌菌液、在共培养阶段加入适量的外源激素都能提高发根农杆菌对植物的转化率。

农杆菌能够侵染大多数双子叶植物和少数单子叶植物及裸子植物,现已诱导的毛状根多集中在茄科、菊科、十字花科、旋花科、伞形科、五加科、豆科、石竹科和蓼科等,主要是草本植物。

2 影响毛状根生长的因素

研究发现,培养方法、培养条件、接种量、共培养、溶氧系数、前体物质、诱导子等都会对植物毛状根的生长及次级代谢产物的产生起到促进或抑制作用。

2.1 物理因子

2.1.1 温度、pH值及光照 温度对毛状根的生长有很大的影响,过高过低都不适宜毛状根的生长。培养基中pH值是植物生长和养分需求的指标,与发根的生长及次生代谢物的合成、释放有一定关系。常振战等^[25]发现培养决明毛状根时,培养基pH值的高低在一定范围内与游离蒽醌化合物的含量呈正相关关系,说明反应器中液体培养基pH值的变化反映出决明发根的生理状态的变化。有些发根需要光照,在不同光照下成分含量发生变化^[26]。

2.1.2 通风量 通风量与液体培养基中溶氧量有关,对发根培养有一定的影响。低风速时,高密度培养时混合性差,发根需氧量不足;通风量较大,产生涡轮造成一定的剪切力,对发根造成伤害。Osamu等^[27]研究发现,经

第一作者简介:刘莉莉(1990-),女,硕士研究生,研究方向为药用植物资源学。E-mail:liulili0396@126.com.

责任作者:李昌禹(1971-),男,副研究员,现主要从事药用植物资源学等研究工作。E-mail:lcy_lcy2002@163.com.

基金项目:吉林市科技支撑计划资助项目(201222306)。

收稿日期:2014-09-15

表 1 不同农杆菌菌株对不同植物、外植体毛状根诱导

Table 1 The hairy root induce of different plants and explants by different strains of *Agrobacterium*

种 Species	科 Family	菌株 Strain	外植体 Explant	参考文献 Reference
<i>Datura tatula</i> L.	Solanaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4	叶片、茎	[5]
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae	<i>A. tumefaciens</i> C58C1	叶片	[6]
<i>Taraxacum mongolicum</i> Hand.-Mazz.	Compositae	<i>A. rhizogenes</i> 15834	无菌种子苗子叶、茎段、根段	[7]
<i>Saussurea medusa</i> Maxim	Compositae	<i>A. rhizogenes</i> R1601; <i>A. rhizogenes</i> A4	无菌苗叶片和叶柄	[8]
<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey	Araliaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4	根切片、愈伤组织	[9]
<i>Panax japonicus</i> C. A. Meyer	Araliaceae	<i>A. tumefaciens</i> C58C1	幼嫩茎段	[10]
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	Labiatae	<i>A. rhizogenes</i> R1601	叶片、茎段、叶柄	[11]
<i>Apocynum venetum</i> L.	Apocynaceae	<i>A. rhizogenes</i> LBA9402	无菌种子苗的根、茎、叶	[12]
<i>Cajanus cajan</i> (Linn.) Millsp.	Leguminosae	<i>A. rhizogenes</i> R1601; <i>A. rhizogenes</i> R1000		
<i>Coronilla varia</i> L.	Leguminosae	<i>A. rhizogenes</i> LBA9402	叶片	[13]
<i>Psammosilene tunicoides</i> W. C. Wu et C. Y. Wu	Leguminosae	<i>A. rhizogenes</i> 15834	无菌苗子叶和下胚轴切断	[14]
<i>Dendrobium nobile</i> Lindl.	Caryophyllaceae	<i>A. rhizogenes</i> ATCC15834	无菌苗叶片、茎段	[15]
<i>Arnebia euchroma</i> (Royle) Johnston.	Orchidaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4	茎、叶片、叶柄	[16]
<i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaertn.) Libosch. f. <i>hueichingensis</i> Hsiao	Boraginaceae	<i>A. rhizogenes</i> MSU440	无菌苗子叶、真叶	[17]
<i>Aconitum coreanum</i> (Levl.) Rapaic	Scrophulariaceae	wild-type <i>A. rhizogenes</i> 15834	微紫苗叶和茎	[18]
<i>Zea mays</i> L.	Ranunculaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4	叶片	[19]
<i>Taxus chinensis</i> var. <i>Mairei</i>	Gramineae	<i>A. rhizogenes</i> ATCC15834; <i>A. rhizogenes</i> A4	H99 种子苗叶片及胚性愈伤组织	[20]
<i>Gentiana macrophylla</i> Pall.	Taxaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4	无菌苗子叶	[21]
<i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Makino	Gentianaceae	<i>A. rhizogenes</i> A4 GUS; <i>A. rhizogenes</i> R1000	幼叶、成熟叶、茎段	[22]
<i>Morus alba</i> L.	Cucurbitaceae	<i>A. rhizogenes</i> ATCC 15834	幼叶	[23]
	Moraceae	<i>A. tumefaciens</i> C58C1	黄化苗真叶、幼茎	[24]

