

青蒿的组织培养及植株再生

王 梦 琼

(首都医科大学中医药学院中药系 北京 100013)

摘要:目的 探讨不同部位青蒿的组织培养与植株再生能力。方法 以植物黄花蒿的花枝、花序及叶片为外植体,以 MS 培养基为基础培养基,附以不同的激素组合,进行中药青蒿的愈伤组织诱导及植株再生。结果 愈伤组织的生成能力为花枝大于花序且二者均大于叶片;植株再生以花枝的培养结果最佳。

关键词:青蒿;组织培养;植株再生

中图分类号:[R282.2]

中国药典记载中药青蒿为菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.),具有清热截疟、驱风止痒的功效,用于伤暑、疟疾、潮热、小儿惊风、热泻、恶疮疥癣等。青蒿素是从中药青蒿中分离出的抗疟有效单体,是与已知抗疟药完全不同的新型化合物,被世界卫生组织称为“世界上唯一有效的疟疾治疗药物”。它不仅是继氯喹、乙氨嘧啶、伯喹和磺胺后最佳的抗疟特效药,并且是所用抗疟药中起效最快、效果最好、毒性最低的药物^[1,3]。目前,药用青蒿素主要来自植物提取物,田间栽培是获得青蒿植物的主要途径。但在天然植物中,青蒿素含量普遍偏低,且不稳定,又因受地理环境、采集时期、采集部位、气温和施肥等因素的影响,品质不易控制。青蒿素的加工和提取,环节较多,费时费力。同时,大量采集自然资源,必然会破坏环境和生态平衡,导致资源枯竭。长期以来,世界各国都在加紧开展青蒿素及其衍生物的开发研究,培育出含量高且稳定的新品种已成为各国科学家面临的研究课题。用组织培养技术获得青蒿素,此种方法有不破坏自然资源、不受自然条件限制的优点,还可能通过各种细胞及基因工程的手段获得高产青蒿素的新品系,具有其他方法无法替代的优越性^[1~3]。

本文采用 MS 与不同激素组合的培养基,探讨青蒿植物体不同部位的愈伤组织诱导及植株再生,寻找提高青蒿繁殖系数及加快生产周期的有效途径,为进一步研究做一些前期基础工作。

1 材料和方法

1.1 材料

露地栽培青蒿的嫩叶、未开放花序及花枝。

1.2 方法

1.2.1 消毒:材料先用 70% 乙醇浸泡 1 min,再用 5% 的次氯酸钠消毒 10 min。

1.2.2 培养基:以 MS 为基础培养基,附以不同比例的激素,见表 1, pH 5.5 ~ 6.0, 115 °C 高温灭菌 20 min。

表 1 MS + 不同激素组合的培养基

愈伤组织诱导 培养基/mL/L	芽分化培养基 /mL/L	根分化培养基 /mL/L
6-BA ₁ + 2.4-D _{0.5}	IAA _{0.1} + 6-BA ₁	IAA _{0.1} + 6-BA ₁ + NNA ₁
6-BA ₁ + Kt _{0.5}	IAA _{0.1} + Kt ₁	IAA _{0.1} + Kt ₁ + NNA ₁

1.2.3 培养:①愈伤组织的诱导:在无菌条件下将已消毒的青蒿花序、花枝及叶片剪碎,分别接种于含有 6-BA₁ + 2.4-D_{0.5} 及 6-BA₁ + Kt_{0.5} 的 MS 培养基上,在 24 ~ 28 °C 条件下避光培养 9 d,诱导愈伤组织。②芽的分化:将所得愈伤组织分别转入含有 IAA_{0.1} + 6-BA₁ 及 IAA_{0.1} + Kt₁ 的芽分化培养基上,每日光照 8 h,分化出芽。③根的分化:将已分化出芽的培养物分别转入含有 IAA_{0.1} + 6-BA₁ + NNA₁ 及 IAA_{0.1} + Kt₁ + NNA₁ 的根分化培养基上,分化出根。

