

陈春伶,徐美隆,乔改霞,等. 神香草组织培养与快速繁殖技术[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):60-61,65.

神香草组织培养与快速繁殖技术

陈春伶^{1,2,3}, 徐美隆¹, 乔改霞¹, 刘玉娟^{1,2}

(1. 国家经济林木种苗快繁工程技术研究中心,宁夏银川 750004;

2. 种苗生物工程国家重点实验室,宁夏银川 750004;3. 宁夏林业研究所股份有限公司,宁夏银川 750004)

摘要:以神香草幼嫩茎段为外植体,建立神香草的组织培养快速繁殖技术体系,结果表明:最适合神香草腋芽诱导的培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L,最适合分化的培养基为 MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L,最适合生根的培养基为 1/2MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.01 mg/L。

关键词:神香草;组织培养;快速繁殖;腋芽诱导培养基;合成根培养基

中图分类号: Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0060-02

神香草(*Hyssop*)为唇形科多年生半灌木,穗状花序细长,小花密集,唇形花冠呈管状,花紫色,有白色、玫红等品种。由于蜜汁丰富,极易招蜂引蝶,因此可作为园林绿化植物,种植在岩石园、草药园中,也可组合盆观赏。同时,神香草也是难得的蜜源、芳香油、药用植物。神香草具有抗衰老的作用,其所含的挥发油成分可解除支气管痉挛,神香草的叶、花均可入药,具有镇咳祛痰的功效^[1-3]。神香草既有观赏价值,又可作芳香蔬菜或辛香调料,经济价值很高。目前,神香草主要以播种、分株、扦插等方式进行繁殖,繁殖速度慢,繁殖效率低^[4]。笔者开展了神香草的组织培养与快速繁殖技术研究,旨在为加快神香草推广与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

神香草当年生幼嫩茎段,2012 年 6 月采自宁夏回族自治区银川金凤区银川植物园。

1.2 方法

1.2.1 外植体的准备 剪取生长健壮的幼嫩茎段,去掉基部的叶片,先在加有洗衣粉的洗涤液中用软毛刷将茎段轻轻刷洗干净,再用自来水冲洗 1~2 h。在超净工作台上,将茎段剪成长 2~3 cm 的小段,先用 70% 乙醇消毒 10 s,无菌水冲洗后,再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 2~5 min,用无菌水冲洗 5~6 次,用无菌滤纸吸干多余水分,将其接种在腋芽诱导培养基中。

1.2.2 腋芽的诱导 将灭菌后的外植体放到含有 6-BA (0.05、1.0、2.0 mg/L) 与 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L) 两两组合的 MS 培养基中光照培养,光照度为 2 000~2 500 lx,光照时间为 16 h/d,培养温度 23~27 ℃。30 d 后统计腋芽诱导率。

1.2.3 不定芽的诱导 当外植体诱导出的腋芽长到 0.5~

1 cm 时,将其剪下,接种到不定芽诱导培养基中,培养基为含有 6-BA (0.05、0.8、1.0、2.0 mg/L) 与 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L) 两两组合的 MS 培养基,光照培养,光照度为 2 000~2 500 lx,光照时间为 16 h/d,培养温度为 23~27 ℃。30 d 后统计不定芽的诱导系数。

1.2.4 生根诱导 将长至 2.5~3 cm 高的不定芽剪下,接种到含有 IBA (0.02、0.05、0.8 mg/L) 与 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L) 两两组合的 1/2MS 培养基中,前 1 周弱光培养(不放灯下),1 周后光照培养,光照度为 2 000~2 500 lx,光照时间为 16 h/d,培养温度 23~27 ℃。30 d 后统计不定芽的生根率。

1.2.5 生根苗的移栽 试管苗生根培养 17~20 d,当生根苗根长达到 0.5 cm 时可出瓶移栽。先将培养瓶移至温室进行炼苗,自然条件下炼苗 7 d,然后松开瓶盖炼苗 1 d,最后打开瓶盖炼苗 1 d。炼苗期间前期需适当遮光,确保光照强度为自然光的 50%~60%。炼苗完成后取出小苗,洗净根部附着的培养基,将其移栽到消毒过的混合基质中(草炭:蛭石:珍珠岩=1:1:1),温度控制在 20~30 ℃,前 10 d 用小拱棚覆盖,相对湿度控制在 85% 以上,之后逐渐揭开小拱棚,降低湿度,移栽 21 d 后完全揭开小拱棚。移栽 30 d 时统计移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对神香草腋芽诱导的影响