改造将搅拌桨与胡萝卜毛状根分离的搅拌式反应器氧传质系数较大,培养基中氧含量高,发根生长量及生长速率均比锥形瓶、转鼓式反应器及气升式反应器高。

2.1.3 培养容器及方法 Shin 等^[28]用 5 种 5 L 气升式反应器(圆锥形、球形、泡形、圆柱形和鼓形)培养甜菜毛状根并提取 β 花青苷,发现圆锥形反应器毛状根生长量及花青苷含量最高。Du 等^[29]用 30 L 气升式生物反应器连续培养黄芪毛状根 20 d,得到的毛状根产量为 11.5 g/L DW 及黄芪苷 IV 1.4 mg/g,这与在 250 mL 和 1 L 烧瓶中培养的结果相近,但远高于 10 L 普通生物反应器的产量(9.4 g/L DW,0.9 mg/g),但 4 种情况下黄芪多糖的产率相当。

2.2 化学因子

2.2.1 碳源 碳源浓度大小及其在生长过程中的代谢变化与毛状根的形态生长及次生代谢物的积累密切相关。80 g/L 蔗糖浓度时,小酸浆果毛状根的干重和澳洲茄胺贰均较其它浓度(10~100 g/L 蔗糖)高^[30]。靳浩森^[31]用 5 种碳源(3%)比较,蔗糖最有利于西洋参发状根的生长及总皂苷的积累。

2.2.2 外源激素 毛状根可以在不含外源激素的培养基上生长,但适当浓度外源激素的加入,能够促进毛状根次级代谢产物的积累。比较小酸浆果毛状根在含激素和不含激素的培养基中澳洲茄胺贰的含量,不含激素培养基中的含量(160±14 μg/g DW)远远不及添加激素 NAA 1 mg/L 和 BA 1 mg/L 的培养基中的含量(417±68 μg/g DW),二者相差 2.6 倍多^[30]。

2.2.3 前体物质 前体物质指某一代谢中间体的前一阶段的物质。植物次生代谢产物合成过程中,增加前体物的量可以促进酶与前体物的结合,使反应向产物合成方向流动。赵寿经等^[32]对西洋参发根研究发现,前体的作用效果介于植物生长调节剂与诱导子之间,在低浓度时表现出促进作用。马琳^[33]对人参发根研究发现,前体物质有利于发根的生长,且在适宜浓度时,可促进皂苷的积累。

2.2.4 诱导子 诱导子可诱导植物产生防卫反应且能提高次生代谢产物,常用的有水杨酸、茉莉酸、寡聚糖、稀土元素以及重金属盐类等 100 多种,按其来源,诱导子(elicitor)可分为生物诱导子和非生物诱导子(表 2)。诱导子具有专一性、快速性、浓度效应、时效性^[34]、协同作用^[35],且只有处于特定生长阶段的细胞才能有效地接受诱导子信号,表现较强诱导作用。这与毛状根具有自我

