

班加骏,刘 洋,李 程,等. 药食兼用植物白苞蒿茎段的组培快繁途径[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):69-71.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.017

# 药食兼用植物白苞蒿茎段的组培快繁途径

班加骏<sup>1</sup>, 刘 洋<sup>2</sup>, 李 程<sup>1</sup>, 李保国<sup>2</sup>, 齐国辉<sup>2</sup>, 顾玉红<sup>1</sup>, 舒荣志<sup>3</sup>, 顾仁菲<sup>1</sup>

(1. 河北农业大学生命科学学院, 河北保定 071000; 2. 河北农业大学林学院, 河北保定 071000;

3. 河北农业大学现代科技学院, 河北保定 071000)

**摘要:**为缩短白苞蒿的繁殖周期,提高增殖系数,以白苞蒿带芽茎段为外植体,运用组织培养技术,从培养基的配方、生根方法、移栽等环节进行优化,建立周期短、增殖系数高的2条快速繁殖途径:途径一,在MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L+GA 0.5 mg/L上初代培养20 d,在MS+6-BA 1 mg/L上继代培养10 d,在MS+NAA 1 mg/L或MS+6-BA 1 mg/L+NAA 1 mg/L+GA 0.5 mg/L上生根培养7 d,将生根组培苗移栽到湿沙中在培养箱内培养2 d后,移栽到大田荫棚中7 d的成活率为100%;途径二,继代培养后的茎段用诱导生根的试剂处理,扦插到湿沙中,在培养箱内培养10 d,生根率为90%,移栽到大田中,成活率为100%。2条快繁途径的繁殖周期为1.5~2.0个月,茎段增殖系数为6,成活率为100%。

**关键词:**白苞蒿;茎段;组织培养;激素;移栽;快速繁殖

**中图分类号:** S188;Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)03-0069-03

白苞蒿(*Artemisia lactiflora* Wall)别称明日叶、白花苞、四季菜等,系菊科(Compositae)蒿属多年生草本植物<sup>[1]</sup>,主要分布于我国秦岭以南各省区的中、低海拔地区的山坡、路旁、林缘等地<sup>[2]</sup>,收载于《中国药典》2010年版一部附录中,是刘寄奴的基原药材之一<sup>[3]</sup>,以全草入药,具有清热、解毒、止咳、消炎、活血、健胃等功效,可用于慢性肝炎、肝硬化、肾炎等肝、肾

疾病的治疗,也有用于血丝虫病的治疗<sup>[4]</sup>。明日叶中还含有一种挥发油,对喘息型慢性气管炎有治疗效果<sup>[5]</sup>。在当今竞争激烈、生物多样性等环境下植物内生真菌能更好地产生次生代谢物<sup>[6]</sup>。钱一鑫等发现,白苞蒿内生真菌次生提取物对人前列腺癌细胞系(PC-3)、人骨髓白血病细胞系(HL-60)和人乳腺癌细胞系(MCF-7)生长可能具有抑制活性作用<sup>[7]</sup>。在温度适宜,土壤润湿时,明日叶生长迅速、产量高、叶片肥厚嫩绿、质量好,并且明日叶能耐5~7 d的土壤积水<sup>[8]</sup>。植物的无性繁殖方式包括组织培养<sup>[5]</sup>、扦插<sup>[9-12]</sup>、嫁接<sup>[13]</sup>等,能实现植物的快速繁殖,且子代保持母本的优良性状。本研究以白苞蒿带芽茎段为外植体,运用组织培养技术,优化培养基配方和炼苗方法,使茎段不经过愈伤组织而直接增殖,建立利用白苞蒿茎段直接高效快繁的途径,为生产提供技术。

收稿日期:2014-11-23

基金项目:河北省科技计划(编号:14236810D-1)。

作者简介:班加骏(1990—),男,河北邢台人,硕士研究生,主要从事植物发育生物学研究。Tel:(0312)7528244;E-mail:junmal201@sina.com。