从表 1 可以看出,不同激素组合对神香草的腋芽诱导效果不同,最适合的组合为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L,在这个激素组合下,神香草腋芽平均诱导率达到 90.2%,除去污染率 20%,实际诱导率为 72.1%。

2.2 不同激素处理对神香草不定芽诱导的影响

从表 2 可以看出,6-BA、NAA、IAA 组合对神香草的不定芽分化有很好的促进作用。当培养基中只有 6-BA 与 NAA 组合时,分化系数最多只能达到 3.0 左右;当培养基中添加了 IAA 时,分化系数明显增加;在 6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.05 mg/L+IAA 1.5 mg/L 处理下,神香草不定芽的分化系数最高,达 5.5,且不定芽生长情况很好,没有玻璃化现象出现。当 6-BA 浓度达 1.0 mg/L,不定芽玻璃化现象较为

收稿日期:2013-11-11

基金项目:宁夏回族自治区成果转化项目。

作者简介:陈春伶(1983—),女,湖北恩施人,硕士研究生,助理研究员,从事植物组织培养技术研究,Tel:(0951)5667119;E-mail:chunling8371@163.com。

严重;当 6-BA 浓度达 2.0 mg/L 时,玻璃化现象很严重,直接影响了不定芽分化(图 1)。

表 1 不同激素处理对神香草腋芽诱导的影响

| 6-BA 浓度 (mg/L) | NAA 浓度 (mg/L) | 腋芽诱导率 (%) | 污染率 (%) | 实际诱导率 (%) |
|-------------------|------------------|--------------|------------|--------------|
| 0 | 0 | 12.0 | 20 | 9.6 |
| | 0.01 | 13.5 | 20 | 10.8 |
| | 0.05 | 14.2 | 20 | 11.3 |
| | 0.10 | 11.6 | 20 | 9.2 |
| 0.5 | 0 | 22.3 | 20 | 17.8 |
| | 0.01 | 23.5 | 20 | 18.8 |
| | 0.05 | 26.8 | 20 | 21.4 |
| | 0.10 | 21.7 | 20 | 17.3 |
| 1.0 | 0 | 25.1 | 20 | 20.0 |
| | 0.01 | 87.4 | 20 | 69.9 |
| | 0.05 | 90.2 | 20 | 72.1 |
| | 0.10 | 80.5 | 20 | 64.4 |
| 2.0 | 0 | 14.7 | 20 | 11.7 |
| | 0.01 | 16.5 | 20 | 13.2 |
| | 0.05 | 17.2 | 20 | 13.7 |
| | 0.10 | 11.5 | 20 | 9.2 |

表 2 不同激素处理对神香草不定芽诱导的影响

| 6-BA 浓度 (mg/L) | NAA 浓度 (mg/L) | IAA 浓度 (mg/L) | 分化系数 | 生长情况 |
|-------------------|------------------|------------------|------|---------|
| 0 | 0.05 | 0 | 1.0 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 0.5 | 1.2 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.0 | 1.5 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.5 | 1.6 | 无玻璃化现象 |
| 0.5 | 0.05 | 0 | 2.0 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 0.5 | 2.2 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.0 | 1.8 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.5 | 1.0 | 无玻璃化现象 |
| 0.8 | 0.05 | 0 | 2.5 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 0.5 | 3.5 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.0 | 4.0 | 无玻璃化现象 |
| | 0.05 | 1.5 | 5.5 | 无玻璃化现象 |
| 1.0 | 0.05 | 0 | 3.0 | 玻璃化较为严重 |
| | 0.05 | 0.5 | 3.2 | 玻璃化较为严重 |
| | 0.05 | 1.0 | 2.5 | 玻璃化较为严重 |
| | 0.05 | 1.5 | 2.0 | 玻璃化较为严重 |
| 2.0 | 0.05 | 0 | 0 | 玻璃化很严重 |
| | 0.05 | 0.5 | 0 | 玻璃化很严重 |
| | 0.05 | 1.0 | 0 | 玻璃化很严重 |
| | 0.05 | 1.5 | 0 | 玻璃化很严重 |