表 2 诱导子的分类

Table 2 The classification of elicitors

生物诱导子 Biotic elicitor	非生物诱导子 Abiotic elicitor
来自生物的、对植物生长具有生物活性的化合物; 真菌类:青霉菌、根霉菌、曲霉菌等,主要是真菌的细胞表面结构或分泌物,其成分如寡聚糖、糖蛋白、β-葡聚糖、几丁质寡糖、蛋白质和多肽等主要是通过植物细胞膜上的受体结合参与植物抗病防御反应的; 细菌类 病毒类:外壳蛋白和复制酶; 酵母提取物、水解酪蛋白; 微生物多糖:葡聚糖、壳聚糖、凝胶多糖等	物理或化学的因素; 金属离子:重金属盐类; 稀土元素; 物理因素:高温、电击、冻融、UV 照射、光照时间等; 化学因素:添加外源激素,营养成分种类、配比改变等; 化学药品:杀菌剂、除草剂

调节以适应外界环境有关。由于一些诱导子对毛状根的生长具有抑制作用, Ballica 提出在指数中后期加入诱导子, 既能保证毛状根的生物量, 又能够促进代谢产物的积累。此外, 诱导子不仅能使次级代谢产物含量增加, 还会使各成分之间比例发生变化, 一些诱导子能够促进代谢物的分泌, 如树胶 (X-5 或 XAD-4) 的加入能够促进丹参发根中丹参酮的分泌到培养基中^[36]。

3 毛状根的扩大培养

1983 年 Ko 等^[37]第一次进行了用反应器培养植物毛状根的研究, 现已实现多种植物毛状根的大规模培养。毛状根扩大培养对反应器结构、培养基和环境条件有不同要求, 高流体流动阻力以及低溶氧传质是发根大规模培养时的难题。液体悬浮培养初始阶段, 发根密度不大, 低速轻微震荡培养基即可保证毛状根对营养元素和氧气的需求; 但发根密度较大时, 震荡速度需加快, 剧烈震荡产生的剪切力会对毛状根生长产生不良的影响。气升式反应器既能保障培养物氧气的供应, 又有效地避免剧烈震荡对培养物的剪切伤害, 并避免搅拌式生物反应器培养时发根与反应器部件绞缠一起的情况发生, 为大规模培养毛状根提供了一条理想的途径。

现已研究出如鼓泡式、气升式、波浪式、旋转鼓式等一系列适合毛状根生长的反应器(图 1)^[38-41]。多种适宜

毛状根生长的反应器的研制, 是植物毛状根培养生产次级代谢物走向工业化和商业化的关键环节。

此外, 由于前体物质、诱导子对毛状根的生长及次级代谢产物也有很大的影响, 目前大规模培养毛状根一般采用两段法, 第一阶段在生长培养基上进行, 尽可能促使毛状根快速增长, 大量积累生物量; 第二阶段是在指数后期加入添加不同品种、浓度的植物激素或前体与诱导子等, 激活特定的防御相关基因表达, 以促进抗逆产物表达。

毛状根生物反应器需要加强技术集成和创新, 培养和选育高效型的优良根系, 开发适合大规模生产的培养基和降低成本, 优化规模化生产的生物反应器的设计和工艺和环境, 提高产物表达水平和稳定性。目前已实现利用生物反应器在多种植物上生产的产品, 一些植物已实现工业化规模的生物反应器生产用, 但目前由于技术、工艺和成本等原因, 仅少数植物产品(人参皂苷、紫草宁、紫红素、紫衫醇等)在一些国家(日本、韩国、德国、美国等)实现了商业化应用。

