

神香草的组织培养及植株再生

王玉国 盖建东 许宝定 姜长阳*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116029

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Hyssopus officinalis* Linn.

WANG Yu-Guo, GAI Jian-Dong, XU Bao-Ding, JIANG Chang-Yang*

College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China

1 植物名称 神香草(*Hyssopus officinalis* Linn.)。

2 材料类别 嫩茎。

3 培养条件 培养基 (1) MS+6-BA 0.2 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.2 +La(NO₃)₃ 1.0; (2) MS+6-BA 0.4+NAA 0.4+La(NO₃)₃ 1.2; (3) MS+6-BA 0.6+NAA 0.6+La(NO₃)₃ 1.4; (4) MS+6-BA 0.8+NAA 0.8+La(NO₃)₃ 1.6; (5) MS+6-BA 0.8+NAA 0.8+La(NO₃)₃ 1.8 (6) MS+6-BA 0.2+IAA 0.2 (7) MS+6-BA 0.4+ IAA 0.4 (8) MS+6-BA 0.6+IAA 0.6 (9) MS+6-BA 0.8+IAA 0.8; (10) MS+6-BA 1+NAA 1; (11) MS+6-BA 1.2+NAA 1.2 (12) MS+6-BA 0.1+IAA 0.6; (13) 1/3MS+IAA 0.5; (14) 1/3MS+IAA 1.2。上述MS培养基中加30 g·L⁻¹蔗糖, 1/3MS培养基中加10 g·L⁻¹蔗糖。所有琼脂固体培养基的胨力强度均为180 g·cm⁻² (姜长阳1992), pH 5.8~6.0。光强为40~60 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为12 h·d⁻¹; 培养温度18~26℃。愈伤组织分化时, 培养光强为60~80 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为10~11 h·d⁻¹, 培养温度为14~27℃。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将长5~7 cm、生长旺盛的神香草嫩茎放入250 mL的磨口广口瓶中, 用自来水振荡洗涤30 min后, 加0.05%的安利洗涤剂振荡洗涤4 min, 再用自来水洗涤5次; 移至超净台上, 用70%的乙醇灭菌10~20 s后, 迅速用无菌水清洗3次, 接着用0.05%的HgCl₂溶液振荡灭菌14 min, 再用无菌水振荡清洗5次, 即获得无菌材料。

4.2 愈伤组织的诱导 用解剖刀将无菌嫩茎切成0.4 cm左右的茎段, 接种到培养基(1)~(5)上, 进行愈伤组织的诱导培养。45 d时, 培养基(1)~(3)上的未形成愈伤组织, (4)、(5)上的开始形成愈伤组

织。90 d时, 培养基(4)、(5)上的嫩茎愈伤组织诱导率分别为78%和86%。观察表明, 在培养基(4)、(5)上诱导的愈伤组织, 初期为淡黄色的块状, 后来逐渐变为绿色的颗粒状; 把这种愈伤组织在培养基(4)、(5)上进行继代培养。连续培养12代, 除了愈伤组织的生长速度提高约1倍外, 其色泽和其他外部性状保持不变。一般认为, 这种愈伤组织为具有分化能力的愈伤组织。

4.3 分化培养 将在培养基(4)、(5)上培养的愈伤组织接种到培养基(6)~(11)上进行分化培养。接种培养前40 d左右, 所有培养基上的愈伤组织都没有发生明显的变化; 随后, 在培养基(6)、(7)上培养的愈伤组织表面颗粒逐渐形成绿色的芽点, 培养到80 d时, 整个愈伤组织的表面都布满了绿色的不定芽; 把这种具有很多不定芽的愈伤组织块, 分成大小为0.2~0.4 cm、具有十几个不定芽的小块, 接种到培养基(12)上, 经过30 d左右的培养, 就会生长为高1~2 cm的丛生不定芽。

4.4 试管苗的生根 将高2 cm以上的不定芽从基部剪下后, 转接至培养基(13)、(14)上进行生根培养。在培养基(14)上, 7 d左右形成可见的根原基, 随后植株缓慢生长; 在培养基(13)上, 9 d形成可见的根原基, 随后根系和全株迅速生长。观察表明, 从根的数量与生长情况看, 培养基(13)好于(14)。培养到30 d时, 培养基(13)上, 生根率为96%, 平均每株试管苗生根6.6条, 根长3 cm左右, 生根试管苗生长较为旺盛。

4.5 试管苗的移栽 将培养生根试管苗的三角瓶打

收稿 2006-07-20 修定 2006-09-11

资助 辽宁师范大学教改项目(20050101123)。

* 通讯作者(E-mail: changyangjiang@126.com, Tel: 0411-84258983)。

开, 在 $80\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光照下炼苗 3 d, 用镊子取出, 在净水中洗去根部培养基后, 分别移栽到装有炉灰渣和河沙 2 种基质的温室内花盆中。在保持温度 $20\sim 29\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $90\%\sim 100\%$ 和没有直射光的条件下, 10 d 左右恢复正常的日光温室条件进行管理, 30 d 时的成活率分别为 87% 和 91%。移栽试管苗的长势与同期播种的实生苗基本一致, 但试管苗长势整齐, 根系相当于实生苗的 2 倍。

5 意义与进展 神香草又称海索草, 属于唇形科海索草属多年生常绿亚灌木。嫩茎叶和花可食, 属于芳香蔬菜, 也可以作为辛辣调料使用, 近年来人们从叶中提取精油, 用于制造香水或药用; 另

外, 由于神香草花色繁多, 容易栽培, 近年来也作为绿化植物栽培。但由于其种子较少等原因, 自然有性繁殖的种苗不能满足生产的需要, 又难以进行人工无性繁殖。而其组织培养及无性系建立的成功, 为神香草的快速繁殖, 满足人们的需要提供了可能。尽管唇形科中有些物种的组织培养已有成功的报道(黄海帆等 2003), 但迄今尚未见神香草组织培养及无性系建立的报道。

参考文献

- 黄海帆, 李萍, 贺爱利(2003). 彩叶草的组织培养. 植物生理学通讯, 39 (4): 339
姜长阳(1992). 培养基琼脂用量的商榷. 植物生理学通讯, 28 (2): 155