图1 神香草组培分化苗

2.3 不同激素处理对神香草生根的影响

从表 3 可以看出,IBA 对神香草生根具有一定的促进效果。当培养基中未添加 IBA 仅添加 NAA 时,神香草没有出现生根现象;当培养基中仅添加 IBA 时,神香草出现生根现象;当 IBA 浓度为 0.2 mg/L 或 0.5 mg/L 时,IBA 与 NAA 组合的生根培养基均能使神香草的生根率达到 50% 以上。神香草在 0.2 mg/L IBA 与 NAA 组合培养基中的生根时间要早于在 0.5 mg/L IBA 与 NAA 组合培养基中的生根时间。0.2 mg/L IBA + 0.01 mg/L NAA 组合下,神香草生根率最高可达 87.8%,且生根较早(图 2)。

表 3 不同激素处理对神香草生根的影响

| IBA (mg/L) | NAA (mg/L) | 开始生根时间 | 生根率 (%) |
|---------------|---------------|--------|------------|
| 0 | 0 | | 0 |
| 0 | 0.01 | | 0 |
| 0 | 0.05 | | 0 |
| 0 | 0.10 | | 0 |
| 0.2 | 0 | 第 20 天 | 11.5 |
| 0.2 | 0.01 | 第 15 天 | 87.8 |
| 0.2 | 0.05 | 第 15 天 | 67.5 |
| 0.2 | 0.10 | 第 15 天 | 58.6 |
| 0.5 | 0 | 第 25 天 | 21.5 |
| 0.5 | 0.01 | 第 20 天 | 85.7 |
| 0.5 | 0.05 | 第 20 天 | 78.6 |
| 0.5 | 0.10 | 第 20 天 | 70.7 |
| 0.8 | 0 | 第 28 天 | 8.2 |
| 0.8 | 0.01 | 第 25 天 | 7.4 |
| 0.8 | 0.05 | 第 25 天 | 6.5 |
| 0.8 | 0.10 | 第 25 天 | 5.3 |



图2 神香草组培生根苗

2.4 试管苗移栽

当试管苗根长均达到 0.5 cm 以上时进行移栽,15 d 开始有新根长出,并开始抽生新芽,30 d 后移栽成活率可达 92.3%。

3 结论与讨论

组织培养过程中,培养基中植物激素的添加对植物组织培养具有关键作用,虽然基本培养基能保证培养物的生存与最低生理活动,但只有配合使用适当的外源激素才能诱导细胞分裂启动、愈伤组织生长以及根芽分化等。常用于组织培

表 5 黑龙江水稻品种品质指标间的相关分析

| 指标 | 相关系数 | | | | | | |
|-------------------|----------|----------|---------|-------|----------|-------|-------|
| | x_1 | x_2 | x_3 | x_4 | x_5 | x_6 | x_7 |
| 糙米率(x_1) | 1.00 | | | | | | |
| 精米率(x_2) | 0.76 ** | 1.00 | | | | | |
| 垩白率(x_3) | -0.61 ** | -0.75 ** | 1.00 | | | | |
| 垩白度(x_4) | -0.58 ** | -0.76 ** | 1.00 ** | 1.00 | | | |
| 糙米蛋白质含量(x_5) | 0.27 | 0.42 | -0.43 | -0.42 | 1.00 | | |
| 糙米直链淀粉含量(x_6) | -0.33 | -0.21 | 0.13 | 0.11 | -0.45 | 1.00 | |
| 食味评分(x_7) | 0.17 | 0.13 | 0.07 | 0.05 | -0.72 ** | 0.12 | 1.00 |