4 毛状根的应用前景

4.1 新型药源

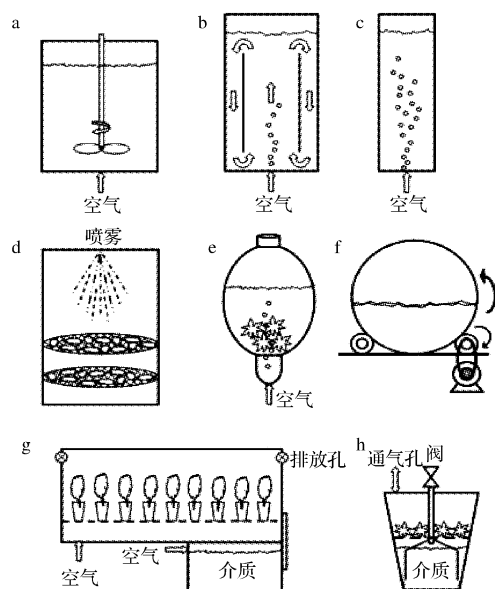
许多药用植物的有效成分在根部积累较多, 毛状根中含有的成分和植物中所含成分相同, 且含量也较高, 是一种能够代替药用植物的新型药源。通过毛状根培养可以生产的次生代谢产物有生物碱类、甙类、黄酮类、醌类、多糖类等。现已有数十种中西药材成分已尝试使用发根来生产, 且紫草、人参、长春花、甜菜、胡萝卜等植物的毛状根已能进行工业化生产。

现在国内的研究还多处于实验室水平, 但国外已有大规模生产技术, 如德国的 ROOTec 公司(<http://www.rootec.com>)利用大规模生产毛状根技术, 用来生产喜树碱和足叶草毒素药用成分; 韩国 CBN Biotech 公司利用不定根和毛状根的工厂化生产, 实现人参根的生物反应器生产工业化, 最大人参皂苷产量可达 239.68 mg/L, 达到年生产 10 t 的规模, 作为化妆品、保健品等的原料, 并已有产品上市^[42]。

4.2 植物生理学研究材料

毛状根能够作为植物根系生理学研究材料, 通过改变培养环境, 研究毛状根中信号传导途径、逆境生理、酶及相应产物含量变化等, 明确植物自我调节信号变化及相应蛋白功能。

诱导子的加入能够帮助定位信号传递过程中的因子并激活次级代谢产物生物合成基因和调控因子, 有利于找到次级代谢产物合成限速因子。通过对不同诱导子条件下培养的发根进行转录组分析, 能够发现不同的表达途径及次级代谢产物调节基因、抗性基因, 并可运



注: a、b、c 分别为机械搅拌式反应器、充气混匀式反应器、气泡混匀式反应器, 主要用于植物细胞的培养; d 为喷雾式反应器, 该反应器用于植物器官的培养, 尤其利于根的生长; e 为球形起泡式反应器; f 为旋转鼓状反应器, 通常用于植物细胞悬浮培养和组织的培养; g 为根部间歇浸没反应器, 促进根部生长, 也可以做练苗培养; h 为间歇浸没式反应器。

图 1 几种常见生物反应器

Fig. 1 Examples of several bioreactors

用基因工程进行分离、开发和利用^[43]。

4.3 植株再生与新品种培育

毛状根可以再生为完整植株,并且该再生植株同样具有遗传稳定性,再生植株不仅生根能力明显提高,还多出现矮化、不定根数目增多、花形和叶形改变、顶端优势减弱等特点^[44-45],在植物品种改良中有很大的应用价值,且能够降低培育新品种周期。徐洪伟^[46]通过玉米毛状根诱导产生的再生植株,根系量高,在中度水分胁迫下各项指标与正常植株相比具有明显差异($P < 0.05$),表现出良好的抗旱品质。药用植物毛状根再生转基因植物中次级代谢产物也多比正常植株高^[47-49],通过 Ri 质粒的 T-DNA 对植株的转化,筛选再生转基因植株,不仅能提高原植物中有效成分的含量,且为引入抗虫、抗病基因等进一步改良植物品质奠定了基础,具有重要的研究意义和商业价值。

4.4 外源蛋白、疫苗表达工厂

Ri 质粒的 T-DNA 区可以插入相当大的 DNA 片段,而且该区含有引导 DNA 转移和整合的序列,及能够被高等植物细胞转录系统识别的功能启动子和转录信号,使插入到 T-DNA 区的外源基因能够随同 T-DNA 一起在植物细胞中表达^[50]。