2 结果与分析

实验表明,不同激素组合的 MS 培养基对 3 种外植体愈伤组织的诱导及器官的分化、生长均有不同的影响。

2.1 愈伤组织的诱导

在培养过程中,虽然花枝与花序的愈伤组织诱导率均为 100 %,但通常花枝在培养 7 d 左右即可出现愈伤组织,呈淡绿色,最快的只需 4 ~ 5 d。花序

愈伤组织的出现较花枝稍慢,一般7~8 d可达高峰,呈淡黄绿色,经观察,愈伤组织总是首先出现在总苞处,然后扩展到整个外植体。叶片的愈伤组织生长较慢,在大部分花枝和花序已产生愈伤组织时,只可见叶片有突起,或叶片上有少数斑点状愈伤组织,一般2周后愈伤组织的生长方可达到高峰,呈黄色后转为绿色。由此可见,生成愈伤组织的能力为:花枝大于花序,而花序大于叶片。诱导率见表2。

表2 愈伤组织的诱导率(%)

外植体	6-BA ₁ + 2.4-D _{0.5}	6-BA ₁ + Kt _{0.5}
花枝	100	100
花序	100	100
叶片	79	62

2.2 芽与根的分化

芽与根的分化情况也因培养基组合不同而异。将花枝愈伤组织转入芽诱导培养基培养1周后,多数可分化出芽,分化率可达100%。芽多为单生,根的分化率可达75%~100%。而由花序愈伤组织分化出的芽多为丛生,2周左右可达高峰,分化率基本可达100%。将已分化的单芽的培养物转入根分化培养基,根的分化率最高可达75%。根多纤细,长而疏。叶的愈伤组织产生后经分化培养也能生芽,芽多为单生或丛生;根的生长情况与花序和花枝相似,但总的来说,叶的愈伤组织诱导率及芽和根的分化率均较花枝和花序低。

此外,在实验期间还以培养所得青蒿无菌苗的叶片为材料,与室内盆栽青蒿之嫩叶相对照,在相同条件下做愈伤组织的诱导培养。结果显示:无菌苗叶片长出愈伤组织所需时间比盆栽嫩叶少2倍,且

在相同的培养时间下,无菌苗多可分化出芽,而嫩叶则只在带叶柄的嫩枝上生芽。

总之,从整个植株再生的过程来看,3种外植体均在6-BA₁ + 2.4-D_{0.5}/IAA_{0.1} + Kt₁/IAA_{0.1} + 6-BA₁ + NNA₁培养基组合上有良好的培养结果,其中以花枝的培养结果最好,从接种到形成完整植株培养周期约为3~4周。培养结果见表3。

表3 不同外植体培养结果

外植体	愈伤组织诱导率/% (6-BA ₁ + 2.4-D _{0.5})	芽分化率/% (IAA _{0.1} + Kt ₁)	根分化率/% (IAA _{0.1} + 6-BA ₁ + NNA ₁)
花枝	100	100	100
花序	100	100	75
叶片	79	50	60

3 讨论

研究表明,以青蒿花枝为外植体,以MS + 6-BA₁ + 2.4-D_{0.5}培养基诱导愈伤组织,并以MS + IAA_{0.1} + Kt₁和IAA_{0.1} + 6-BA₁ + NNA₁分别分化出芽及根,可以较低的成本、简便的方法在较短的培养周期内获得青蒿的再生植株。

参 考 文 献

- 1 刘春朝,王玉春,欧阳藩. 青蒿素研究进展. 化学进展, 1999,11(1):41~47
- 2 杨耀文,李保军,张廷襄. 黄花蒿组织培养的初步研究. 云南中医学院学报,2001,24(2):8
- 3 耿 颢,叶和春,李国风. 中药青蒿的生理生化特征及研究进展. 应用与环境生物学报,2002,8(1):90~97

(收稿日期:2003-04-28)

Tissue Cultivation and Plant Regeneration of the TCM Herbal Plant *Artemisia Annua*

Wang Mengqiong (王梦琼)

(Department of Traditional Chinese Pharmacy, College of Traditional Chinese Medicine,
the Capital University of Medical Sciences, Beijing 100013)

ABSTRACT: The flowering branch, anthotaxy and lamina of *Artemisia annua* L. were taken as the explants; and the MS culture medium was chosen as the basic culture medium to be used in different combinations with hormone, in order to investigate the callus induction and the regeneration of the plant of *Artemisia annua* L. The results showed that the sequence of the ability to generate the callus was flowering branch > anthotaxy > lamina, and the best result of plant regeneration was with the cultivation of the flowering branch.

KEY WORDS: *Artemisia Annua*; Tissue Cultivation; Plant Regeneration