注: *、** 分别表示显著相关、极显著相关。

表 6 韩国水稻品种品质指标间的相关分析

| 指标 | 相关系数 | | | | | | |
|-------|---------|-------|----------|----------|---------|-------|-------|
| | x_1 | x_2 | x_3 | x_4 | x_5 | x_6 | x_7 |
| x_1 | 1.00 | | | | | | |
| x_2 | 0.82 ** | 1.00 | | | | | |
| x_3 | -0.29 | -0.2 | 1.00 | | | | |
| x_4 | -0.28 | -0.18 | 1.00 ** | 1.00 | | | |
| x_5 | -0.06 | -0.34 | 0.4 | 0.37 | 1.00 | | |
| x_6 | 0.23 | 0.12 | -0.90 ** | -0.89 ** | -0.45 | 1.00 | |
| x_7 | 0.01 | 0.21 | 0.04 | 0.05 | -0.51 * | -0.13 | 1.00 |

这一结论也为中国黑龙江杂交稻的优良性状选育提供了材料和依据。

参考文献:

[1] 罗利军,应存山,汤圣祥. 稻种资源学[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2002;1-2,60-74,93-100.

[2] 韩龙植,南钟浩,全东兴,等. 特种稻种质创新与营养特性评价[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(3):207-213.

[3] 胡兴明,钱 前. 现阶段中国水稻种质创新的研究策略和应用思考[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(2):193-196.

[4] 张 旭,陈友订. 水稻光温生态与品种选育利用[M]. 北京:中国农业出版社,2000;315.

[5] 张振海. 宁夏水稻种质资源研究初报[J]. 甘肃农业科技,1999(10):15-16.

[6] 朱德保. 湖南省稻种资源性状分析[J]. 安徽农业科学,2000,28(2):143-144,147.

[7] 佟大香,朱志华. 国外农作物引种与中国种植业[J]. 中国农业

科技导报,2001,3(3):48-52.

[8] 彭灵佳,肖层林. 杂交水稻稻米品质遗传与育种研究进展[J]. 作物研究,2006,20(增刊1):405-408.

[9] 赵国珍,杨世准,苏振喜,等. 云南高原粳稻与韩国粳稻品质特性比较分析[J]. 中国水稻科学,2008,22(3):331-334.

[10] 韩 勇,邵国军,李建国,等. 辽宁省水稻品质现状的初步分析[J]. 沈阳农业大学学报,2004,35(4):313-317.

[11] 朴钟泽,罗志祥,韩龙植,等. 上海和韩国粳稻品种米质特性比较[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2002,20(4):296-301.

[12] Han L Z, Koh H J, Won Y J, et al. Comparison of grain quality characteristics between japonica rice of Korean and Jilin Province of China[J]. Korean Journal of Breed,1999,31(1):48-56.

[13] 胡孔峰,杨泽敏,朱永桂,等. 垩白与稻米品质的相关性研究进展[J]. 湖北农业科学,2003(1):19-22.

[14] 金京德,张三元. 国内外优质稻米品质性状研究进展[J]. 吉林农业科学,2003,28(6):13-15.

(上接第 61 页)

养的植物激素包括生长素类、细胞分裂素类两大类。生长素类的主要作用是重新启动有丝分裂,使已停止分裂的植物细胞恢复分裂能力;细胞分裂素的主要作用是促进细胞的分裂、扩大,诱导芽分化,促进侧芽萌发生长。虽然添加植物激素对植物的组织培养具有关键作用,但是植物激素浓度的把握是难点,通常不同的植物所需的植物激素的种类或浓度不完全相同。本研究表明,最适合神香草腋芽诱导的培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L,最适合分化的培养基为 MS + 6-BA 0.8 mg/L + IAA 1.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L,最适合生根的培养基为 1/2MS + IBA 0.2mg/L + NAA 0.01 mg/L。

参考文献:

[1] 裴惠霞,姚 雷. 神香草及提取物的抗衰老作用[J]. 上海交通大学学报,2005,23(1):1-4.

[2] 刘勇民,沙吾提·伊克木. 维吾尔药志(上)[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1986;423-429.

[3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:维吾尔药分册[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:78.

[4] 樊 璐. 神香草的引种栽培研究[J]. 中国野生植物资源,2005,24(3):61-65.