毛状根作为蛋白、疫苗表达工厂,具有大规模、低成本,具有翻译后修饰可以保证产物的生物学功能、优越的可测量性、蛋白产率高、产品质量高、容易提纯的特点。Gaume 等^[51]将 SEAP 作为模式蛋白通过发根农杆菌介导转化至烟草并诱导出毛状根,SEAP 在烟草毛状根中分泌表达,其分泌量是偶发的转基因根中的 5~7 倍。Häkkinen 等^[52]利用烟草发根生产医药抗体 M12,发现 PVP、NAA 及 KNO_3 的加入能使抗体分泌量增加 30 倍。

5 结论

植物的次级代谢产物是制药、食品以及工业应用的重要植物产物。通过农杆菌侵染植物外植体得到的毛状根体系已成为进行工厂化生产药物、疫苗、蛋白产品及减缓植物资源不足的新型材料。适合发根生长的反应器的研制及诱导子等促进发根生长及次级代谢产物积累因子的研究,为提高药用植物毛状根中次级代谢产物含量提供了方法和技术,对促进中药发展具有极其重要的意义。

植物分子生物学和基因工程技术的应用(代谢工程),将加快毛状根生物反应器的发展,拓展其应用范围(转基因成分的生产),提高产物表达水平。随着技术的进一步完善,植物毛状根生物反应器将在生产天然植物产品和转基因成分(疫苗、酶产品等)中发展应有的作用,具有广阔的发展前景。

参考文献

- [1] Guillon S,Guiller J T,Pati P K,et al. Harnessing the potential of hairy roots;dawn of a new era[J]. Trends in Biotechnology,2006,24(9):403-409.
- [2] Ono N N,Li T. The multiplicity of hairy root cultures;Prolific possibilities[J]. Plant Science,2011,180:439-446.
- [3] Guillon S,Guiller J T,Pati P K,et al. Hairy root research;recent scenario and exciting prospects[J]. Current Opinion in Plant Biology,2006(9):341-346.
- [4] 杨慧洁,杨世海. 发根农杆菌介导的药用植物遗传转化研究[J]. 生物技术通报,2009(1):16-21.
- [5] Peng C X,Gong J S,Zhang X F,et al. Production of gatrodin through biotransformation of p-hydroxybenzyl alcohol using hairy root cultures of *Datura tatula* L. [J]. African Journal of Biotechnology,2008,7(3):211-216.
- [6] Moyano E,Fornalé S,Palazón J,et al. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA on alkaloid production in *Solanaceae* plants[J]. Phytochemistry,1999,52:1287-1292.
- [7] Lee M H,Yoon E S,Jeong J H,et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of *Taraxacum platycarpum* and changes of morphological characters[J]. Plant Cell Rep,2004,22:822-827.
- [8] Zhao D X,Fu C X,Chen Y Q,et al. ransformation of *Saussurea medusa* for hairy roots and jaceosidin production[J]. Plant Cell Reports,2004(23):468-474
- [9] Takafurni Y,Tsutomu F. Saponin production by cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes* [J]. Plant Cell Reports,1987,6(6):449-453.
- [10] 张来,张显强,罗正伟,等. 竹节参毛状根培养体系的建立及人参皂苷 Re 的合成[J]. 中国中药杂志,2010,35(18):2383-2387.
- [11] Wang Q J,Zheng L P,Yuan H Y,et al. Propagation of *Salvia miltiorrhiza* from hairy root explants via somatic embryogenesis and tanshinone content in obtained plants[J]. Industrial Crops and Products,2013,50:648-653.
- [12] Jia H Y,Zhao B,Wang X D,et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and regeneration of the *Apocynum venetum* [J]. Chinese Journal of Biotechnology,2008,24(10):1723-1728.
- [13] 于海娣. 木豆毛状根培养体系的建立及相关生理生化研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2012.
- [14] Han X L,Bu H Y,Hao J G,et al. Hairy root induction and plant regeneration of crownvetch (*Coronilla varia* L.) transformed by *Agrobacterium rhizogenes* [J]. Chinese Journal of Biotechnology,2006,22(1):107-113.
- [15] 高帅. 金铁锁毛状根优良细胞株系的筛选及培养体系的优化[D]. 广州:广州中医药大学,2012.
- [16] 李凤华,汤绍虎,孙敏. 石斛毛状根诱导及培养条件的优化[J]. 中药材,2004,27(10):712-713.
- [17] 陈永芳,芦韦华,王芳,等. 新疆紫草毛状根的诱导及培养[J]. 西北植物学报,2008,28(12):2423-2428.
- [18] Zhou Y Q,Duan H Y,Zhou C E,et al. Hairy root induction and plant regeneration of *Rehmannia glutinosa* Libosch. f. *hueichingensis* Hsiao via *Agrobacterium rhizogenes* -Mediated transformation[J]. Russian Journal of Plant Physiology,2009,56(2):224-231.
- [19] 李昌禹,王英平,杨福合,等. 黄花乌头发根及其获得方法[P]. 中国发明,CN200610089523.3,2006-12-27.
- [20] Xu H W,Zhou X F,Lu J M,et al. Hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* and production of regenerative plants in hairy root cultures in maize[J]. Science in China Series C:Life Sciences,2006,49(4):305-310.
- [21] 王颖芳,韩彬,李种,等. 南方红豆杉毛状根诱导体系的建立及毛状根中紫杉醇的分离纯化研究[J]. 中国生物工程杂志,2012,32(7):49-52.