通信作者:顾玉红,博士,教授,主要从事植物发育生物学研究。Tel:(0312)7528244;E-mail:gyhshengwu@163.com。

- [2] 吕晋慧,陈 阳,康红梅. 一种有效的菊花总RNA提取方法[J]. 中国农学通报,2011,27(25):113-116.
- [3] 张志想,葛蓓李,潘 嵩,等. 菊花矮化类病毒的分子检测与序列分析[J]. 园艺学报,2011,38(12):2349-2356.
- [4] 黄河,王顺利,曹华雯,等. 甘菊cDNA-AFLP反应体系的优化[J]. 生物技术通报,2009(11):108-113.
- [5] 温立柱. 菊花开花抑制基因CmEMF基因的克隆及其表达分析[D]. 泰安:山东农业大学,2013.
- [6] 李 霞,王 欣,后 猛,等. 紫肉甘薯块根总RNA提取方法的评价[J]. 分子植物育种,2015,13(1):165-170.
- [7] 罗 江,杨丽娟,崔浩然,等. 刺山柑总RNA提取方法的比较研究[J]. 北方园艺,2014(5):91-95.
- [8] 刘 洁,江静怡,徐吉臣. 一种改良的云杉针叶总RNA提取方法[J]. 分子植物育种,2014,12(3):554-561.
- [9] 李红熙,徐美隆,杨 智. 一种适合葡萄多种组织的总RNA提取方法[J]. 中国农学通报,2012,28(7):155-159.
- [10] 王梦娜,武 艳,程国山,等. 茶树叶片总RNA提取方法的比较研究[J]. 植物生理学报,2013,01(1):95-99.

- [11] 崔素萍,康振生,赵 杰,等. 一种快速提取小麦叶片总RNA的方法[J]. 西北植物学报,2006,26(2):314-318.
- [12] 李小婷,戴国礼,李彦龙,等. 沙棘叶片总RNA提取方法的比较研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):33-34,137.
- [13] Fang G, Hammar S, Grumet R. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA [J]. BioTechniques, 1992, 13(1):52-54,56.
- [14] 谭丽丽,燕正民,徐亚英,等. 番茄叶片总RNA提取方法的比较[J]. 东北农业大学学报,2010,41(4):29-32.
- [15] Schneiderbauer A, Sandermann H, Ernst D. Isolation of functional RNA from plant tissues rich in phenolic compounds[J]. Analytical Biochemistry, 1991, 197(1):91-95.
- [16] 曾文丹,罗兴录,袁圣勇,等. 不同方法提取木薯茎总RNA效果的比较研究[J]. 北方园艺,2013(8):103-106.
- [17] 夏海武,吕柳新,陈桂信. 羊蹄甲果荚中总RNA提取的新方法[J]. 分子植物育种,2006,4(1):147-149.
- [18] 王舒黎,吴沙沙,吕英民. 改良Trizol法快速高效提取香石竹总RNA[J]. 分子植物育种,2010,8(5):987-990.

1 材料与方法

1.1 材料

以盆养 的白苞蒿植株为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 外植体的选取与消毒 从长势良好的白苞蒿植株上取长 3 cm 左右的带芽茎段,去掉叶片;将茎段用洗衣粉漂洗 3 min,流水冲洗 10 min,然后在超净工作台上用 70% 乙醇浸泡 10 s,再用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌 10 min,最后用无菌水冲洗 5~8 次,用无菌滤纸吸干材料上的水分。

1.2.2 白苞蒿带芽茎段的初代培养基的筛选 将茎段接种于 MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L 的培养基上,添加不同浓度的 6-苄基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、赤霉素(GA)(表 1),培养基 pH 值 5.8~6.0,培养温度(25±2)℃,光强 2 000~3 000 lx,光照时间 14 h/d,接种后 20 d 统计染菌茎段数、活茎段数、生根茎段数、繁殖芽数、繁殖茎段数,计算染菌率(染菌率=染菌茎段数/接种茎段数×100%)、成活率(成活率=活茎段数/接种茎段数×100%)、茎段增殖系数(茎段增殖系数=繁殖茎段数/接种茎段数)、芽增殖系数(芽增殖系数=繁殖芽数/接种芽数)、生根率(生根率=生根茎段数/接种茎段数×100%),照相,最后筛选出适宜的初代培养基。

表 1 白苞蒿茎段初代培养基的激素组合

培养基编号	6-BA 含量 (mg/L)	NAA 含量 (mg/L)	GA 含量 (mg/L)
1	2.0	—	—
2	2.0	0.5	—
3	2.0	0.5	0.5

1.2.3 白苞蒿组培茎段的继代培养 将初代培养后 20 d 的白苞蒿茎段接种到 4 号培养基(MS+6-BA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L)上,pH 值 5.8~6.0,培养温度(25±2)℃,光强 2 000~3 000 lx,光照时间 14 h/d,培养后 10 d 计算茎段增殖系数、芽增殖系数、生根率并照相。

1.2.4 白苞蒿组培茎段生根培养基的筛选 将未生根的白苞蒿组培茎段接种于 MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L 的培养基上,添加不同浓度的 6-BA、NAA、GA(表 2),以筛选出适宜白苞蒿组培茎段生根的激素组合,培养基 pH 值 5.8~

6.0,培养温度(25±2)℃,光强 2 000~3 000 lx,光照时间 14 h/d,接种后 7 d 计算生根率。

表 2 白苞蒿组培茎段生根培养基的激素组合

培养基编号	NAA 含量 (mg/L)	6-BA 含量 (mg/L)	GA 含量 (mg/L)
5	1.0	—	—
6	0.5	2.0	0.5
7	0.5	1.0	0.5
8	1.0	1.0	0.5

1.2.5 白苞蒿组培苗的移栽

1.2.5.1 已长根的白苞蒿组培苗的移栽 2014 年 5 月 12 日,将根系发达、生长健壮的白苞蒿组培苗从培养瓶中取出,洗净根部培养基,移栽于沙土中,浇足水,在光照培养箱中培养,培养温度(25±2)℃,光照度 8 000~10 000 lx,光照时间 14 h/d,培养 2 d 后移栽到大田荫棚中,株行距 20 cm×20 cm,白天温度 25~30℃,夜间温度 15~18℃,空气相对湿度 70%~90%,适当开棚通风,移栽后 7 d 计算成活率。

1.2.5.2 未长根白苞蒿组培茎段的移栽 2014 年 5 月 14 日将未长根的白苞蒿组培茎段从培养瓶中取出,洗掉培养基,用诱导生根的试剂处理,扦插到沙土中,浇足水,在光照培养箱中培养 7、10 d 后计算生根率。2014 年 5 月 30 日即在光照培养箱中培养后 16 d 移栽到大田荫棚,移栽后 7 d 计算成活率。

2 结果与分析

2.1 不同激素对比对白苞蒿带芽茎段初代培养的影响

由表 3、图 1 可知,3 种培养基中白苞蒿茎段的染菌率均为 0,成活率均为 100%,说明外植体消毒彻底,3 种培养基均适合白苞蒿茎段生长;其中,3 号培养基的茎段、芽增殖系数分别为 2.7、3.2,生根率为 65%,明显高于 1 号和 2 号培养基,可见 3 号培养基更适合进行白苞蒿带芽茎段的初代培养。

表 3 3 种初代培养基上白苞蒿茎段的生长情况

培养基编号	染菌率 (%)	成活率 (%)	茎段增 殖系数	芽增殖 系数	生根率 (%)
1	0	100	2.2	2.3	0
2	0	100	2.2	3.0	17
3	0	100	2.7	3.2	65



图 1 白苞蒿带芽茎段接种后 1 d(A)、20 d(B、C)的初代培养情况

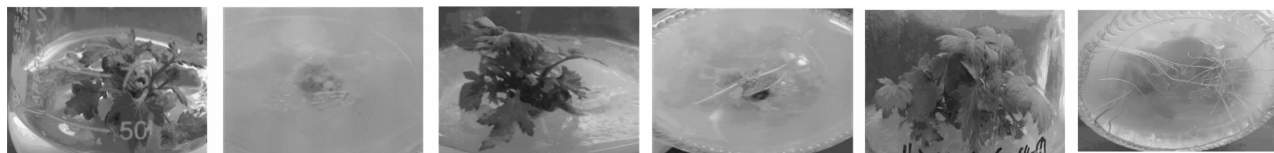
2.2 不同初代培养基来源的白苞蒿茎段继代培养的生长情况

不同初代培养基来源的白苞蒿茎段继代培养的生长情况见表 4、图 2,来自 1 号、2 号、3 号初代培养基的白苞蒿茎段在继代培养基上的茎段增殖系数比初代培养分别高 3.6、3.6、3.3,芽增殖系数分别比初代培养高 4.6、4.1、4.0,生根率分别比初代培养高 0.6%、22%,综合认为,4 号培养基适合进行

表 4 不同初代培养基来源的白苞蒿茎段继代培养的生长情况

茎段来源的 培养基编号	茎段增殖系数	芽增殖系数	生根率 (%)
1	5.8	6.9	0
2	5.8	7.1	23
3	6.0	7.2	87

白苞蒿茎段的继代增殖培养,同时,因为来源于 3 号培养基的



从左向右依次为 1 号、2 号、3 号培养基, 每种培养基 2 张照片  
图2 3 种初代培养基来源的白苞蒿茎段继代培养后 10 d 的生长情况

茎段根系发达、生根率最高, 进一步说明 3 号培养基适合白苞蒿茎段的初代接种。

### 2.3 不同激素配比对白苞蒿组培茎段生根的影响

白苞蒿组培茎段在 5 号至 8 号培养基中培养后 10 d 的生根率依次为 73%、46%、53%、66%, 可见 5 号、8 号生根培养基的生根率高于 6 号、7 号生根培养基, 而 5 号、8 号生根培养基中是 1 mg/L NAA, 6 号、7 号生根培养基中是 0.5 mg/L NAA, 因此, 1 mg/L NAA 比 0.5 mg/L NAA 更适合用于诱导白苞蒿组培茎段生根。