- [22] Tiwari R K, Trivedi M, Zhang C G, et al. Genetic transformation of *Gentiana macrophylla* with *Agrobacterium rhizogenes*: growth and production of secoiridoid glucoside gentiopicroside in transformed hairy root cultures[J]. Plant Cell Rep, 2007, 26(2): 199-210.
- [23] Chang C K, Chang K S, Lin Y C, et al. Hairy root cultures of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino: a promising approach for the production of gypenosides as an alternative of ginseng saponins[J]. Biotechnology Letters, 2005, 27(16): 1165-1169.
- [24] 李想韵. 发根农杆菌介导桑遗传转化体系的建立及槲皮素在发根中的含量测定[D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [25] 常振战, 果德安, 郑俊华, 等. 用生物反应器培养决明发根合成游离蒽醌化合物[J]. 北京医科大学学报, 2000, 32(2): 142-144.
- [26] 徐明芳. 药用植物发根培养及发根培养器[J]. 中草药, 2000, 31(10): 798.
- [27] Osamu K, Hiroyuki H, Masahito T, et al. Comparison of growth properties of carrot hairy root in various bioreactors[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 1989, 32: 291-294.
- [28] Shin K S, Murthy H N, Ko J Y, et al. Growth and betacyanin production by hairy roots of *Beta vulgaris* in airlift bioreactors [J]. Biotechnology Letters, 2002(24): 2067-2069.
- [29] Du M, Wu X J, Ding J, et al. Astragaloside IV and polysaccharide production by hairy roots of *Astragalus membranaceus* in bioreactors[J]. Biotechnology Letters, 2003(25): 1853-1856.
- [30] Putalun W, Prasarnsiwamai P, Hiroyuki T, et al. Solasodine glycoside production by hairy root cultures of *Physalis minima* Linn. [J]. Biotechnology Letters, 2004(26): 545-548.
- [31] 靳浩森. 诱导子对西洋参发根的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [32] 赵寿经, 侯艳, 贾冬梅, 等. 西洋参发根的诱导及不同外源物质对发根生长和皂苷含量的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2010(22): 98-103.
- [33] 马琳. 前体物质对人参发根次生代谢产物及其他生物活性物质的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [34] Hasanloo T, Eskandari S, Najafi F. Chitosan (middle-viscous) as an effective elicitor for silymarin production in *Silybum marianum* hairy root cultures[J]. Research Journal of Pharmacognosy (RJP), 2014(1): 9-13.
- [35] Zhang C H, Yan Q, Cheuk W K, et al. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag⁺ elicitation and nutrient feeding[J]. Planta Med, 2004, 70(2): 147-151.
- [36] Yan Q, Hu Z D, Tan R X, et al. Efficient production and recovery of diterpenoid tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures with *in situ* adsorption, elicitation and semi-continuous operation[J]. Journal of Biotechnology, 2005(119): 416-424.
- [37] Ko K M, Hwang K H, Ahn J C, et al. Carotenoid production of transformed carrot hairy root and its culture in bioreactor[J]. Korean J Biol, 1993, 35(4): 365-370.
- [38] 梁世中. 生物工程设备[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
- [39] Giri A, Lakshmi Narasu M. Transgenic hairy roots: recent trends and applications[J]. Biotechnology Advances, 2000(18): 1-22.