### 2.4 长根的白苞蒿组培苗的炼苗移栽

长根白苞蒿组培苗移栽到湿沙中在培养箱培养 2 d 时的成活率为 100%, 从培养箱移栽到大田荫棚后 7 d 时的成活率为 100%, 生长良好(图 3)。

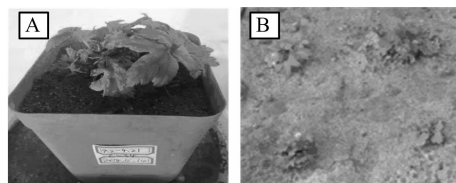


图3 长根的白苞蒿组培苗在培养箱后 2 d(A)、大田荫棚中后 7 d(B)的生长情况

### 2.5 未长根的白苞蒿组培茎段的炼苗移栽

未长根的白苞蒿组培茎段用诱导生根的试剂处理后, 移栽到湿沙中在培养箱内培养后 7 d 的生根率为 50%, 培养后 10 d 的生根率为 90%, 且生根后的白苞蒿生长更好; 将生根的白苞蒿从培养箱中移栽到大田荫棚后 7 d 的成活率为 93% (图 4)。

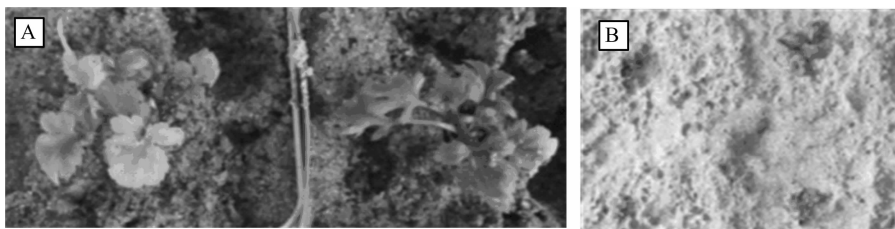


图4 未生根的白苞蒿组培茎段移栽到培养箱(A)、大田荫棚后 7 d(B)的生长情况

## 3 结论与讨论

目前, 关于白苞蒿组织培养方面的报道很少。江洪如等利用白苞蒿外植体在附加有生长素的 MS 培养基中能诱导出愈伤组织, 呈疏松状的愈伤组织对芽的分化有利, 不同浓度和组合的激素对器官分化有一定的影响, 再生植株的移栽成活率达 90% 以上<sup>[5]</sup>。为简化繁殖技术, 本研究以白苞蒿带芽茎段为外植体, 从培养基的配方、生根方法、炼苗移栽等环节进行优化, 在初代培养基中加入 0.5 mg/L 赤霉素, 加速了白苞蒿茎段的伸长生长; 茎段不经过愈伤组织而直接增殖; 建立了将组培茎段不在组培瓶内诱导生根, 而是从培养瓶中取出洗掉培养基, 直接用诱导生根的试剂处理后, 扦插到湿沙中, 在培养箱内培养, 然后移栽到大田荫棚中的生根方法; 茎段不经过愈伤组织而直接增殖; 建立了组培苗洗净根部培养基后移栽到湿沙中利用培养箱炼苗的方法, 解决了在组培瓶中炼苗容易污染的问题; 进而建立了繁殖周期为 1.5~2.0 个月、繁殖系数为 6.0 的高效快速的繁殖途径, 降低了成本。

### 参考文献:

[1] 徐成俊, 孙小芳, 杨峻山, 等. 白花蒿素的结构[J]. 药学报, 1986, 21(10): 772-775.

[2] 丁宝章, 王遂义. 河南植物志: 第 3 册[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1997: 648.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 23.

[4] 肖美添, 骆党委, 咎珂, 等. 白苞蒿的化学成分研究(Ⅲ)[J]. 中国药杂志, 2015, 3(3): 209-212.

[5] 江洪如. 白苞蒿的组织培养[J]. 江西科学, 1989, 4(7): 54-56.

[6] Owen N L, Hundley N. Endophytes the chemical synthesizers inside plants[J]. Sci Progr, 2004, 87(2): 79-99.

[7] 钱一鑫, 康冀川, 雷帮星, 等. 贵州白苞蒿抗肿瘤、抗氧化内生真菌的筛选与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 438-441.

[8] 隋申利. 保健特菜——珍珠菜[J]. 蔬菜, 2009(2): 6.

[9] 赵玉锁. 速生杨扦插育苗技术要点[J]. 科学种养, 2015(2): 25-26.

[10] 陆晓丽. 金叶刺槐嫩枝扦插试验[J]. 林业科技开发, 2015, 29(2): 60-62.

[11] 刘义富. 蓝莓嫩枝扦插技术研究[J]. 民营科技, 2014(11): 203-204.

[12] 林金祥. 大叶桂樱硬枝扦插繁殖试验[J]. 浙江农业科学, 2012(2): 184-185.

[13] 朱高浦, 李芳东, 杜红岩, 等. 植物嫁接技术机理研究进展[J]. 热带作物学报, 2012, 33(5): 962-967.