- [40] Liu C Z. Bioreactor: A power tool for pharmaceutical production from plant hairy root cultures[J]. Journal of Biotechnology, 2008, 136: 496-505.
- [41] Kim Y J, Barbara E, Wyslouzil, et al. Secondary metabolism of hairy root cultures in bioreactors[J]. Society for In Vitro Biology, 2002, 38: 1-10.
- [42] 李铁军, 朴炫春, 廉家盛, 等. 利用生物反应器接触法增殖笃斯越橘丛生苗[J]. 林业科学, 2012, 48(11): 130-133.
- [43] Goel M K, Mehrotra S, Kukreja A K. Elicitor-induced cellular and molecular events are responsible for productivity enhancement in hairy root cultures: an insight study[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2011, 165: 1342-1355.
- [44] 王艳. 发根农杆菌介导八宝景天遗传转化体系的建立[J]. 保定: 河北农业大学, 2009.
- [45] van Altvorst A C, Bino R J, van Dijk A J, et al. Effects of the introduction of *Agrobacterium rhizogenes* rol genes on tomato plant and flower development[J]. Plant Science, 1992, 83: 77-85.
- [46] 徐洪伟. 发根农杆菌诱导玉米毛状根再生植株及抗旱性研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2007.
- [47] 龚一富, 王何瑜, 卢鹏, 等. 长春花毛状根再生植株的获得及抗癌生物碱的产生[J]. 中草药, 2012, 43(4): 788-794.
- [48] 张继栋, 杨雪清, 乔爱民, 等. 木本曼陀罗毛状根植株再生体系的建立[J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16(5): 480-485.
- [49] 汪洪. 发根农杆菌介导的菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 遗传转化及植株再生体系的建立[D]. 重庆: 西南师范大学, 2003.
- [50] Conti M B, Huet Y, Guerinneau F, et al. Method for producing recombinant proteins from plant hairy roots[P]. EP2385130B1, 2011.
- [51] Gaume A, Komarnytsky S, Borisjuk N, et al. Rhizosecretion of recombinant proteins from plant hairy roots[J]. Plant Cell Rep, 2003, 21(12): 1188-1193.
- [52] Häkkinen S T, Raven N, Henquet M, et al. Molecular farming in tobacco hairy roots by triggering the secretion of a pharmaceutical antibody[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2014, 111(2): 336-346.

Development Status of the Hairy Root

LIU Li-li, LI Chang-yu

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

Abstract: The hairy roots induced by *Agrobacterium* having the characters of grow faster, genetic stability, stay in organ stage itself, high production and other advantages. It had a great production potential for plant secondary metabolites production by hairy root culture. Hairy roots being cultured under different conditions and mediums could effect hairy roots growth, improved or changed the contents and ratio of each component, which having great significances to improved active ingredients, find function genes and proteins. Hairy roots also could be used as a new source of medical, factory of vaccine and protein, material of plant physiology research and so on. Hairy roots in mass production cultured by liquid medium and bioreactors had an enormous potential for development and a promising prospect.

Keywords: hairy root; *Agrobacterium*; culture conditions; enlarge cultivation; development prospects